



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**LA ELECTROPORACIÓN: MÉTODO FISICO PARA PENETRACIÓN
TRANSDÉRMICA DE FÁRMACOS (revisión bibliográfica).**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

PRESENTA

SHEILA GETSEMANI FLORES PEÑA

ASESOR: Dr. JOSE JUAN ESCOBAR CHAVEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
 P R E S E N T E

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis :

La electroporación; Método físico para penetración transdérmica
 de fármacos (revisión bibliográfica)

que presenta la pasante: Sheila Getsemaní Flores Peña
 con número de cuenta: 404010337 para obtener el título de :
 Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 20 de Enero de 2010

PRESIDENTE	MC. Francisco López Mejía	
VOCAL	DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	
PRIMER SUPLENTE	QFB. Elia Granados Enríquez	
SEGUNDO SUPLENTE	QFB. Guadalupe Rebollar Barrera	

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por su fortaleza y guía

A mi familia por existir

A mis padres por su sustento

A mamá por su comprensión y dedicación

A mi asesor por su paciencia y apoyo

A mis amigos por los buenos momentos

LA ELECTROPORACIÓN: MÉTODO FÍSICO PARA PENETRACIÓN TRANSDÉRMICA DE FÁRMACOS (revisión bibliográfica).

ÍNDICE

Indice de figuras	7
Indice de tablas	9
Resumen	10
Introducción	11
Objetivos	13
I. La piel	
1.1 Características y Estructura de la piel	15
1.2 Tipos de piel	29
1.3 Funciones	39
1.4 Actividad enzimática	41
1.5 Propiedades eléctricas de la piel	44
II. Absorción transdérmica de fármacos	
2.1 Bases teóricas	47
2.2 Rutas de acceso transdérmico de fármacos	50
2.3 Factores que limitan la penetración de fármacos	57
2.3.1 Factores dependientes del paciente	58
2.3.2 Factores inherentes a los fármacos	59
2.3.3 Factores dependientes de las formulaciones	65

III. Métodos disponibles para el estudio de penetración transdérmica de fármacos	
3.1 Métodos <i>in Vitro</i>	70
3.2 Métodos <i>in vivo</i>	72
IV. Tecnologías actuales para incrementar el paso de fármacos a través de la piel	
4.1 Mejoramiento de la penetración transdérmica	77
4.2 Características del promotor ideal de penetración	79
4.3 Métodos químicos para mejorar la penetración transdérmica de fármacos	81
4.4 Métodos físicos para mejorar la penetración transdérmica de fármacos	85
4.4.1 Radiofrecuencia	87
4.4.2 Sonoforesis (Ultrasonido)	88
4.4.3 Iontoforesis	89
4.4.4 Microagujas	90
4.4.5 Nanoacarreadores	92
4.4.6 Mesoterapia	95

V. Electroporación	
5.1. Definición	97
5.1.1 Electroporación en ruta transdérmica	97
5.1.2 Mecanismos	98
5.1.3 Ventajas y desventajas	100
5.1.4 Administración de diferentes fármacos a través de la piel mediante electroporación	107
5.1.5 Variables relacionadas con estudios de electroporación	118
5.1.6 Aplicaciones	127
VI. La electroporación en combinación otros mecanismos físicos o químicos de la penetración transdérmica	
6.1 Electroporación y sonoforesis	137
6.2 Electroporación e Iontoforesis	137
6.3 Electroporación y Radiofrecuencia	139
6.4 Electroporación y promotores químicos	141
VII. Comentarios finales	143
VIII. Conclusiones	146
IX. Referencias	147

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Capas de la piel	17
Figura 2. Capas que conforman la epidermis	20
Figura 3. Unión dermoepidérmica	21
Figura 4. Estructura de folículo piloso y glándula sebácea	27
Figura 5. Penetración de rayos UV en la piel	41
Figura 6. Arreglo de platos	46
Figura 7. Rutas de penetración transdérmica de fármacos	53
Figura 8. Curvas típicas en plasma resultantes del empleo de: (A) pastilla convencional, (B) preparado de liberación lenta, (C) sistema de liberación transdermal	58
Figura 9. Esquema de las partes de una celda de difusión	71
Figura 10. Equipo de celdas de difusión Franz	72
Figura 11. Esquema de técnicas de muestreo de piel	74
Figura 12. Extracción de estrato córneo mediante la técnica de tape stripping	75
Figura 13. Equipo de microdialisis	76
Figura 14. Fenómeno de cavitación usando sonoforesis para penetración de fármacos por piel	90
Figura 15. Mecanismo de penetración transdérmica empleando iontoforesis	91
Figura 16. Parche de microagujas	92
Figura 17. Nanomateriales y nanobiomateriales	93
Figura 18. Electroporación	101

Figura 19. Dibujo de los electrodos de contacto	119
Figura 20. Foto de los electrodos de contacto	120
Figura 21. Electrodos de contacto durante experimentos <i>in vivo</i> en ratones y caballos	121
Figura 22. Electrodos cerámicos de platino	123
Figura 23. Tipos de electrodos usados en electrotransferencia <i>in vivo</i>	125
Figura 24. Equipo de Electroporación transdérmica para reducir volumen	131
Figura 25. Equipo de electroporación transdérmica no invasiva (TDES) en combinación con la nanocosmética	131
Figura 26. Mesolux TM PHOTO-ELECTROPORATION SYSTEM	132
Figura 27. Electrodos de aplicación facial, capilar y corporal	133
Figura 28. Componentes de un electroporador	136
Figura 29. Celdas para electroporación	136
Figura. 30. Equipo que incorpora la diatermia y la electroporación en un solo aparato	141

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de los estratos epidérmicos	19
Tabla 2. Comparación de las glándulas sudoríparas ecrinas y apocrinas	28
Tabla 3. Clasificación de los tipos de piel	30
Tabla 4. Características de los distintos tipos de pieles grasas	32
Tabla 5. Características de una piel seca alipídica y piel seca deshidratada	36
Tabla 6. Preparaciones farmacéuticas y cosméticas para aplicación cutánea	68
Tabla 7. Promotores de penetración cutánea	84
Tabla 8. Características de los promotores químicos y físicos de la penetración cutánea de fármacos	95
Tabla 9. Nanosistemas usados en biología y medicina	93
Tabla 10. Efectos de electroporación en la piel	104
Tabla 11. Ventajas y desventajas de la electroporación	106
Tabla 12. Usos de la electroporación para administrar diferentes fármacos a través de la piel	117

RESUMEN

Hace algunas décadas fue demostrado que los campos eléctricos pueden causar cambios estructurales en la membrana celular, que resultan en un aumento de permeabilidad para iones y moléculas grandes. Este proceso fue llamado electroporación ya que se forman poros en la membrana celular durante la presencia del campo eléctrico que incrementa el transporte de iones solubles al agua y moléculas a través de la membrana. Algunas veces es usado el término de electropermeabilización para enfatizar la permeación. Actualmente la electroporación es un método establecido para el transporte de moléculas dentro de las células *in vitro* e *in vivo*.

La piel es una membrana con permeabilidad selectiva a sustancias químicas que pueden ser absorbidas por esta vía hasta alcanzar la circulación sistémica. La absorción transepidérmica es una de sus principales funciones fisiológicas la cual se aprovecha para la administración de fármacos.

Esta vía cutánea provee una alternativa para aquellos fármacos potencialmente tóxicos cuando son administradas por otras vías, para terapias prolongadas y de reemplazo. Los fármacos aplicados sobre la piel, sobre un sitio bien definido, permiten al fármaco difundir desde el estrato córneo hasta la hipodermis e ingresar al torrente sanguíneo produciendo un efecto sistémico.

El transporte de fármacos vía transdérmica ofrece una alternativa a los métodos de transporte de fármacos convencionales como la vía oral o inyectable. Sin embargo el estrato córneo (la capa más superficial de la piel) actúa como una barrera que limita la penetración de sustancias a través de la piel, es responsable por tanto de la baja permeabilidad de la piel. Esta función se convierte en un obstáculo cuando se desea un transporte de fármacos vía transdérmica.

Para vencer esa limitante de la vía transdérmica (baja permeabilidad) se han desarrollado nuevas tecnologías en un intento de incrementar el transporte transdérmico así como facilitar la extracción de moléculas para propósitos de diagnóstico y monitoreo de pacientes; una de estas tecnologías que está siendo estudiada actualmente es la electroporación.

INTRODUCCIÓN

La electroporación es una técnica usada para incrementar el transporte transdérmico de grandes moléculas a través de la piel, mediante la exposición de ésta a una serie de pulsos eléctricos; la aplicación de estos pulsos desestabiliza temporalmente la estructura de la capa externa de la piel, el estrato córneo, mediante la creación de poros microscópicos, por medio de los cuales, agentes que usualmente son incapaces de pasar a través de la piel, serán capaces. (1) En la actualidad esta técnica es empleada en el área cosmética, terapia génica y anticancerígena.

Siendo la piel el órgano más extenso con el que contamos 1.8m^2 (2), se hace necesario utilizarla para aplicar fármacos, sobretodo en pacientes que por problemas de salud están imposibilitados o que por accidentes no cuentan con otras vías de administración (3). La capa en la que normalmente se trabaja es en la epidermis y específicamente en el estrato córneo que varía su espesor dependiendo de la región anatómica (4)

Una de las ventajas que ofrece la administración transdérmica sobre otras vías (por ejemplo la oral), es que permite obtener niveles constantes del fármaco en la sangre, evitando así las reacciones adversas asociadas a las variaciones de las concentraciones sanguíneas (5).

En ciertas ocasiones la terapia transdérmica puede reemplazar a una perfusión continua, evitándose así las incomodidades inherentes a esta vía de administración como son las hospitalizaciones y el dolor en el sitio de aplicación.

La vía transdérmica proporciona un régimen terapéutico simple para los pacientes ya que puede emplearse a intervalos espaciados de dosificación (24 horas o hasta semanas). Además la terapia puede ser suprimida con la simple remoción del vehículo que contiene el fármaco.

Este trabajo de investigación bibliográfica sobre el mecanismo físico de la penetración transdérmica denominado Electroporación, tiene la finalidad de definir, describir los mecanismos, mostrar los usos y aplicaciones que diferentes grupos de investigación han realizado utilizando la electroporación para vía transdérmica, así como mencionar sus ventajas y desventajas y bajo que circunstancias se recomienda utilizarlo, además esta tesis tiene como un segundo propósito el familiarizarnos con técnicas actuales para incrementar el paso de fármacos por vía transdérmica pero sobretodo establecer las posibilidades para investigaciones posteriores o sugerir afirmaciones verificables. Así mismo servir de instrumento de consulta tanto para investigación como para estudiantes interesados en nuevas tecnologías farmacéuticas con aplicación en la liberación de fármacos por vía transdérmica.

La estrategia a seguir para la elaboración de ésta tesis fue la siguiente: se recopiló información relacionada al tema en libros, artículos y páginas electrónicas y se seleccionó y depuró en base al planteamiento de un índice.

En esta tesis, se incluye información que abarca desde las características y funciones de la piel, importancia de la vía transdérmica, así como información pertinente al uso de la electroporación, y su uso combinado con otros promotores físicos y químicos de la penetración transdérmica, aplicaciones clínicas o farmacéuticas, una discusión y finalmente las conclusiones.

OBJETIVO: Describir el mecanismo físico de la penetración transdérmica denominado electroporación mediante una investigación bibliográfica para establecer posibilidades para investigaciones posteriores.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Describir las características de la piel humana, ya que este es el órgano blanco utilizado para transportar fármacos mediante la penetración.
- Explicar cuáles son las rutas de penetración que puede seguir un fármaco al ser administrados por la piel.
- Realizar una descripción detallada del mecanismo físico de electroporación utilizado para facilitar el paso de fármacos y otras sustancias a través de la piel en la que se incluirán el protocolo, ventajas y limitaciones y las aplicaciones de dicho mecanismo enfatizando su aplicación en el área de la administración de fármacos por vía tópica y transdérmica.

I. LA PIEL

I. LA PIEL

1.1 CARACTERÍSTICAS Y ESTRUCTURA DE LA PIEL

La piel surge en los primeros días de la vida del embrión humano, casi al mismo tiempo que el cerebro (6). Pocas semanas después de la fecundación, las células que se están multiplicando para formar los distintos tejidos se distribuyen en tres estratos, llamados "hojas embrionarias". Del primero se formarán todos los órganos internos (endodermo) y del segundo los músculos y el esqueleto (mesodermo). De la tercera hoja (ectodermo) se origina el sistema nervioso y el revestimiento del organismo, es decir, la piel y las mucosas. Además, la piel posee una formidable capacidad de regeneración (7).

La piel es el órgano de mayor tamaño de la especie humana. Su grosor varía según la localización. Tiene la máxima delgadez en los párpados y el mayor grosor en la planta de los pies y palmas de las manos. Es un órgano complejo y heterogéneo que interviene en distintas actividades fisiológicas que tienden a mantener el estado de equilibrio del cuerpo respecto a diversas funciones y composiciones químicas de los líquidos y los tejidos, llamada homeostasis.

Según las distintas partes del cuerpo, puede variar el espesor, color así como la presencia de vello y glándulas en la piel (7).

La piel está constituida por tres capas sucesivas (Fig. 1): La epidermis la más superficial, la dermis y la hipodermis, la más profunda. Está constituida por dos millones de células que se renuevan de forma continua, 300 millones de ellas son reemplazadas cada día. Pesa entre tres y cinco kilogramos y completamente extendida puede llegar a ocupar un área de 1.8 m^2 (8).

La coloración de la piel varía según las distintas razas, esto es debido a un pigmento que es la melanina. También puede deberse a modificaciones en la circulación y a la presencia de hemoglobina en distintos grados de oxigenación.

El tejido epitelial es determinante en la formación de la piel, y más concretamente en la formación de la epidermis. Este tejido es llamado también epitelio cuando recubre las superficies limitantes externas del organismo. Se llama endotelio cuando recubre las superficies internas, como en el caso de las paredes arteriales y venosas, del tubo digestivo o del corazón.

Las células del tejido epitelial se hallan fuertemente unidas entre sí y pueden presentarse formando una sola capa de células o formando varias. En este último caso, el tejido epitelial recibe el nombre de poliestrato; esto es, varios estratos o capas.

El otro tipo de tejido es el conjuntivo, que forma la dermis. El tejido conjuntivo está muy extendido por todo el cuerpo, y su misión es trabar, unir, envolver, sostener y reforzar a los demás tejidos.

Ambos tejidos, el epitelial y el conjuntivo, son de importancia en la formación y existencia de la piel, ya que mientras la epidermis carece de vasos sanguíneos, la dermis proporciona las sustancias con las que aquélla puede nutrirse.

La piel tiene además unos órganos anexos, como las uñas, los cabellos, las glándulas sebáceas y las glándulas sudoríparas, además tiene células del sistema vascular, nervioso e inmunológico (como macrófagos, linfocitos y células de Langerhans) (9).

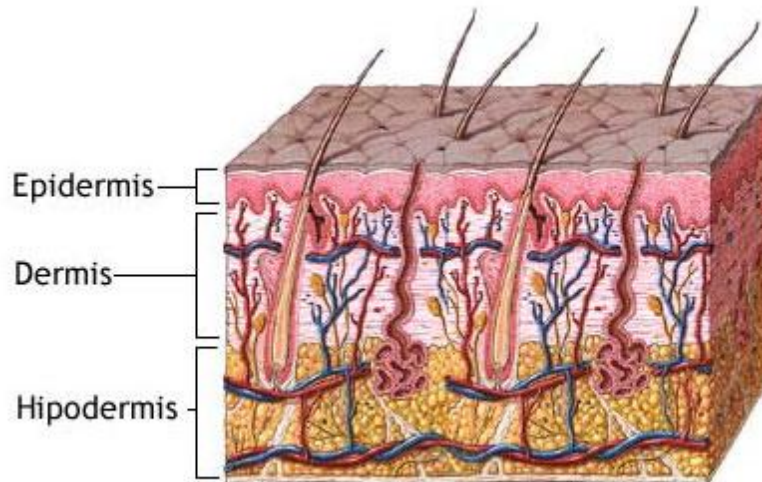


Figura 1. Capas de la piel (7).

ESTRUCTURA DE LA PIEL

1) Epidermis

Es la capa que está en contacto con el exterior. Procede del ectodermo embrionario y está formada por tejido epitelial. La epidermis es un epitelio estratificado formado por una serie de estratos cuya misión principal es producir queratina. Esta sustancia es una proteína que confiere resistencia a la piel y permite protegernos frente a sustancias extrañas. Los estratos que forman la epidermis son (Fig. 2):

- Estrato basal o germinativo
- Estrato espinoso
- Estrato granuloso
- Estrato lúcido
- Estrato corneo

Las células van avanzando a través de los estratos a distinta velocidad. La velocidad con la que ascienden depende, entre otros factores, de la descamación. Si hay un estímulo externo que hace que las primeras capas de la piel se pierdan, otras células empiezan a dividirse con mayor rapidez en las capas más profundas de la epidermis. Según ascienden se van diferenciando, pierden el núcleo y aparecen granulaciones y vesículas, cambiando sobre todo su composición proteica. La proteína fundamental que se sintetiza es la queratina que va aumentando en porcentaje a medida que las células van ascendiendo hasta llegar al estrato córneo.

La queratina está constituida por fibrillas que se van asociando unas con otras dando lugar a los protofilamentos que, a su vez dan lugar a las protofibrillas (10).

Las fibrillas de queratina se forman ya desde el estrato basal. Son pequeñas y poco resistentes. A medida que nos acercamos al estrato córneo, van aumentando de tamaño y el diámetro de las fibrillas se hace mayor.

Las fibrillas están unidas por una sustancia llamada queratohialina y por una serie de lípidos que rodean a las fibrillas. Todo esto confiere una alta resistencia a la última capa de la epidermis ante los agentes externos. El estrato córneo se ve modificado cuando disminuye la cantidad de lípidos, es entonces cuando se reseca y se vuelve más vulnerable (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de los estratos epidérmicos (modificada de Tortora et al.)
(10).

ESTRATO	DESCRIPCIÓN
Basal	El más profundo, consiste en una sola capa de queratinocitos cúbicos o cilíndricos con filamentos intermedios compuestos de queratina; células madre que sufren división celular para producir nuevos queratinocitos; melanocitos; células de Langerhans y de Merkel relacionadas con los discos táctiles dispersas entre los queratinocitos
Espinoso	Ocho a 10 capas de queratinocitos poliédricos que según van ascendiendo, Se van aplanando; incluye prolongaciones de melanocitos y células de Langerhans
Granuloso	Tres a 5 filas de queratinocitos planos, cuyos organelos ya están en degeneración; las células contienen la proteína queratohialina, que organiza los filamentos intermedios en haces gruesos, y gránulos laminares que liberan una secreción rica en lípidos que repele el agua
Lúcido	Solo hay en la piel de la yema de los dedos, palmas de las manos y plantas de los pies; consiste en 3 a 5 capas de queratinocitos muertos, planos y transparentes con filamentos intermedios en íntima oposición
Córneo	25 a 30 capas de queratinocitos muertos y planos que contienen una gran cantidad de queratina, formando una fuerte membrana; queratohialina y gránulos laminares. Hay dos zonas diferenciadas: una más superficial formada por células más separadas que se van a ir perdiendo dando lugar a la descamación; y otra zona cercana al estrato lúcido formada por células más fuertemente pegadas.

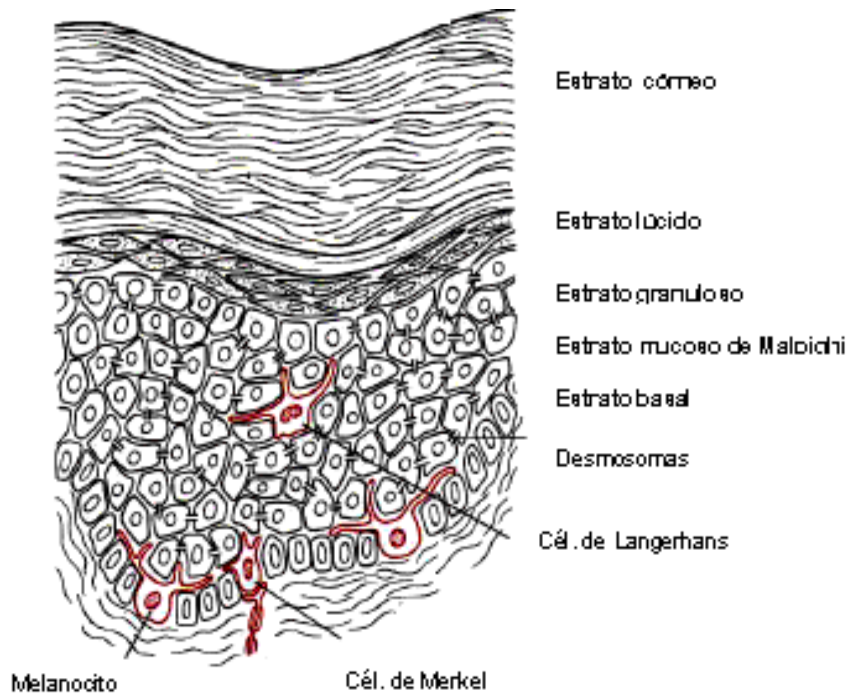


Figura 2. Capas que conforman la epidermis (10).

2) Unión dermoepidérmica (lámina basal o membrana basal)

Es una membrana plasmática enrollada que presenta una gran superficie. Se encuentra entre la dermis y la epidermis permite el intercambio de nutrientes entre ambas, ya que en la epidermis no hay riego sanguíneo, y evita el desplazamiento de las 2 capas (Fig.3).

Separa la epidermis de la dermis (10). Posee 4 zonas principales, distinguibles al microscopio electrónico:

- membrana plasmática de la célula basal
- lámina lúcida
- lámina densa
- zona fibrosa

Con microscopía de luz se observa como una banda PAS (+), ondulada.

Sus funciones son:

- Soporte mecánico
- Barrera de regulación de la permeabilidad
- Fijación de las células basales al tejido conectivo
- Desarrollo y morfogénesis de las células epiteliales.

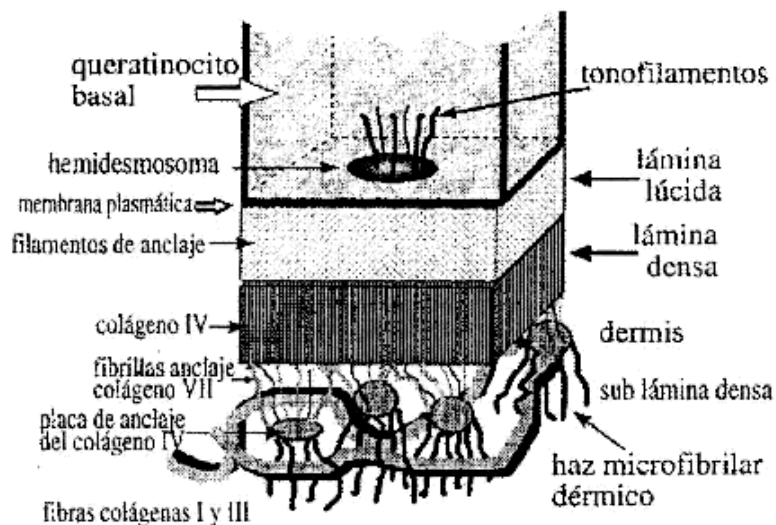


Figura 3. Unión dermoepidérmica (10).

3) Dermis

Almohadilla fibroelástica donde se asienta la epidermis y se encuentran los anexos.

Está formada por dos zonas bien diferenciadas:

- Capa papilar: es la más superficial
- Capa reticular: es la capa interna.

Ambas están formadas por tejido fibroso pero en la capa más externa las fibras se ordenan de forma paralela a la superficie. Es una estructura organizada. Las células que forman las fibras se llaman fibroblastos. También se encuentran en esta zona los macrófagos y los mastocitos.

En la capa reticular aparecen fibrillas musculares. Es una estructura más densa y da lugar a redes tridimensionales. Se diferencia de la capa papilar en la organización de las fibras.

Los anexos cutáneos, las terminaciones nerviosas y la trama vascular se encuentran en esta zona. También se encuentran los receptores del tacto, corpúsculos de Meikel, los del frío, corpúsculos de Krause, los del calor, corpúsculos de Ruffini y los corpúsculos de Golgi-Mazzoni, que son receptores de la presión (11).

La dermis está formada por fibras que la confieren elasticidad. Se dividen en:

a) Fibras colágenas: son las mayoritarias. Constituyen el 75% del total de fibras de la dermis. Están compuestas de colágeno formado en los fibroblastos. El colágeno es rico en hidroxiprolina y se forma y metaboliza continuamente. Se divide en 2 fracciones; la soluble y la fracción insoluble. En el envejecimiento, el colágeno se vuelve más insoluble, perdiendo flexibilidad.

b) Fibras elásticas: sólo constituyen el 4% de la dermis. Son proteínas con alta proporción de valina y prácticamente nada de hidroxiprolina. Las más conocidas son la reticulina y la elastina. La reticulina tiene carbohidratos mientras que la elastina se compone de una sustancia característica, que es el desmoseno.

Aparte de las fibras, entre sus componentes se encuentran mucopolisacáricos y glucosaminoglicanos. Estos últimos tienen un alto poder de imbibición y son hidrofílicos, por tanto retienen grandes cantidades de agua.

4) Hipodermis o tejido celular subcutáneo

Es un tejido conjuntivo laxo constituido por grandes lóbulos de tejido graso limitados por tabiques de fibras colágenas delgadas y escasas fibras elásticas. Subyace a esta última capa (aunque no se considera un elemento propiamente constitutivo de la piel) y está formada por adipositos, tejido conjuntivo especializado que aglutina la grasa formando una pantalla de amortiguación física y térmica (Fig.1).

5) Anexos de la piel

Hay invaginaciones de la epidermis que dan lugar a los anexos de la piel, como los folículos pilosos y a las glándulas sebáceas y que están ubicados en la dermis:

Folículo piloso

Nace en la dermis, estando la raíz asentada allí. Histológicamente las células son más parecidas a la epidermis. Cada pelo consta de raíz y tallo. La raíz está incluida en el folículo piloso. Está formada por el bulbo piloso, dentro del cual está la papila dérmica, con los vasos y los nervios. Las células adyacentes a la papila forman la matriz del pelo que nutren. Siempre anexada al folículo se encuentra una glándula sebácea, que secreta el sebo, proporcionando flexibilidad y suavidad al pelo (Fig.4).

La parte que sobresale de la piel es el tallo que posee morfológicamente tres capas:

- Cutícula (capa escamosa): representa el manto protector del pelo contra la desecación y la penetración de sustancias extrañas.
- Corteza (capa fibrosa): estructura fibrilar que consta de fibrillas, microfibrillas y protofibrillas, que se unen mediante una masa compacta y amorfa que las cohesiona.
- Médula (conducto medular): forma el cordón celular interno del pelo.

El pelo está constituido por aminoácidos fisiológicos que se sintetizan en la raíz para formar cadenas de queratina. Su color se debe al contenido en melanina en la capa fibrosa. Al igual que en la piel se encuentra la eumelanina (color pardo-negrusco) y la feomelanina (amarillo-rojizo).

Dentro de los factores que regulan el crecimiento del pelo, las hormonas desempeñan un papel principal. Tanto los andrógenos como los estrógenos influyen de distinta manera en el desarrollo del pelo, así la concentración de andrógenos intervienen tanto en la calvicie como en el hirsutismo, mientras que los estrógenos alargan las fases de crecimiento y de transición del pelo (12).

Glándula sebácea

Formada por los adipositos, éstas células son semejantes a las de los estratos de la epidermis pero posteriormente se llenan de lípidos y pierden el núcleo. Estos lípidos los vierten por el canal central e impregnan la vaina del folículo piloso al que está anexa cada glándula.

Estas glándulas están ausentes en las palmas de las manos y en la planta de los pies. Presentes en gran número en el cuero cabelludo. Es un órgano secretor formado por un conjunto de lóbulos, irrigados por la trama vascular, que poseen una serie de conductos por los cuales circula el sebo. El conducto de cada lóbulo vierte el

material lipídico sintetizado a un conducto mayor que desemboca casi siempre en la parte superior de un folículo piloso (Fig. 4).

El sebo secretado lubrica el pelo y el vello, e impide que la piel se deseeque o se quiebre. Este sebo esta compuesto de forma minoritaria por colesterol y sus ésteres; se hallan en abundancia el escualeno y los ésteres céreos; mientras que son mayoritarios los triglicéridos, diglicéridos y ácidos grasos libres. Este sebo es más abundante en los varones que en las mujeres.

Coincidiendo con la pubertad, los niveles se incrementan considerablemente, propiciando la aparición de comedones y acné en las zonas cutáneas de mayor densidad glandular. Estos niveles de secreción disminuyen durante el envejecimiento.

La testosterona es el principal factor de la regulación del ritmo de secreción de las glándulas sebáceas. En realidad, la molécula activa es un metabolito de la testosterona, la dihidrotestosterona (DHT), que se forma en el tejido cutáneo por acción de una enzima denominada 5- α reductasa. El papel que pueden desempeñar otros factores hormonales es mucho menos claro (13).

Los mecanismos de control de la secreción sebácea pueden ser endocrinos y tal vez también no endocrinos.

Mecanismos endocrinos

- Andrógenos: las glándulas sebáceas aumentan en actividad y tamaño
- Estrógenos: opuesto a los andrógenos
- Hormonas hipofisarias: tienen acción estimulante de la producción de andrógenos
- Hormonas tiroideas: aumentan la producción de sebo.

Funciones del sebo

- Barrera protectora y aislante de la piel
- Regula absorción y pérdida de agua
- Efecto antimicrobiano (antifúngico y antibacteriano)
- Efecto lubricante ocular
- Como feromonas con rol sexual en los animales

Glándula sudorípara

Formada por células epiteliales y en su interior se forma un canal central a partir de las células periféricas. Hay dos tipos de glándulas (Tabla 2):

- Glándulas apocrinas: poseen un conducto secretor que desemboca en un folículo piloso. Son glándulas tubulares, mayores que las exocrinas, cuya parte secretora forma un ovillo localizado en la dermis. Su localización también es muy significativa y permite realizar una clasificación de las mismas en:

- a. Glándulas ciliares situadas entre los folículos de las pestañas
- b. Glándulas ceruminosas localizadas en el conducto auditivo externo, productoras de la secreción cérea típica del oído.
- c. Glándulas situadas en la región anogenital, en las areolas mamarias y en las axilas.

Las glándulas sudoríparas apocrinas se hallan sometidas a un control hormonal y sólo inician el proceso secretor cuando se alcanza la pubertad, decreciendo con la edad. Su secreción es escasa y sólo se vierte al exterior de forma esporádica.

- Glándulas exocrinas: el contenido lo vierten directamente sobre la superficie de la epidermis favoreciendo la emulsión epicutánea. Se hallan distribuidas por casi toda la superficie corporal en un número aproximado de 3 millones. Son glándulas tubulares simples de origen epidérmico, situadas en la dermis. El control de la secreción lo realizan fibras nerviosas simpáticas colinérgicas postganglionares.

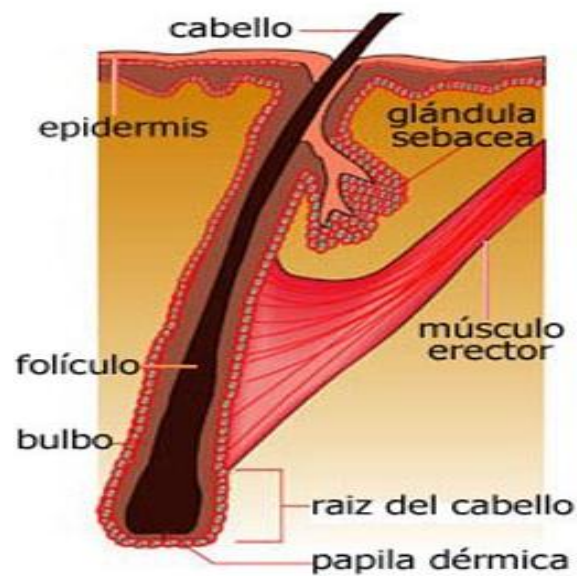


Figura 4. Estructura de folículo piloso y glándula sebácea (12).

Tabla 2. Comparación de las glándulas sudoríparas exocrinas y apocrinas
(modificada de Tortora et al.) (10).

RASGO	GLÁNDULAS SUDORÍPARAS EXOCRINAS	GLÁNDULAS SUDORÍPARAS APOCRINAS
Distribución	En toda la piel, excepto en el borde mucocutáneo de los labios (boca), glande del pene y del clítoris, labios menores (vulva) y membrana del tímpano	Piel de las axilas, ingles, areolas y región de la barba
Localización de la Porción secretora	Dermis profunda	Tejido subcutáneo
Terminación del conducto excretor	Superficie de la epidermis	Folículos pilosos
Secreción	Líquido viscoso, de aspecto lechoso, cuyo pH es neutro o débilmente alcalino. La composición es variable, presentando además de agua, una fracción lipídica, aminoácidos, iones (Na ⁺ Cl ⁻), urea, ácido úrico, amoniaco, glucosa y ácido láctico	Líquido acuoso claro que contiene sólo un 0,5% de sólidos. En él abunda el cloruro sódico, junto a la glucosa, ácido láctico y urea, lípidos y proteínas. Su pH oscila entre 4,2 y 5,5 (14).
Funciones	Regulación de la temperatura corporal y eliminación de desechos	Ocurre su estimulación durante el estrés Emocional y la excitación sexual
Comienzo de sus funciones	Poco después del nacimiento	Pubertad

1.2 TIPOS DE PIEL

Se pueden utilizar diferentes criterios para clasificar la piel. Una de las más aceptadas se basa en la naturaleza de la emulsión que se forma sobre la superficie corporal entre las moléculas lipídicas y acuosas cutáneas o externas, denominada manto hidrolipídico o emulsión epicutánea. No obstante, existen otros factores, sobre todo fisiológicos, relacionados con las características y el comportamiento de la superficie externa de la piel. Se puede clasificar (15):

1. SEGÚN LA EPIDERMIS.

- Piel gruesa: aquella que posee un estrato córneo bien desarrollado. La suelen presentar personas expuestas de forma crónica al sol, ya que uno de sus efectos es la hiperqueratosis (engrosamiento del estrato córneo). Su aspecto es tosco, con los poros dilatados y de color opaco amarillento. Es una epidermis gruesa y queratinizada, con un aspecto amarillento debido a la queratina.
- Piel delgada: posee una capa córnea fina. Propia de mujeres y de zonas corporales cubiertas. Presenta una superficie uniforme, con poros poco visibles y de color sonrosado translúcido.

2. SEGÚN LA DERMIS.

La firmeza, elasticidad y capacidad de recuperación de la piel, dependen básicamente de las características de la dermis. Se puede dividir en:

- Piel tónica: es aquella que presenta tensión y elasticidad.
- Piel flácida: aquella que ha perdido la elasticidad y la capacidad de recuperación después de someterse a una deformación. Presenta estas características pieles envejecidas e incluso pieles jóvenes que han sufrido un adelgazamiento brusco o ciertas enfermedades.

3. SEGÚN LAS SECRECIONES.

La emulsión epicutánea o manto hidrolipídico es la emulsión formada por el agua procedente de las glándulas sudoríparas y el ambiente, junto con los lípidos de las glándulas sebáceas y de la capa córnea. Es una película que recubre el estrato córneo, ayudando al mantenimiento de la función de barrera.

Según la fase continua de la emulsión resultante, se forman emulsiones de fase externa acuosa (O/W) u oleosa (W/O), en función de los cuales clasificaremos los distintos tipos de piel en (Tabla 3):

Tabla 3. Clasificación de los tipos de piel (15).

TIPO DE EMULSIÓN	O/W	O/W	W/O
Epidermis	Fina	Normal	Gruesa
Secreción sebácea	Escasa	Media	Alta
Tamaño de poro	Pequeño	Normal	Grande

La composición y tipo de manto hidrolipídico dependen de factores:

- Constitucionales: inherentes al individuo.
- Localización corporal: por ejemplo, la frente es la localización más rica en glándulas cutáneas, mientras en las piernas la secreción sebácea es muy escasa.
- Edad: al envejecer se produce un descenso en los niveles de secreción sebácea y el estrato córneo se vuelve más seco y tiende a agrietarse.
- Sexo: existe una influencia de las hormonas sexuales sobre las secreciones.
- Ambientales: agentes ambientales externos pueden modificar el aspecto de la piel.

PIEL GRASA

Este tipo de piel presenta una mayor actividad de las glándulas sebáceas. Tiende a constituir emulsiones con la fase continua formada por lípidos, dando lugar a una emulsión epicutánea de fase externa oleosa. Se distinguen varios tipos de piel grasa con distintas características (Tabla 4):

- Piel grasa deshidratada.

Se desarrolla cuando la secreción sebácea modifica su composición cualitativa, disminuyendo la proporción de lípidos hidrófilos. En estas condiciones la emulsión epicutánea no se forma o es insuficiente para proporcionar una adecuada protección, ya que disminuye el agua retenida al evaporarse ésta con más facilidad por tanto, la piel se deshidrata.

- Piel grasa asfíctica.

Es una piel que ha alcanzado este estado por la utilización errónea de productos cosméticos. Por ejemplo, el empleo de productos demasiado astringentes que cierran los poros provoca una alteración en la composición de la secreción sebácea, originando la producción de grasa solidificada que, por la hipertrofia de la capa córnea, tiene dificultades en salir al exterior. Ello origina la aparición de quistes sebáceos.

Tabla 4. Características de los distintos tipos de pieles grasas (15).

	Seborreica	Deshidratada	Asfíctica
Aspecto	Brillante	Brillante pero opaca	Brillante en zonas seborreicas. Mate y marchito en zonas no seborreicas
Textura	Untuosa	Áspera	Ligeramente áspero en zonas no seborreicas. Algo untuoso en zonas seborreicas.
Superficie	Cérea (sin escamas)	Escamosa	Descama según zonas
Poros	Perceptibles, abiertos (espinillas)	Perceptibles, abiertos (zona central de la cara)	Cerrados, con quistes sebáceos y comedones
¿Resiste el jabón?	Si	No	No, especialmente los astringentes
¿Cómo se broncea?	Rápida y uniformemente	Bien, pero con manchas y se congestiona	Pigmentación anormal, aparición de manchas
¿Resiste a los cambios climáticos?	Si	No	Si/no

PIEL SECA

La piel seca presenta una emulsión del manto epidérmico de fase externa acuosa (O/W). Una correcta función barrera presupone una superficie cutánea lisa, flexible, sin fisuras, sin grietas y con una descamación imperceptible. Las pieles secas se desarrollan como consecuencia de una disminución en el contenido de agua del estrato córneo, dificultando dicha función barrera. Esta hidratación del estrato córneo depende de muchos factores, tanto internos como externos.

La sequedad cutánea se caracteriza por presentar aspereza, descamación, pérdida de flexibilidad y elasticidad, grietas e hiperqueratosis.

La pérdida de agua puede deberse a (16):

- Disminución de la secreción sebácea. Supone la deshidratación de las capas córneas superficiales y propicia una alteración de la función barrera por parte de los agentes externos.
- La falta de precursores (filagrina) de las moléculas hidrosópicas que constituyen el factor de hidratación natural (FHN) de los corneocitos. Como consecuencia aparecen sequedad y aspereza cutánea que dificultan la función barrera.
- La escasez y alteración de los lípidos que forman las membranas córneas y la sustancia cementante intercorneal, puede incrementar la pérdida de agua y causar aspereza y sequedad.
- Existen patologías cutáneas, como ictiosis, psoriasis, xerosis o dermatitis seca, ligadas a una hiperqueratosis y que son causa de deshidratación, sequedad, descamación y aspereza en el estrato córneo.

- El calor seco intenso y persistente, provoca una pérdida de agua que modifica la fase acuosa de la emulsión epicutánea reduciendo el entorno acuoso de las sustancias higroscópicas del factor natural de hidratación (FHN) y eliminando las láminas de agua que forman parte de la sustancia lipídica cementante entre las células corneales.
- El frío puede afectar las actividades enzimáticas que transforman los aminoácidos precursores de las sustancias que forman el FHN.
- El exceso de radiación UV puede dañar las proteínas córneas y los lípidos lábiles. A largo plazo produce hiperqueratosis que se manifiesta con sequedad y aspereza cutánea.
- La utilización continuada de jabones y detergentes puede provocar una pérdida de los lípidos superficiales, por lo que desaparece la emulsión epicutánea y produce un resecaimiento de la epidermis. También es posible una eliminación de parte de los lípidos cementantes empeorando los signos de la sequedad.
- Los productos alcalinos pueden bloquear la capacidad tampón del estrato córneo y provocar la pérdida de la acidez fisiológica característica de la capa córnea.

La sequedad cutánea puede ser ocasional o crónica. La piel seca constitucional se caracteriza por ser gruesa, áspera y rugosa al tacto, con una descamación anormal. Presenta poca tolerancia a los agentes externos. El síntoma acompañante más frecuente es el prurito, que se atribuye a una alteración en el umbral sensorial o la penetración de irritantes a través de un estrato córneo anormal. Es frecuente en personas ancianas o con dermatitis atópica.

Dentro de las pieles secas ocasionales o temporales se encuentran principalmente las pieles secas alipídicas y las pieles secas deshidratadas (Tabla 5).

Las pieles alipídicas se caracterizan por una disminución del nivel lipídico en la secreción sebácea, ocasionando la deshidratación de la capa córnea por una menor protección de la emulsión epicutánea.

Las pieles deshidratadas deben su sequedad a un déficit de agua en el estrato córneo. Los agentes externos favorecen la eliminación del agua superficial conduciendo a un resecamiento y mayor descamación córnea.

Tabla 5. Características de los tipos de piel seca.

ALÍPIDICAS	DESHIDRATADAS
Color blanco rosado.	Tacto áspero.
Espesor fino.	Piel con espesor fino.
Aspecto mate y marchito.	Aspecto mate, sin brillo.
Poros cerrados e imperceptibles a simple vista.	Gran tendencia a las arrugas y a que se infecten los poros (granos).
Tacto áspero.	Tolera muy mal los jabones.
Fácil descamación.	Broncea difícilmente.
Tendencia a presentar arrugas.	Fácil descamación.
Resiste muy mal los cambios climáticos.	Mala adaptabilidad a los cambios climáticos.
Las glándulas sebáceas y sudoríparas se encuentran disminuidas de volumen.	Piel muy sensible, que se irrita con facilidad
No toleran bien los jabones.	Sensación de tirantez.
Se broncea con dificultad.	No suele presentar espinillas.
No suele tener espinillas.	
Pérdida de elasticidad.	
La sensibilidad a los agentes externos favorece la aparición de rojeces y descamaciones.	

PIEL NORMAL

Es aquella cuyo manto hidrolipídico se halla correctamente formado, con una cantidad de lípidos idónea y constituyendo una emulsión de fase externa acuosa (O/W) o de fase externa oleosa (W/O), bien constituida. La función barrera no presenta ninguna alteración y la hidratación cutánea presenta una normalidad absoluta. Sus características son:

- Color rosado uniforme.
- Tacto muy suave, aterciopelado.
- Propio de pieles jóvenes.
- Espesor fino.
- Lisa, sin arrugas y elástica.
- Flexible, tónica.
- Buena irrigación.
- Poros cerrados y pequeños.
- No hay presencia de aspectos poco estéticos como manchas, poros abiertos o líneas tirantes.
- No hay brillo grasiento.
- Tiene una superficie lubricada y humedecida.
- Presenta una buena tolerancia a los jabones.
- Se broncea al sol en exposiciones normales y controladas.
- Resiste bien los cambios de temperatura.

Hay situaciones en que según la localización la piel es seca y grasa, ya que la distribución de las glándulas sebáceas y sudoríparas no es homogénea. En esta situación intermedia, se admite la clasificación de piel mixta como estado fisiológico cutáneo que alterna las características de piel seca y grasa, en unas condiciones de normalidad.

PIEL SENSIBLE

Es toda aquella que tiene un umbral de tolerancia inferior al de una piel normal, es decir, reacciona frente a estímulos a los que una piel normal no reacciona, sufre sensaciones de incomodidad como calor, tirantez, enrojecimiento o prurito, y es frágil, clara y sujeta a rojeces difusas y/o patologías (acné, dermatitis atópica, etc.).

En el estrato córneo de estas pieles aparecen una serie de cambios:

- Eliminación de lípidos.
- Eliminación de sustancias solubles celulares y agua.
- Desnaturalización y desdoblamiento de proteínas.
- Descamación.
- Cambios en el contenido detectable de enzimas.
- Engrosamiento de la capa córnea.

Estos cambios originan la pérdida de la función barrera, que perjudica la resistencia a la penetración de microorganismos o sustancias externas, y una pérdida de la elasticidad, que origina pequeñas fisuras y descamación, facilitando la penetración de sustancias agresivas e irritantes, aumentando la posibilidad de desencadenar reacciones alérgicas.

La piel sensible debe su alta reactividad a la protección cutánea insuficiente, a la hiperreactividad alérgica y a problemas microcirculatorios.

1.3 FUNCIONES

La piel posee otras funciones básicas para el correcto funcionamiento de nuestro organismo. Tiene una función protectora, ya que es capaz de seleccionar lo que resulta dañino para el organismo y lo que, por el contrario, es benéfico para nosotros.

Esto se consigue gracias a su disposición de barrera que impide la entrada de sustancias nocivas (millones de bacterias que viven sobre ella, cuerpos extraños y, en parte, radiaciones solares perjudiciales) y a un sistema inmunológico propio. Además tiene una función reguladora del metabolismo: impide la salida de sustancias (líquidos y células) imprescindibles para nuestro organismo, regula la temperatura corporal protegiéndonos de los cambios de temperatura ambiental (tanto del frío como del calor) y transforma los rayos del sol en vitamina D (vitamina necesaria para el buen estado de nuestros huesos).

Es un órgano que cumple funciones fundamentales en el organismo. Se la considera una enorme glándula que recubre todo el cuerpo, separando y uniendo el mundo interno y externo (17).

Entre sus funciones están:

- 1) Protección: contra el mundo exterior. Por ejemplo de los traumatismos.
- 2) Termoregulación: Regula la temperatura constante de 37 grados que el individuo necesita. Por ello se le da el nombre de corazón periférico.
- 3) Sensibilidad: Por esta función es que sentimos calor, frío, etcétera; por ello se le da el nombre de cerebro periférico.

- 4) Depósito: Es un reservorio de múltiples sustancias como: minerales, sustancias grasas, sustancias orgánicas, hormonas, vitaminas, etcétera
- 5) Emuntorio: Es la eliminación de distintas sustancias a través del sudor y la secreción sebácea.
- 6) Antimicrobiana: Es la primera gran defensa del organismo y actúa como una barrera natural. Si esta barrera se rompe se producen las infecciones.
- 7) Melanógena o de Pigmentación: En la capa basal de la epidermis se encuentran las células melanógenas, que producen la melanina, que es la que da las distintas tonalidades a la piel.

Es así que tenemos las distintas razas:

Raza Blanca: Menos melanina y menos protección.

Raza Negra: Mas melanina y mas protección.

Estos pigmentos protegen de los rayos solares. Los albinos no tienen pigmentos, por ello deben evitar el sol, que les producirán quemaduras importantes y pueden derivar en cáncer de piel. La pigmentación se intensifica en el verano y disminuye en el invierno. Las pieles blancas y sensibles de personas rubias, pelirrojas y de los niños, se deben proteger con bronceadores en el verano que contengan filtro y pantalla solar (18).

8) Protección contra rayos ultravioleta (RUV) mediante:

- Queratinización: Absorbe y Refleja la RUV, el grosor aumenta con la exposición crónica.
- Melanina: La pigmentación se puede dividir en constitutiva y facultativa, siendo esta última la producida después de la exposición a la RUV, con un aumento de melanocitos y melanosomas (Fig. 5).

· Antioxidantes: Papel reductor de los radicales libres producidos por la exposición a RUV, dentro de los principales tenemos: B-Carotenos, Tocoferol y Ac. Ascórbico, también algunas enzimas como la Superóxido Dismutasa y la Glutación Peroxidasas.

· Reparación ADN: Mecanismo que previene las mutaciones en caso de que la exposición solar produzca daños en la estructura de los nucleótidos, el principal es el mecanismo de Escisión y reparación, por medio del cual se extirpa la porción dañada del ADN y se restituye utilizando como molde la contraparte del mismo. Un ejemplo donde encontramos un daño de este mecanismo es el xeroderma (Afección cutánea caracterizada por el estado rugoso, seco y descolorido de la piel).

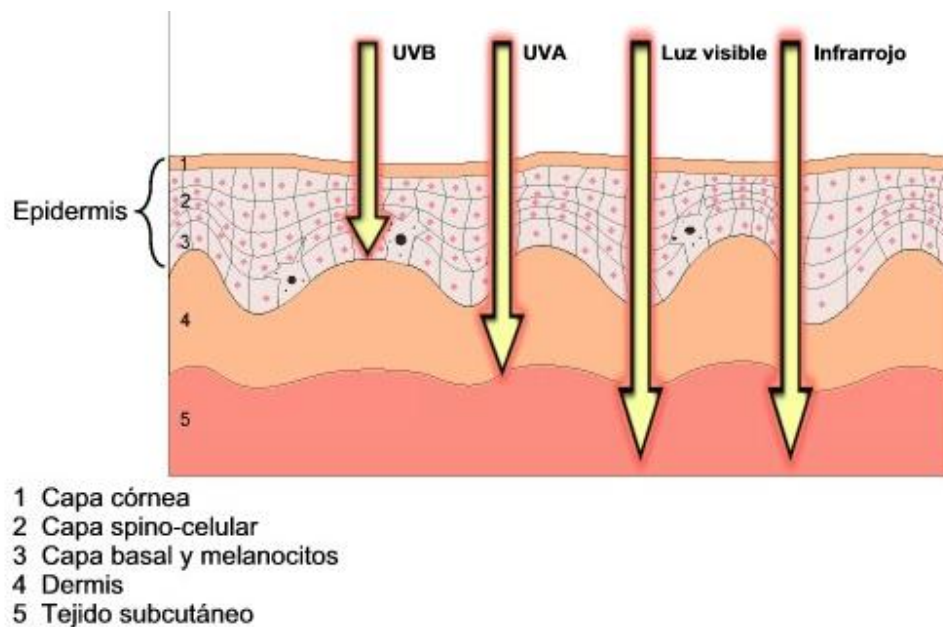


Figura 5. Penetración de rayos UV en la piel (16).

9) Hidratación

La estructura del estrato corneo es lo más importante para evitar la pérdida excesiva de agua, encontrándose una distribución con dos compartimientos; uno caracterizado por células proteínicas llamadas corneocitos, los cuales tienen una alta resistencia a solventes orgánicos, ácidos, álcalis y enzimas, gracias a su alto contenido de filamentos de queratina.

Este compartimiento proteico es permeable al agua, por lo cual se hace necesaria la presencia de un segundo compartimiento formado por la matriz lipídica extracelular, formada por esteroides, fosfolípidos, ceramidas, ácidos grasos libres, enzimas como las fosfatasa, proteasas y otras. Por eso cuando se habla de la hidratación de la piel se trata del manto hidrolipídico; y el concepto de hidratación es algo más complejo que la simple aportación de agua.

1.4 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PIEL

La piel es un órgano que tiene considerable actividad enzimática, que incluyen isozimas citocromo P-450, las cuales pueden estar localizadas en células específicas de la epidermis y del sistema pilosebáceo. Enzimas identificadas en el estrato córneo incluyen: lipasas, proteasas, fosfatasas y glicosidasas. Toda sustancia aplicada sobre la piel se activa en forma química mediante la oxidación realizada por las isozimas P-450. Estas enzimas están localizadas principalmente en el retículo endoplásmico y la actividad es más alta en la fracción microsomal de homogeneizados de piel. La actividad catabólica de las enzimas en los folículos pilosos es particularmente grande. Mientras la actividad epidermal de la citocromo P-450 en la piel es de alrededor del 1-5% comparada con la del hígado, la actividad de transferasas puede ser 10 veces más alta que la de valores hepáticos (19). La actividad enzimática varía con el sitio anatómico de nuestra piel. Por ejemplo, la actividad de la hidrocortisona 5α -reductasa se detectó únicamente en la piel de la frente mientras que altos niveles de testosterona 5α -reductasa se encontraron en la piel escrotal. La distribución de la actividad enzimática en las diferentes capas de la piel no se conoce con precisión y, por lo tanto, provoca dificultades en el desarrollo de experimentos. Como los capilares sanguíneos se encuentran localizados entre el punto de unión de la epidermis con la dermis, muchos fármacos tienen mínimo contacto con las enzimas de la dermis antes de alcanzar la circulación sistémica. De esta manera, la actividad enzimática de la epidermis será la más importante barrera para la absorción de fármacos. La hidrólisis enzimática de fármacos en la piel también se ha descrito (20) y pueden diferir los resultados obtenidos *in vivo* e *in vitro*, en el caso de los resultados *in vitro*, algunas veces hay un mayor metabolismo por incremento de la actividad enzimática y por la falta de la acción removedora de los capilares (21).

1.5 PROPIEDADES ELÉCTRICAS DE LA PIEL

Las propiedades eléctricas del estrato córneo fueron investigadas mediante la técnica del “tape stripping”, cuando se observó que la remoción del estrato córneo dramáticamente reducía la resistencia observada (22). Estos estudios sugirieron que es el estrato córneo la capa de resistencia eléctrica más alta y es además un elemento importante para la impedancia de la piel. La alta resistencia de esta capa se debe en gran parte a su bajo contenido de agua (alrededor del 20%) comparado con el valor fisiológico normal (cerca del 70%).

Para entender el concepto de impedancia en términos simples, primeramente necesitamos entender el término de capacitancia.

Un arreglo en paralelo separado por una distancia muy pequeña y conectado a una batería permite a los electrones distribuirse en el plato bajo. (Figura 6) Los electrones en el plato bajo entonces inducen una carga positiva en el plato superior de forma tal que más electrones pueden fluir dentro del plato bajo de la batería. Este arreglo de platos en paralelo actúa como un capacitor o condensador y es precisamente a esta propiedad a la que se le denomina capacitancia.

La capacitancia de un capacitor es la habilidad que tiene para almacenar carga eléctrica, fluyendo dentro de éste en forma de carga. Los tejidos biológicos, como la piel, tienen esta propiedad debido a que presentan la capacidad de almacenar carga eléctrica de ahí que pueda ser considerada como un capacitor eléctrico. Cuando un circuito eléctrico posee tanto elementos capacitantes como resistivos, se dice que es reactivo, a diferencia de aquellos que únicamente poseen elementos resistivos. El modelo de circuito para el estrato córneo utiliza un arreglo en paralelo de un resistor y un capacitor o un resistor en serie con una combinación en paralelo de un resistor y un capacitor (22).

Un sistema que es muy reactivo presenta mucho más impedancia que resistencia. La impedancia representa la oposición total eléctrica del circuito al paso de corriente a través de él. Medidas de la impedancia eléctrica de la piel son importantes para entender la liberación transdérmica de fármacos eléctricamente asistidos.

La pérdida de resistencia de la piel por aplicación de corriente puede ser debida a una reorientación de moléculas entre los caminos por los que se transportan los iones, como es el posible re-arreglo de moléculas de lípidos en folículos pilosos y glándulas sebáceas (23).

La iontoforesis incrementa la concentración de fármaco en la parte de la piel que es la barrera limitante durante la difusión pasiva. Esto implica, que para fármacos lipofílicos como el fentanil la concentración en piel aumentará, mientras que para fármacos hidrofílicos como la hormona liberadora de tirotrópina, incrementará su concentración en el estrato córneo. Esto es una consecuencia de que los fármacos hidrofílicos tienen dificultad en repartirse dentro del estrato córneo, mientras que los fármacos lipofílicos tienen dificultad en repartirse fuera del estrato córneo.

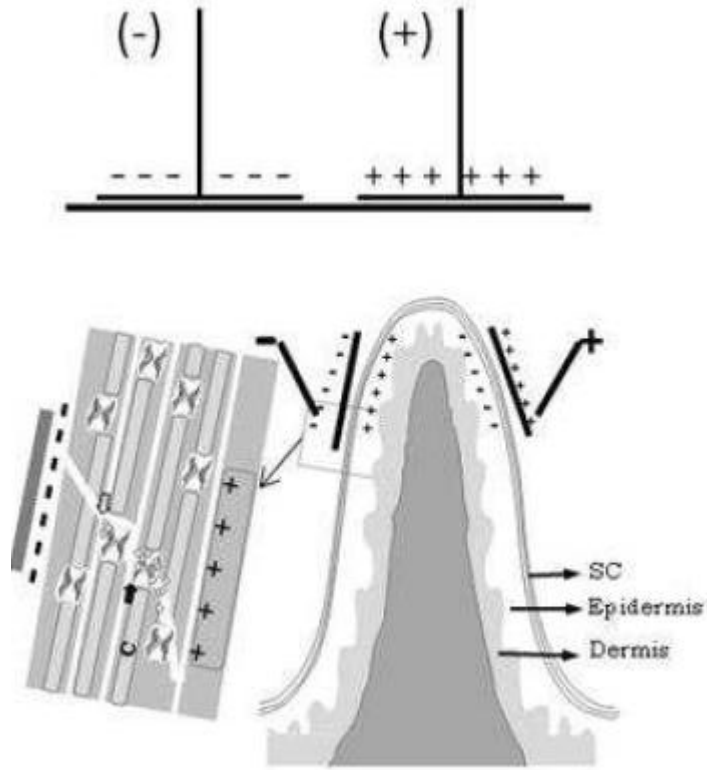


Figura 6. Esquema que muestra la piel y el tejido subcutáneo sujetado por un arreglo de platos en paralelo. Durante la aplicación de la pulsación la carga a través del estrato córneo

II. ABSORCIÓN TRANSDÉRMICA DE LOS FÁRMACOS

II. ABSORCIÓN TRANSDÉRMICA DE LOS FÁRMACOS

2. 1 BASES TÉORICAS

Para que ocurra la permeación cutánea de un fármaco este debe absorberse primero en el estrato córneo, luego debe difundir a través de la epidermis viable para poder acceder finalmente a circulación sistémica, por ser los capilares sanguíneos relativamente permeables y la circulación sistémica relativamente rápida, para la mayoría de las sustancias la etapa limitante del proceso es la difusión a través de la epidermis

La velocidad y la magnitud de este transporte están gobernadas por la Ley de Fick, según la cual *la velocidad de difusión es directamente proporcional al coeficiente de difusión y al de partición del principio activo y a la solubilidad del mismo en el medio acuoso que rodea la membrana, siendo inversamente proporcional al grosor de la membrana a ser atravesada* (24).

Esto implica que la difusión de una sustancia en un área determinada es proporcional al gradiente de concentración que existe entre los 2 compartimientos en cuestión. Cuando se administra un fármaco a través de la piel utilizando sistemas de liberación transdérmicos existe una gran diferencia entre la concentración de éste en el preparado farmacéutico y en el organismo, y como el sistema busca llegar al equilibrio se produce un flujo de fármaco hacia el interior del cuerpo. Este flujo también está influenciado por otros parámetros dependientes del fármaco como el peso molecular (a mayor peso molecular menor difusión) y el coeficiente de partición (que nos permite conocer la afinidad de una sustancia por el tejido epidérmico) (5).

La difusión pasiva de un no electrolito en ausencia de un flujo estacionario se expresa mediante la primera ley de difusión Fick como:

$$J = - D \, dC/dx$$

Donde J es el flujo, D es el coeficiente de difusión y dC/dx es el gradiente de concentración a través de una distancia x .

Esta primera ley de la difusión de Fick puede usarse para describir la permeación de fármacos a través de la piel. Sin embargo, el gradiente de concentración no puede medirse con facilidad, pero puede aproximarse mediante el producto del coeficiente de permeabilidad (P_s) y la diferencia de concentración a través de la piel (C_s) (24).

La aplicación de la ley de Fick al análisis de la curva de disposición de fármaco tras la administración epicutánea, permite determinar los parámetros que reflejan la penetración como, flujo de fármaco (J) y coeficiente de penetrabilidad (25).

La penetración de una molécula a través de las estructuras de la piel genera un gradiente de concentración alcanzando un flujo de régimen estacionario que se puede describir con la siguiente fórmula:

$$\text{Flujo } (J_s)(\text{ig/cm/h}) = (Dq/Dt)x (1/A)$$

Donde Dq es la cantidad de fármaco que atraviesa la piel, Dt es el tiempo, siendo la relación Dq/Dt representativa del flujo del fármaco en estado estacionario expresado en ig/h , y A el área de aplicación.

El flujo de un fármaco está estrechamente relacionado con el coeficiente de penetrabilidad que relaciona el flujo del soluto con el gradiente de concentración a través de la membrana o piel.

Coeficiente de penetrabilidad (K_p) = J_s / dosis aplicada.

El flujo máximo (J_{max}) puede ser medido experimentalmente como el flujo desde una solución saturada a partir de k_p multiplicado por la solubilidad del fármaco en la fase donante y representa una estimación de la cantidad máxima de fármaco que puede atravesar un área definida por unidad de tiempo (26).

El desarrollo de modelos matemáticos para describir y estimar la permeabilidad de la piel es un área de crecimiento constante, especialmente para predecir la penetrabilidad de sustancias hidrofóbicas a través del estrato córneo (27). Estos modelos pueden ser categorizados de acuerdo a:

- (1) la relación de penetrabilidad/estructura cuantitativa
- (2) expresiones basadas en mecanismos de difusión
- (3) combinación de ambos.

2.2 RUTAS DE ACCESO TRANSDÉRMICO DE FÁRMACOS

La vía de administración epicutánea provee una alternativa de administración muy importante para aquellos fármacos potencialmente tóxicos cuando son administrados por otras vías, para terapias prolongadas y terapias de reemplazo. Existen tres formas de administrar fármacos a través de la piel:

- (i) Sistemas de administración transdermal (parches)
- (ii) Fármacos aplicados como spot-on y pour-on

El método pour-on implica una aplicación tópica de una cantidad determinada de fármaco en una parte limitada de la superficie corporal, siendo en la mayoría de los casos, en forma lineal sobre la piel de la región dorsal. De esta manera se logra la distribución del fármaco en la piel, con el fin de que llegue a todas las regiones corporales en cantidades suficientes para producir el efecto deseado.

El método spot-on consiste en que el producto es aplicado en un punto específico con una pistola dosificadora sobre la piel desde cierta distancia, o con un aplicador dosificador. El producto lleva un colorante, generalmente azul, que marca al paciente tratado (28).

- (iii) Aplicación epicutánea de fármacos a través de cremas y geles.

La penetración de fármacos a través de la piel depende de varios factores (relativos al individuo, al fármaco y a las formulaciones) que pueden modificar la eficacia de un tratamiento.

La liberación del principio activo desde la formulación aplicada en la superficie de la piel y su transporte hacia la circulación sistémica o su concentración local es un proceso que incluye diversos pasos:

- (a) disolución del principio activo y liberación desde la formulación
- (b) partición desde la formulación hacia la capa más externa de la piel, es decir el estrato córneo
- (c) difusión dentro del estrato córneo
- (d) partición desde el estrato córneo hacia la dermis
- (e) difusión hacia capilares sanguíneos y/o penetración a tejidos subyacentes (29).

Posteriormente a la administración epicutánea de las formulaciones/sistemas de liberación de fármacos estos pueden concentrarse localmente y/o penetrar en el torrente sanguíneo (Fig. 7) así como penetrar la piel por diferentes vías (30):

- (a) intercelular, es la más común
- (b) transcelular
- (c) transfolicular,
- (d) vía glándula sebácea
- (e) vía glándula sudorípara
- (f) mixta

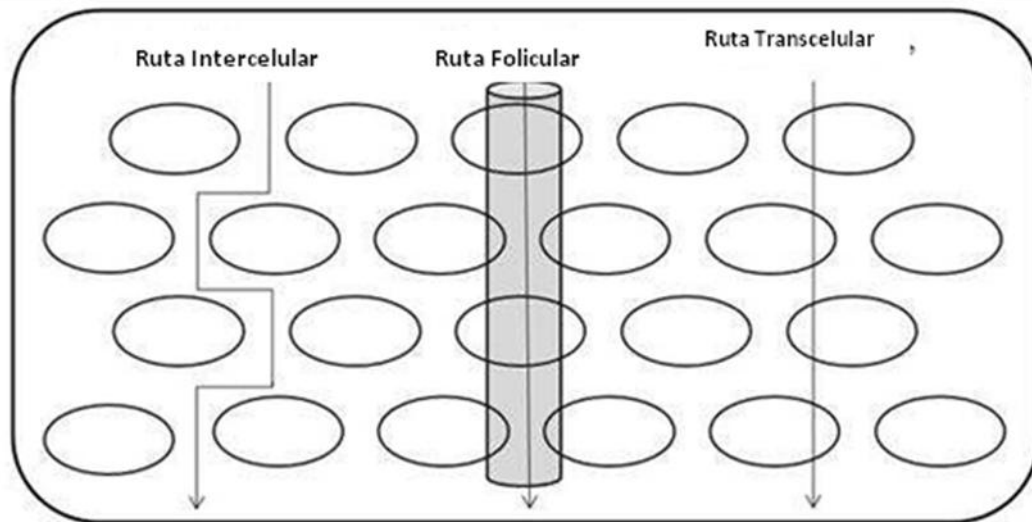


Figura 7. Rutas de penetración transdérmica de fármacos (33).

Se ha reportado que los fármacos no polares atraviesan el estrato córneo por la ruta intercelular, mientras que los polares lo hacen por la ruta transcelular (31). Las glándulas sebáceas son más permeables que los corneocitos, por lo tanto la unidad pilo sebácea (folículo piloso, pelo y glándula sebácea) constituye una vía alternativa que permite que los fármacos alcancen la dermis evadiendo la impermeabilidad del estrato córneo intacto (32).

VÍA DE ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA

La liberación transdermal, donde el sistema de liberación se adhiere externamente a la piel, es una de las rutas de administración de fármacos comercialmente más aceptadas (34). Mediante estos sistemas es posible obtener efectos sistémicos, evitando el efecto de primer paso por el metabolismo hepático (una de las principales desventajas de los sistemas de liberación orales). De modo que empleando esta vía se evita el paso del fármaco a través del tracto gastrointestinal, por tanto la irritación gástrica producida por algunos fármacos.

Sin embargo es importante considerar sus inconvenientes tales como la barrera que opone la piel al paso de sustancias externas, debido a esto, ésta vía no puede emplearse si se requiere un efecto terapéutico inmediato o si se necesitan altas concentraciones del fármaco en sangre. Además son sistemas costosos, ya que solo un pequeño porcentaje del fármaco incluido en la forma farmacéutica es absorbido por el organismo, además algunos de los sistemas que se emplean por esta vía requieren de una forma de dosificación específica asociada a un cierto grado de tecnología para su elaboración.

Otro inconveniente es la susceptibilidad que presentan algunos pacientes al uso de parches transdérmicos por ejemplo, observándose alergias en el sitio de aplicación. Para evitar o minimizar el problema en ciertos casos se recomienda ir cambiando el sitio de aplicación de estos sistemas (5).

Los sistemas de liberación transdérmica poseen dos dificultades:

- a) La cantidad de fármaco que llegará a circulación sistémica dependerá del grado de permeabilidad de la piel en el sitio de aplicación del sistema, por lo que es importante que el fabricante especifique en que zonas del cuerpo puede ser utilizado.
- b) Si estos sistemas se rompen al ser aplicados, se liberarán grandes cantidades del fármaco pudiendo provocarse daños si el fármaco incluido es muy potente o irritante.

Por esto también se hace necesario conocer los mecanismos de absorción percutánea y los métodos analíticos para cuantificar cantidad de fármaco que penetra (5).

Como se mencionaba la piel funciona como una barrera contra los virus y otros invasores potenciales, es relativamente impermeable y por tanto una vía de entrada pobre para terapias sistémicas. El paso a través de la piel es un proceso complejo, por lo que las sustancias capaces de atravesarla requieren cumplir una serie de características:

- (1) Deben tener un bajo peso molecular
- (2) Adecuada liposolubilidad del fármaco, que difunda con facilidad a través de la piel
- (3) El medicamento debe ser potente, es decir ejercer su acción terapéutica a dosis bajas
- (4) No irritante para la piel.

El proceso de absorción transdermal depende de muchos factores: como la concentración del fármaco, el tipo de sistema, el área superficial de contacto, la oclusión, la región anatómica de aplicación, las condiciones de la piel, edad, metabolismo en la piel, grado de irrigación sanguínea en la misma, etc.

Aunque las ventajas de la medicación transdermal son evidentes, existen ciertas limitaciones. Entre las cuales cabe destacar la inducción de ciertas reacciones de irritación o sensibilización de la piel. Éstas pueden deberse al fármaco o al material empleado en la fabricación del dispositivo transdermal, algunos ensayos realizados en parches empleados para administración transdermal han revelado que algunas de estas reacciones de la piel son producidas por el dispositivo transdermal y no por los fármacos empleados (35).

Un importante avance para evitar o minimizar los efectos adversos sobre la piel es el uso de biopolímeros compatibles y no antigénicos, tal es el caso de ciertos hidrogeles poliméricos. Los hidrogeles, desde que fueron introducidos en el campo de la Biomedicina, han demostrado tener muy buenas características de biocompatibilidad, debido a sus propiedades físicas, que los hacen semejantes a los tejidos vivos, especialmente por su alto contenido en agua, sus consistencia blanda y elástica y su baja tensión interfacial (36,37).

Los dispositivos transdermales, en líneas generales constan de los siguientes componentes: envase sellado o lámina soporte, reservorio para el fármaco, membrana controladora de la liberación (opcional), capa adhesiva que se pegue a la piel y una lámina protectora o de revestimiento.

Los sistemas transdermales necesitan poseer determinadas características para poder traspasar la epidermis, si se tiene en cuenta que la permeabilidad de la piel no es idéntica en toda su superficie y que varía de unos individuos a otros.

Con los nuevos sistemas se regula la penetración a través de la piel conjugando la permeabilidad y la regulación de liberación del principio activo. La absorción de fármacos a través de la piel es muy compleja y ocurre en varias etapas:

- (1) Liberación del principio activo y difusión hasta la superficie cutánea, condicionado por las características del principio activo
- (2) Penetración en la capa superficial y permeabilización en la epidermis
- (3) Incorporación a la microcirculación dérmica.

La liberación transdermal (Fig.8) ofrece una serie de ventajas y desventajas frente a la administración convencional, entre las que cabe destacar:

Ventajas:

1. Liberación controlada
2. Se evita el efecto metabólico de primer paso.
3. Duración de acción prolongada.
4. Aumento del intervalo de tiempo de actividad, reducción de dosis y por tanto, de reacciones adversas.
5. Comodidad de administración.
6. De gran interés en aquellos fármacos con una corta semivida de eliminación.
7. Posibilidad de eliminar el sistema de administración de forma instantánea.
8. Eliminación de la variabilidad asociada a la vía oral.

Desventajas:

1. Reducido número de fármacos que pueden atravesar la piel.
2. Reacciones adversas locales en la zona de administración.
3. Reducido número de fármacos con alta potencia

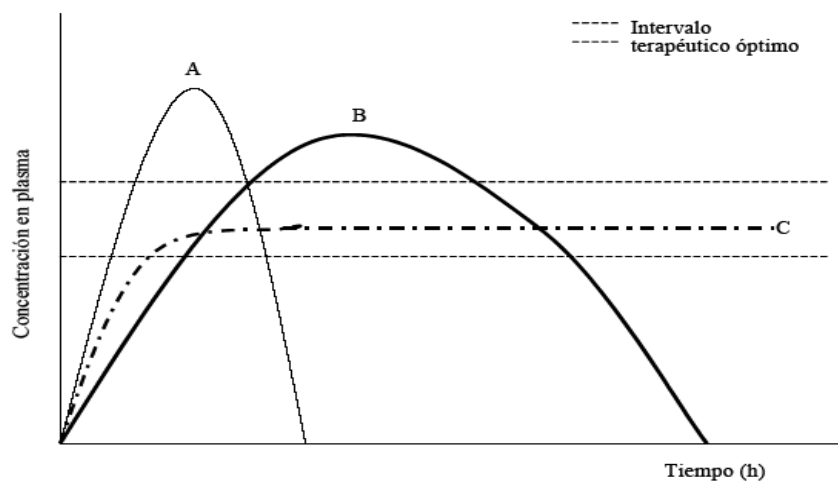


Figura 8 .Curvas típicas en plasma resultantes del empleo de: (A) pastilla convencional, (B) preparado de liberación lenta, (C) sistema de liberación transdermal (38).

2.3 FACTORES QUE LIMITAN LA PENETRACIÓN

El paso de los fármacos administrados en forma tópica a través de todas las estructuras que conforman la piel es imprescindible si se pretende alcanzar concentraciones efectivas a nivel local o sistémico. Sin embargo, este es un objetivo difícil de lograr, dado que este paso (penetración) es muy variable, lo cual se refleja en las diferencias significativas en la concentración alcanzada en el sitio de acción. Los factores que determinan la penetración del fármaco a través de la piel pueden ser divididos de acuerdo a su determinante primario en: a) dependientes del paciente, b) dependientes del principio activo y c) dependientes de la formulación.

2.3.1 FACTORES DEPENDIENTES DEL PACIENTE

Existen diferentes estructuras que actúan como barrera para la penetración del fármaco: (i) la capa epicutánea (un manto ácido y una capa acuosa), (ii) la capa electrolítica subcórnea, (iii) la epidermis (iv) la unión dermoepidérmica (v) la dermis y (vi) la unidad pilosebácea (folículo piloso, pelo y glándula sebácea) (32).

La penetrabilidad del fármaco a través del estrato córneo varía dependiendo de la especie y edad del animal. El pH de la piel (determinante fundamental del estado de ionización de las moléculas), la temperatura medioambiental (como determinante del grado de hidratación cutánea) (39) y el estado de hidratación general son factores que pueden alterar la magnitud del proceso de penetración del fármaco aplicado epicutáneamente (26).

Considerando que el estrato córneo posee carga negativa, (32) las moléculas catiónicas no penetrarán fácilmente el estrato córneo.

Los pelos alteran la penetración del fármaco actuando como barrera física, limitando el contacto necesario entre el fármaco y el epitelio para la posterior penetración. Las consecuencias de la alta densidad pilosa sobre la penetración de fármacos son discutidas. Algunos autores consideran que existe una correlación negativa entre la densidad pilosa y la penetración (40), mientras que otros consideran que la alta densidad de folículos pilosos mejora la penetración de los fármacos debido a que las invaginaciones del epitelio en los folículos pilosos incrementarían el área total de contacto formulación/piel (41).

Otro factor importante a considerar es el metabolismo epidermal del fármaco (40). La epidermis tiene la capacidad de metabolizar fármacos antes de que sean absorbidas a la circulación sistémica (efecto de 1º paso cutáneo), habiendo sido reportada la presencia de enzimas que catalizan reacciones metabólicas tanto de fase 1 como de fase 2 (26). Esta actividad metabólica de la piel podría ser de utilidad para activar pro-fármacos los cuales pueden ser formulados para maximizar la penetración transdermal (42).

Las secreciones de las glándulas sebáceas y sudoríparas constituyen otra importante variable en el pasaje de fármacos a través de la piel.

La zona anatómica de aplicación es otro factor importante en la penetración transepitelial de los fármacos (40). En este contexto, existen importantes diferencias en el grosor y contenido lipídico de la piel entre las diversas zonas anatómicas con características de zonas de aplicación.

Un factor relacionado es el flujo sanguíneo local, cuya modificación determina cambios en los patrones de penetración de fármacos (43). Estudios de flujo sanguíneo local utilizando eco-doplers han permitido demostrar diferencias intra-animal e inter-animal (44).

2.3.2 FACTORES INHERENTES A LOS FÁRMACOS

En forma general, la capacidad de los fármacos de difundir a través de las membranas biológicas depende de:

- a) peso molecular (< 400),
- b) tamaño molecular
- c) grado de ionización
- d) solubilidad.

Con respecto a las propiedades fisicoquímicas de los fármacos, la capacidad intrínseca de penetración de las moléculas está determinada por el adecuado equilibrio entre la liposolubilidad e hidrosolubilidad. Siendo el coeficiente de partición lípido/agua uno de los factores determinantes de la magnitud de las concentraciones iniciales de fármaco en la capa más superficial del estrato córneo.

Otro factor relacionado con el principio activo es su grado de ionización (32). En este punto es importante tener en cuenta que el grado de ionización del principio activo para aplicaciones epicutáneas estará determinado no sólo por el pH de la piel, sino también por el pH de la formulación.

Como se mencionara previamente, la dermis posee un alto contenido de agua y se comporta como barrera para la penetración de fármacos, fundamentalmente para aquellos componentes lipofílicos con un coeficiente de partición lípido/agua mayor a 600 (45). Se ha estimado que el estrato córneo provee una resistencia difusional de la penetración 1000 veces superior para los fármacos hidrosolubles comparado con aquella para fármacos liposolubles (40).

Propiedades fisico-químicas de los fármacos.

Es importante evaluar cuidadosamente las propiedades fisico-químicas de un fármaco que es un potencial candidato para su empleo en sistemas de liberación controlada. Esta evaluación se basa en las características del sistema de liberación y en la fisiología y/o anatomía de la zona de aplicación en el organismo (46).

El material debe presentar especificaciones estrictas respecto a los siguientes aspectos: propiedades organolépticas (color, sabor, olor); pureza (TLC, HPLC, IR); densidad (densidad verdadera, densidad de empaquetamiento, entre otras); forma cristalina (si la tiene); tamaño/distribución de partículas (tamaño medio, homogeneidad, factor de forma, área superficial).

SOLUBILIDAD. En general, para que un fármaco sea absorbido debe presentarse en forma de disolución acuosa en el lugar de absorción. Esto es así en todos los mecanismos de absorción excepto en la pinocitosis donde la absorción es en forma de gotas o pequeñas partículas. En particular, para los sistemas de liberación orales es necesario determinar no sólo la solubilidad del fármaco en agua y otros disolventes sino también a varios pHs. (46).

La velocidad de disolución, dQ/dt , se suele determinar introduciendo un comprimido del fármaco en agua a 37 °C bajo agitación a 50 rpm. El proceso de disolución se describe por la ecuación (1):

$$\frac{dQ}{dt} = kS_A (C_s - C_t)$$

Donde k es una constante que depende del material, de la temperatura, y de la velocidad de agitación; S_A es el área superficial; C_s es la solubilidad del fármaco; y C_t es la concentración del fármaco a tiempo t . Si C_s es mucho mayor que C_t entonces la ecuación (1) se simplifica a la siguiente ecuación:

$$\frac{dQ}{dt} = kS_A C_s$$

Representando Q/SA frente a t (Ecuación (3)):

$$\frac{Q}{S_A} = kC_s t$$

La pendiente representa la velocidad intrínseca de disolución kC_s , expresada en mg/cm^2 , si este valor es mayor que $1 \text{ mg}/\text{cm}^2$, entonces no suele haber problemas de absorción del fármaco porque es lo suficientemente soluble como para ser absorbido por difusión.

Sin embargo, si este valor es menor que $0,1 \text{ mg}/\text{cm}^2$, habrá problemas de absorción y de biocompatibilidad (47).

PESO MOLECULAR. Probablemente, más del 95% de los fármacos, son transportados a través de membranas, por difusión. En este caso, el fármaco debe presentarse en forma de disolución acuosa verdadera fuera de la membrana, luego debe poderse disolver en el material de la membrana durante el proceso de transporte a través de ella, y después de ser expulsado debe ser soluble en el medio acuoso del otro lado de la membrana.

La velocidad de flujo depende de la constante de difusión del fármaco en el material D, del área superficial de la membrana A, del coeficiente de partición del fármaco entre la disolución acuosa y la membrana k, del espesor de la membrana h, y de las concentraciones fuera y dentro de la membrana C_o y C_i , como se ve en la siguiente ecuación:

$$Q = D \left(\frac{A}{h} \right) k (C_o - C_i)$$

La constante de difusión D disminuye cuando aumenta el peso molecular. La mayoría de los fármacos presentan pesos moleculares entre 200 y 500 g/mol, aunque existen fármacos con pesos moleculares mayores, como la digoxina (781 g/mol) y la anfotericina B (924 g/mol). La absorción está limitada para fármacos con pesos moleculares de 1.000 o superiores.

El peso molecular también es importante en la distribución del fármaco en el organismo, ya que debe atravesar poros que no son del mismo tamaño en todas las partes del cuerpo. Los poros más grandes se encuentran en los capilares hepáticos.

pka. Muchos fármacos son electrolitos débiles, lo que significa que se ionizan a ciertos pHs. El porcentaje de ionización depende del valor del pKa, y puede ser descrito por la ecuación de Henderson-Hasselbalch, como se muestra en las ecuaciones (5) y (6):

$$\% \text{ ionización (compuesto ácido)} = \frac{100}{1 + \text{anti log}(\text{pK}_a - \text{pH})}$$

$$\% \text{ ionización (compuesto básico)} = \frac{100}{1 + \text{anti log}(\text{pH} - \text{pK}_a)}$$

Un cambio significativo en el grado de ionización con consecuencias clínicas, puede considerarse cualquier cambio en el pH para fármacos ácidos con pKa entre 3 y 7,5 y para formas básicas con pKa entre 7 y 11.

PUNTO ISOELÉCTRICO. Los compuestos anfóteros, como los péptidos, han adquirido gran interés en la administración peroral. Los péptidos y proteínas tienen un punto isoeléctrico que se define como el pH o la concentración de protones a la cual la concentración zwitteriónica es máxima y el movimiento de las moléculas es mínimo. En estos casos, el pH en el punto de absorción debe estar alejado una o dos unidades del punto isoeléctrico (47).

COEFICIENTE DE PARTICIÓN APARENTE (CPA). El coeficiente de partición aparente, también llamado coeficiente de partición lípido/agua, es la relación de las concentraciones de fármaco en dos fases parcialmente inmiscibles.

Para calcularlo, se emplea un tampón a pH 7,4 (pH de la sangre) como fase acuosa y n-octanol como fase oleosa, cada una de ellas saturada con la otra. El fármaco se disuelve en una de las fases y entonces se añade la otra y se agita durante un mínimo de 3 horas, normalmente a 37 °C

$$CPA = \frac{(C_{\text{antes}} - C_{\text{despues}}) V_a}{C_{\text{despues}} V_l}$$

V_a y V_l son los volúmenes de la fase acuosa y de la fase oleosa respectivamente.

Los fármacos que se absorben por difusión deben presentar un CPA mínimo.

Los fármacos con CPA alto penetran más en los materiales grasos, por ejemplo, en tejido cerebral y en los tejidos grasos del organismo (46).

2.3.3 FACTORES DEPENDIENTES DE LAS FORMULACIONES

La más simple de las formulaciones para la administración transdérmica de fármacos consiste en un vehículo semisólido (ungüentos o cremas), conteniendo una suspensión del fármaco homogéneamente distribuida.

La primera etapa del proceso de penetración está representada por la liberación del fármaco, la cual es controlada por la formulación, siendo éste el primer paso limitante del proceso (30). Una vez liberado desde la formulación el principio activo difunde hasta alcanzar la interfase formulación-piel, sitio en el que alcanza un equilibrio (estado estacionario).

La penetración de un principio activo desde la formulación aplicada epicutáneamente hasta la circulación sistémica o tejidos locales involucra múltiples procesos:

- (a) disolución y liberación dentro y desde la formulación
- (b) partición dentro del estrato córneo
- (c) difusión a través del estrato córneo
- (d) partición desde el estrato córneo hacia la fase acuosa de la epidermis
- (e) difusión a través de la dermis
- (f) acceso a la circulación sistémica y/o tejidos circundantes (48).

Las propiedades relacionadas a los fármacos que influyen su flujo a través de la piel son, de acuerdo a la ley de Fick, el coeficiente de difusión y de partición del principio activo y la solubilidad del mismo en el medio acuoso que rodea la zona de paso.

El gradiente de concentración es influenciado por la partición del fármaco dentro de la piel y desde la piel hacia los tejidos subyacentes (49). El grado de partición dentro de la piel puede ser estimado a partir del coeficiente de partición octanol-agua (49), siendo la curva de correlación coeficiente de partición octanol-agua ($\log P$) vs ritmo de penetración una parábola, lo que define una relación asintótica (50).

Compuestos con bajo coeficiente de partición ($\log P$) poseen baja permeabilidad debido a su pobre capacidad de partición dentro del dominio lipídico del estrato córneo. Compuestos con un alto $\log P$ también mostrarán baja permeabilidad, en este caso debido a su escasa partición fuera del estrato córneo. La máxima penetración se observa en compuestos con $\log P$ en el rango de 1 a 3 (50).

Otra característica del principio activo que determina la partición del fármaco dentro de la piel y en el vehículo es la actividad termodinámica en la formulación. El grado de actividad termodinámica puede ser mejorado incrementando la concentración del fármaco manipulando la formulación para reducir la solubilidad del fármaco en el vehículo. La solubilidad del fármaco en el estrato córneo puede ser mejorada incorporando sustancias denominadas “mejoradoras” de la penetración, entre ellas DMSO y propilenglicol (51).

La estructura química del fármaco también influye la difusibilidad (52). Esto sería consecuencia de la interacción de los grupos polares de la molécula con el dominio lipídico del estrato córneo.

La temperatura corporal es otro factor a considerar ya que puede alterar la cinética molecular y el emplazamiento espacial del principio activo (39).

Pautas para el desarrollo de una formulación

El desarrollo de una formulación es un ejercicio complejo en el cual se deben tener en cuenta tanto los efectos clínicos del principio activo (su farmacología) así como, los factores biofarmacéuticos del sistema de liberación, entre ellos:

- (i) solubilidad del fármaco en el vehículo
- (ii) interacción del fármaco con los excipientes
- (iii) elección de los mejoradores químicos de la penetración
- (iv) toxicidad de los excipientes
- (v) tiempo de acción de los mejoradores de la penetración (53).

A pesar de que la vía de administración epicutánea no ha sido extensamente explotada en medicina veterinaria, sus ventajas potenciales respecto a otras vías de administración son innumerables, entre ellas:

- (i) disminución de las dosis
- (ii) evita efecto de primer paso
- (iii) posibilidad de administrar fármacos sin abrasión de epitelio y, en algunos casos
- (iv) fácil manejo de la forma farmacéutica aplicada (posibilidad de controlarla y/o removerla).

La administración epicutánea de fármacos representa una vía de administración alternativa más práctica, segura y menos invasiva que las vías convencionales de administración basadas en el uso de agujas. Se pretende la posibilidad de tratamientos continuos con un mayor espectro de fármacos, fundamentalmente con aquellos que requieran de administración endovenosa, intervalos interdosis cortos, así como para fármacos con baja biodisponibilidad tras la administración oral o que posean efectos tóxicos cuando son administradas por otras vías.

La siguiente tabla muestra algunas de las preparaciones comunes para aplicación cutánea

Tabla 6. Preparaciones farmacéuticas y cosméticas para aplicación cutánea (54).

APLICACIONES	EJEMPLOS
Superficie de la piel	Jabones, filtros solares, repelentes de insectos, formadores de films, antifungicos
Capa Córnea	Hidratantes, queratolíticos, antibacteriales
Glándulas sudoríparas	Antitranspirantes
Células vivas de la piel	Corticoides, anestésicos locales, retinoides, despigmentantes
Células basales de la Epidermis	Agentes citotóxicos (metotrexato)
Circulación sanguínea	Parches y geles transdérmicos de acción sistémica
Tejidos musculares locales	Antiinflamatorios

III. MÉTODOS PARA EL ESTUDIO DE LA PENETRACIÓN TRANSEPITELIAL DE FÁRMACOS

III. MÉTODOS PARA EL ESTUDIO DE LA PENETRACIÓN TRANSEPITELIAL DE FÁRMACOS

Los métodos *in vitro* aplicados al estudio de la penetración de fármacos representan las técnicas más difundidas. En estos métodos se utilizan tanto piel animal o humana como membranas artificiales (piel artificial).

3.1 METODOS *IN-VITRO*

Celdas de Difusión

La celda de difusión de Franz representa, desde su desarrollo en 1975, el principal método utilizado para evaluar la penetración transepitelial de fármacos (55, 56, 57, 58). La celda de difusión es un sistema compuesto por dos cámaras, una donante y otra aceptora, separadas por piel o membrana artificial. (Figura 9). El estrato córneo es orientado hacia la cámara donante a través de la cual se aplican los fármacos a estudiar. Las celdas de difusión son mantenidas a 32-35 °C (39).

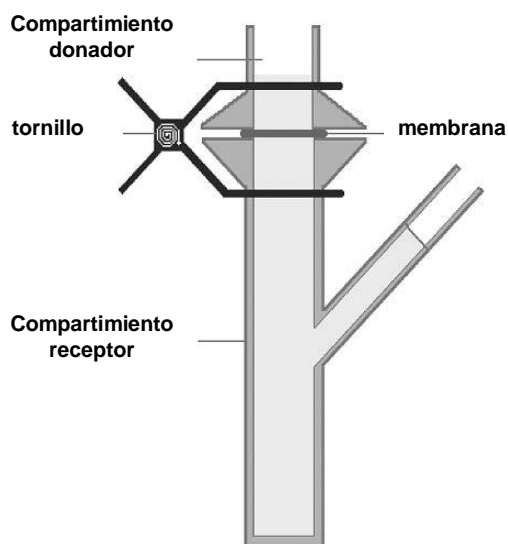


Figura 9. Esquema de las partes de una celda de difusión tipo Franz (107).

Aún cuando este método es considerado un sistema confiable de selección para evaluar la bioequivalencia/ biodisponibilidad (59) tiene varias limitaciones, por un lado, no contiene como variable de análisis a las rutas de eliminación de fármacos (sistema vascular y metabolismo en la dermis) y, por otro, no pondera las modificaciones fisiológicas de la piel (contenido de agua, pH cutáneo, descamación del estrato córneo, temperatura) (60). Es importante remarcar que la piel una vez montada en celdas de Franz (Figura 10) o sistemas similares permanece con un grado constante de hidratación durante todo el período del ensayo. Este factor podría afectar la bicapa lipídica (41) o inducir la formación de vesículas extracelulares en el estrato (42).

Con sus desventajas este modelo *in vitro* es un buen indicador cualitativo de la penetración cutánea de fármacos (43).



Figura 10. Equipo de celdas de difusión tipo Franz (61).

3.2 METODOS IN VIVO

Estudios en animales

La penetración de fármacos a través de las estructuras de la piel ha sido estudiada utilizando animales vivos. En estos casos, la capacidad de penetración de formulaciones aplicadas localmente es estimada evaluando las concentraciones alcanzadas en la circulación sistémica u orina (45).

Se ha demostrado, utilizando hidrocortisona marcada (14C), que existen diferencias en la penetración de fármacos relacionadas al sitio de aplicación. Asimismo, se ha reportado que ciertos fármacos podrían quedar secuestradas en las estructuras de la piel (47) o concentrarse localmente sin penetrar en la circulación sistémica (45).

Estos factores indicarían que las concentraciones de un fármaco mensuradas en la circulación sistémica no son reflejo de la penetración absoluta de éste.

Por esta razón las concentraciones sistémicas de un fármaco no son útiles para predecir concentraciones en los tejidos o en el líquido sinovial tras la administración tópica (62).

Biopsia Cutánea

La biopsia cutánea representa un método que permite evaluar la cantidad de fármaco que penetra a través de las diferentes estructuras de la piel en función del tiempo. Sin embargo, este método, sólo permitiría evaluar la penetración al tiempo de la toma de muestra.

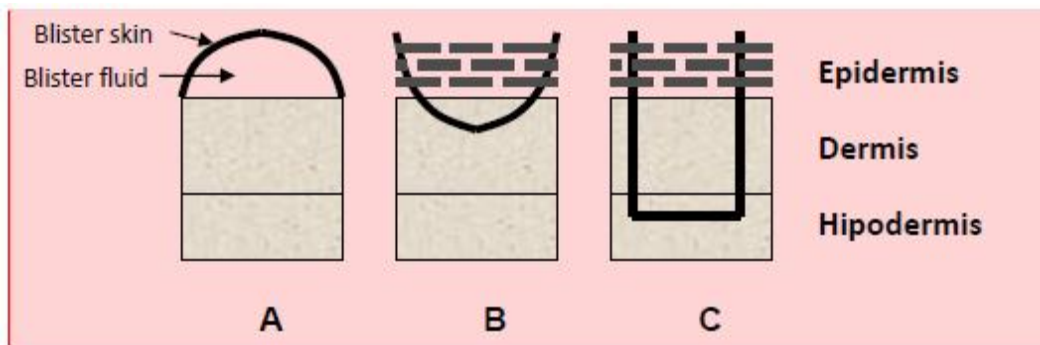


Figura 11. Esquema de la técnica de muestreo de piel (A) Succión por blíster, (B) Biopsia por raspado, (C) Biopsia de piel.

La biopsia por raspado se realiza con una hoja de bisturí pequeño, es un método ideal de diagnóstico para el cáncer de células basales.

La biopsia de piel se realiza con navaja de forma redonda que varía en tamaño desde 1 mm a 8 mm. Algunas biopsias tienen forma de elipse, el tamaño común del punzón para el diagnóstico de enfermedad cutánea inflamatoria es de 3,5 o 4 mm de perforación. Idealmente, la biopsia por punción incluye todo el espesor de la piel y la grasa subcutánea en el diagnóstico de la enfermedad de la piel.

Extracción del estrato córneo mediante tape stripping

La extracción del estrato córneo mediante una cinta adhesiva es otra de las técnicas que han sido utilizadas para evaluar la progresión de un fármaco a través del estrato córneo (48), así como para evaluar la influencia de este pasaje en el proceso de penetración de fármacos.



Figura 12. Extracción de estrato córneo mediante la técnica de tape stripping (127).

Microdiálisis

La técnica de microdiálisis es otro método importante utilizado para evaluar la penetración de fármacos tras la aplicación epicutánea (59). Esta técnica, poco invasiva, permite evaluar la penetrabilidad de fármacos aplicados localmente

Las principales limitaciones de esta técnica son reflejo de la interacción entre el fármaco en estudio (basado en sus propiedades fisicoquímicas-relación hidrosolubilidad/ liposolubilidad, pka, etc.) y las características del líquido de diálisis (49) así como la relación entre el tamaño molecular del fármaco y el tamaño del poro de la membrana de diálisis. La mayoría de las membranas de microdiálisis solo son permeables a componentes hidrofílicos de bajo peso molecular (49).

El análisis comparativo de la penetración transepitelial evaluada usando microdiálisis y la celda de difusión tipo Franz, demuestran una buena correlación cualitativa y cuantitativa entre la penetración *in vitro* y los coeficientes de absorción *in vivo* (59).

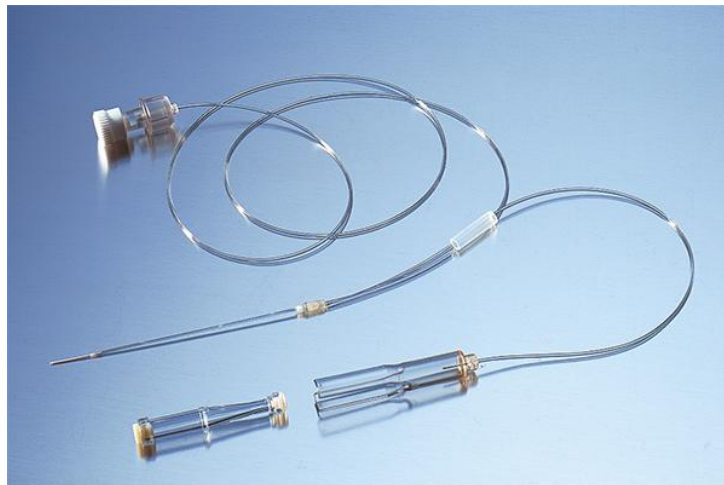


Figura 1

13. Equipo de microdialisis

**IV. TECNOLOGÍAS ACTUALES
PARA INCREMENTAR EL PASO DE
FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL**

IV. TECNOLOGÍAS ACTUALES PARA INCREMENTAR EL PASO DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL

4.1 MEJORAMIENTO DE LA PENETRACIÓN

Existen fármacos no apropiados para la aplicación epicutánea. Esto puede ser a causa de:

- (i) Características fisicoquímicas (excesivo tamaño, excesiva carga eléctrica, insuficiente solubilidad, tendencia a causar irritación directa, etc.)
- (ii) Características cinético / dinámicas (biotransformación cutánea, alta extracción en sangre o baja potencia) (63).

En los últimos años se han desarrollado diversas estrategias tecnológicas con el objetivo de mejorar la capacidad de penetración de los fármacos. Estas estrategias pueden ser de tipo químico (mejoradores de la penetración) (64) o físico (iontoforesis, ultrasonido y microagujas) (65).

Aún cuando existe un gran número de sustancias con características apropiadas para mejorar la penetración de fármacos, son muy pocas las que inducen un mejoramiento significativo in vivo de la penetración transepitelial, el cual se refleje en las concentraciones sistémicas y/o locales del principio activo (66). Otra característica que reduce el número de mejoradores aptos para uso in vivo es la irritación cutánea que estos compuestos provocan a las dosis efectivas para incrementar la difusibilidad de fármacos a través del estrato córneo (67,68)

El mecanismo exacto por el cual las sustancias promotoras aumentan la penetración de fármacos a través de la piel no ha sido dilucidado en forma completa y, es probable que tengan múltiples efectos una vez que acceden al estrato córneo (53). Se han propuesto un gran número de acciones para estos compuestos que explican el incremento en la permeabilidad observada *in vivo*. Estas acciones pueden ser divididas en dos grupos:

(a) Acciones que incrementan la permeabilidad de la piel (41, 64, 69, 70):

- Desnaturalización o modificación de la queratina intracelular causando un aumento de la hidratación (incremento del coeficiente de difusión del fármaco en el estrato córneo).
- Alteración de los desmosomas que mantienen la cohesión entre los corneocitos (desordenamiento de la estructura del estrato córneo con un incremento de la difusibilidad).
- Modificación del dominio lipídico con reducción de la resistencia de la barrera epidérmica.
- En la dermis viable, estimulación/modificación del metabolismo celular con la consecuente hiperplasia.
- Inhibición del metabolismo celular con disminución del espesor de la piel.

(b) Acciones que modifican las propiedades fisicoquímicas de los fármacos:

- Incremento del coeficiente de partición del fármaco en la piel por aumentar la actividad termodinámica del mismo en el vehículo (53).

La combinación de sustancias mejoradoras de la permeabilidad (SCOPE: synergic combination of permeability enhancers) puede considerarse como una alternativa en el desarrollo de las formulaciones. Ha sido reportado que la combinación de dos o más mejoradores químicos de la penetración conduce a un sinergismo de suma (53). Inclusive un grado mayor de mejoramiento en la penetración de fármaco tras la aplicación epicutánea podría lograrse combinando métodos físicos y químicos (65).

4.2 CARACTERÍSTICAS DEL PROMOTOR IDEAL DE LA PENETRACIÓN

- Atóxico, no irritante e hipoalérgico.
- Rápida acción.
- Con un tipo y duración de actividad predecible y reproducible.
- Sin actividad farmacológica sistémica.
- Con efecto reversible.
- Compatible con excipientes y principio activo.

El desarrollo de liposomas y tranferosomas ha permitido mejorar la eficacia de los fármacos aplicados por la vía epicutánea. Los liposomas son estructuras concéntricas biocompatibles formadas por bicapas lipídicas que rodean una fase acuosa. Los liposomas transportan tanto fármacos hidrofóbicos como hidrofílicos, pudiendo entregar los principios activos intracelularmente (71,72).

El desarrollo de inmunoliposomas ha permitido maximizar la utilidad de este tipo de formulaciones evitando la acumulación en células del sistema retículo endotelial, éste desarrollo es importante ya que posibilitará tratamientos más dirigidos e, inclusive inmunización segura y efectiva de animales a través de la aplicación epicutánea de antígenos (48, 73).

Los avances tradicionales para incrementar el transporte transdérmico de fármacos ha involucrado promotores químicos sintéticos como surfactantes, ácidos grasos y disolventes, y promotores físicos como campos eléctricos, ultrasonido, calor y microagujas .

Investigaciones recientes han considerado el uso de **promotores bioquímicos** como el péptido sintético 11-aminoácido por selección de fago exposición, un heptámero de poliarginina covalentemente unido a un fármaco usando un profármaco de acercamiento, y un péptido natural pre-formador de poros llamado magainina (74).

La Magainina es un péptido de 23 residuos (con una secuencia de GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS) que es naturalmente producida en la piel de ranas africanas y muestra propiedades antimicrobianas de amplio espectro. Tiene una carga neta de +4 y se une negativamente cargada a membranas lipídicas por interacción electrostática. Su estructura secundaria no está bien definida en un sistema acuoso neutro, sin embargo forma una estructura α -hélice cuando se absorbe en membranas cargadas negativamente como la superficie bacteriana.

La Magainina puede ensamblarse por si misma dentro de poros transmembranales debilitando la membrana celular originando lisis especialmente en células bacterianas. El tamaño de los poros formado por magainina en la bicapa lipídica es aproximadamente de 1nm de diámetro (75).

4.3 MÉTODOS QUÍMICOS PARA MEJORAR LA PENETRACIÓN TRANSEPITELIAL DE FÁRMACOS

Agentes Promotores de la penetración transdérmica

Entre las entidades químicas que han sido estudiadas como promotores de absorción y que han sido efectivas, se tienen aquellas que cuentan con una cadena alquílica larga (12-18 carbonos) y una cabeza polar. Esta cabeza polar interactúa con los grupos polares de los lípidos que conforman la barrera de permeabilidad de la piel, mientras que la cadena alquílica se inserta entre las cadenas de la bicapa, rompiendo su orden, lo que ocasiona mayor fluidización entre ellos, y un aumento en la difusión del activo a través de la membrana.

El ácido oléico es uno de estos casos, el cual posee un doble enlace cis, que se inserta dentro de los lípidos modificando su empaquetamiento y consecuentemente incrementando la fluidez.

También existen promotores de baja polaridad (pirrolidonas, dimetilformamidas), de polaridad media (dimetilsulfóxido, DMSO) y de alta polaridad (propilenglicol, PG) los cuales tienen diferentes mecanismos de acción (76).

Los mecanismos de acción de los agentes promotores o moduladores de la penetración se resumen en los siguientes y se muestran en la tabla 7:

1) Incremento de la fluidez de las bicapas lipídicas de la barrera de permeabilidad de la piel

El transporte intercelular es la ruta más probable para el paso de sustancias a través de la piel. La disrupción del paquete lipídico intercelular, ya sea por la interacción del promotor con los lípidos o con componentes protéicos, incrementa la permeabilidad cutánea. Mediante diversas técnicas biofísicas, se ha demostrado que existe una correlación entre la fluidez lipídica y la permeabilidad. Este incremento de la fluidez se debe a una disminución en la temperatura de la transición vítrea que se genera cuando los lípidos sufren una transición de una fase gel (rígida) a una fase líquida cristalina más fluida. Un incremento reversible de la fluidez de los lípidos intercelulares puede considerarse como un efecto no tóxico (77).

2) Extracción de lípidos intercelulares

Algunos promotores pueden incrementar la permeabilidad de la piel al extraer los lípidos intercelulares de la barrera de permeabilidad, sin embargo este efecto es drástico comparado con el anterior ya que las modificaciones en la barrera de permeabilidad dejan de ser reversibles. Esta extracción de lípidos permite incrementar la velocidad de permeación de sustancias polares y no polares (77).

- 3) *Interacción con componentes protéicos:* Otros promotores incrementan la permeabilidad de la piel al cambiar la conformación, desnaturalizar e incluso extraer las proteínas de la membrana (77).
- 4) *Alteración de la barrera enzimática:* Los inhibidores enzimáticos pueden también considerarse como promotores de absorción, si se considera que la capacidad metabólica de la piel puede actuar como una barrera enzimática (77).
- 5) *Incremento de la actividad termodinámica:* Se encuentra estrechamente relacionada con la composición del vehículo, la cual puede influir directamente en la solubilidad del penetrante. Una forma de aumentar el coeficiente de partición piel/formulación, consiste en el uso de sistemas saturados de fármacos, lo cual puede lograrse eligiendo adecuadamente los componentes de la formulación.
- 6) *Co-difusión del promotor y del soluto:* Se ha demostrado que ciertos promotores como el transcuto[®], PG, y DMSO, son capaces de difundir a través de la piel, arrastrando junto con él, al penetrante (77).
- 7) *Incremento de la hidratación del estrato córneo:* Aunque no existen teorías firmes sobre cómo el agua afecta el transporte de una sustancia, parece ser que actúa por solvatación de las cabezas polares de los lípidos principalmente glicoesfingolípidos y ceramidas (77).

Tabla 7. Promotores de penetración cutánea(Datos modificados de Ganem et al, 1998) (77).

AGENTE PROMOTOR	EJEMPLOS	MECANISMO DE ACCIÓN
A. Disolventes		
Agua		7
Alcoholes	Metanol, etanol	1
Alquilmetilsulfóxidos	Dimetilsulfóxido,dimetilformamida	2
Pirrolidonas	2-Pirrolidona, N-metil-2 pirrolidona	7
Azona [®] y derivados		1
Otros	Propilenglicol	6,3
B. Surfactantes		
Aniónicos	Dodecil sulfato de sodio	1,2 y 3
<i>Catiónicos</i>	<i>Bromuro de cetiltrimetilamonio</i>	1,2 y 3
<i>No iónicos</i>	<i>Tweens, brijs, poloxámeros</i>	1,2 y 3
<i>Ácidos y alcoholes grasos</i>	<i>Ácido oléico, ácido láurico</i>	1
<i>Sales biliares</i>	<i>Tioglicolato de calcio</i>	1,2 y 3
C. Otros		
<i>Urea</i>		7
<i>Terpenos y aceites esenciales</i>	<i>Mentol, limoneno</i>	1
<i>Ciclodextrinas</i>		5

4.4 MÉTODOS FÍSICOS PARA MEJORAR LA PENETRACIÓN TRANSEPITELIAL DE FÁRMACOS

Los métodos físicos que mejoran la penetración de fármacos a través de la piel son numerosos. Sin embargo, la mayoría se basa en la aplicación de corrientes y/o campos eléctricos (Tabla 8).

Básicamente, estas técnicas se aplican con el objetivo de:

- (a) promover la penetración de fármacos que normalmente no atraviesan la barrera cutánea (fármacos de alto peso molecular como pueden ser hormonas)

- (b) aumentar la penetración de aquellos fármacos que penetran en concentraciones subterapéuticas

- (c) reducir los períodos de latencia de aquellos productos aplicados tópicamente.

Tabla 8. Características de los promotores químicos y físicos de la penetración cutánea de fármacos (78).

MÉTODO	AUMENTA TRANSPORTE	NO CAUSA DOLOR O REACCIÓN	BAJO COSTO
Sustancias químicas	X	XX	XXX
Iontoforesis	XX	XXX	X
Permeabilización eléctrica	XX	XX	X
Ultrasonido	XX	XXX	X
Microagujas	XX	XXX	X
Inyección Jet	XXX	X	X
Permeabilización térmica	XX	XXX	X
Los métodos promotores son comparados en base a baja (x) moderada (xx) o alta (xxx) eficacia en su categoría.			

Microagujas: son agujas microscópicas capaces de crear orificios en el estrato córneo de la piel y permitir el pasaje de moléculas, pero sin generar dolor (78).

Inyección Jet: consiste en la inyección a alta presión/velocidad dentro de la piel de gotas de líquido o partículas sólidas conteniendo el fármaco (78).

Permeabilización térmica: representa la formación de canales acuosos dentro del estrato córneo de la piel, tras la aplicación de pulsos térmicos (78).

4.4.1. Radiofrecuencia

La radiofrecuencia genera un campo eléctrico que cambia de positivo a negativo produciendo calor. Este calentamiento profundo de la piel y del tejido celular subcutáneo desencadena una cascada de reacciones que permitirán un cambio en la piel, dicho calentamiento favorece el drenaje linfático, lo que permitirá disminuir los líquidos y toxinas en el que se encuentran rodeados los adipositos del tejido afectado. A su vez se producirá un aumento en la circulación de la zona que mejorará el metabolismo del tejido graso subcutáneo con el consiguiente cambio en el aspecto de la piel acompañante.

La radiofrecuencia provoca también la formación de nuevo colágeno tanto en la piel como en el tejido subcutáneo permitiendo que todo el tejido adquiera firmeza gracias a la reorganización de los septos fibrosos y al engrosamiento dérmico.

La disminución de volumen se justifica tanto por la reducción del edema, como por las modificaciones del tejido conectivo.

Es una nueva alternativa terapéutica aplicada a la celulitis y a la flaccidez corporal (79).

4.4.2 Sonoforesis (Ultrasonido)

El ultrasonido mejora la penetración transdermal de fármacos alterando la estructura del estrato córneo. El principal cambio estructural observado en la piel tras la aplicación de ondas de sonido de baja frecuencia es la aparición de cavidades (cavitación) (Fig. 14). Ha sido demostrado que la utilización de ondas de baja frecuencia (16- 20 kHz) mejora más de 1000 veces la penetración de ciertos fármacos, entre ellos insulina, eritropoyetina e interferón (33).

La acción ultrasónica sobre los tejidos produce un micro masaje celular y molecular con especiales efectos terapéuticos, particularmente en celulitis y en adiposidades localizadas. Este método induce la vasodilatación y al mejoramiento del metabolismo del tejido adiposo, restableciendo la micro circulación notablemente afectada en la celulitis. Tiene importante efecto antiedematoso, aumenta el drenaje linfático, aumenta la permeabilidad de la piel permitiendo el uso apropiado de sustancias medicamentosas, presenta un potente efecto trófico y antiinflamatorio. Es muy útil como complemento de otros tratamientos estéticos, su indicación debe ser muy precisa y realizada por profesionales idóneos. Se utiliza ultrasonido de una frecuencia de 3 MHz que actúa a una profundidad de 2 – 3 cm. de la piel.

Sus efectos se pueden resumir en: reabsorción de edemas, analgésico, aumento de la elasticidad y de la permeabilidad de la piel, lo que permite la penetración de productos tópicos, estímulo de la microcirculación, aumento del metabolismo local y un efecto fibrinolítico (79).

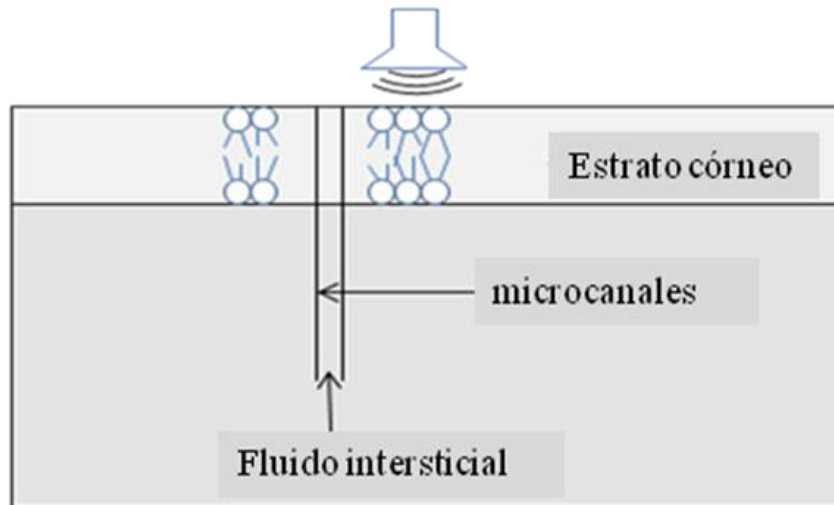


Figura 14. Fenómeno de cavitación usando sonoforesis para penetración de fármacos por piel (79).

4.4.3 Iontoforesis

Consiste en la aplicación de pequeñas corrientes eléctricas ($\sim 0.5 \text{ mA/cm}^2$) a través de electrodos. La corriente eléctrica actuaría como un transportador de los fármacos a través de las estructuras de la piel (Fig. 15).

Los mecanismos principales que conducen al incremento de la penetración son (i) repulsión de iones, (ii) disminución de la resistencia de la piel aumentando la permeabilidad y (iii) electroósmosis (34).

La eficiencia de la iontoforesis depende, de las propiedades fisicoquímicas de las moléculas (polaridad, valencia) y de la interacción principio activo/formulación (80). La efectividad clínica de la iontoforesis ha sido reportada especialmente para formulaciones de anestésicos locales y fármacos antiinflamatorios.

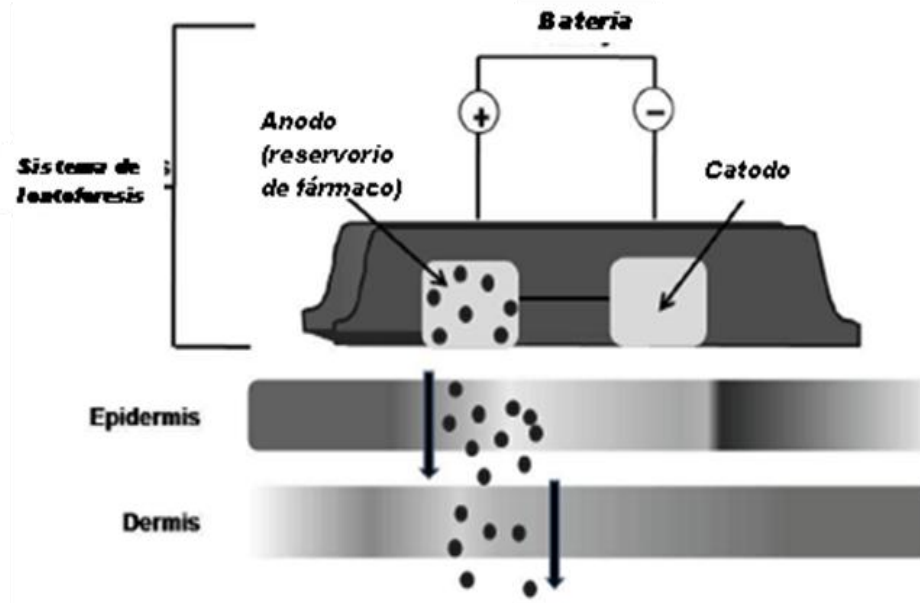


Figura 15. Mecanismo de la iontoforesis (79).

4.4.4 Microagujas

Consiste en dispositivos híbridos entre aguja hipodérmica y parche transdérmico. Hewlett-Packard ha decidido aprovechar su conocimiento e infraestructura para desarrollar un pequeño parche que se ocupe de administrar los medicamentos prescritos a la hora exacta y en la cantidad adecuada. El principio por el que funciona es relativamente sencillo. El parche está hecho de un material que, mediante la aplicación de calor, sufre una expansión predecible. De este modo, el medicamento que se encuentra literalmente impreso en el parche, es expulsado a través de micro-agujas que permite que la sustancia pase al paciente por capilaridad.

Estas micro agujas son lo suficientemente largas como para traspasar la epidermis, pero no lo suficiente como para activar los sensores del dolor. El resto del parche es electrónico. Un microcontrolador se ocupa de aplicar corriente a la celda adecuada, en el momento exacto; en un único parche de unos 2,5 cm cuadrados de área y unos 3 mm de grosor hay unas 150 micro agujas que penetran no más de 0.75 mm en la piel (Fig.16) (81).

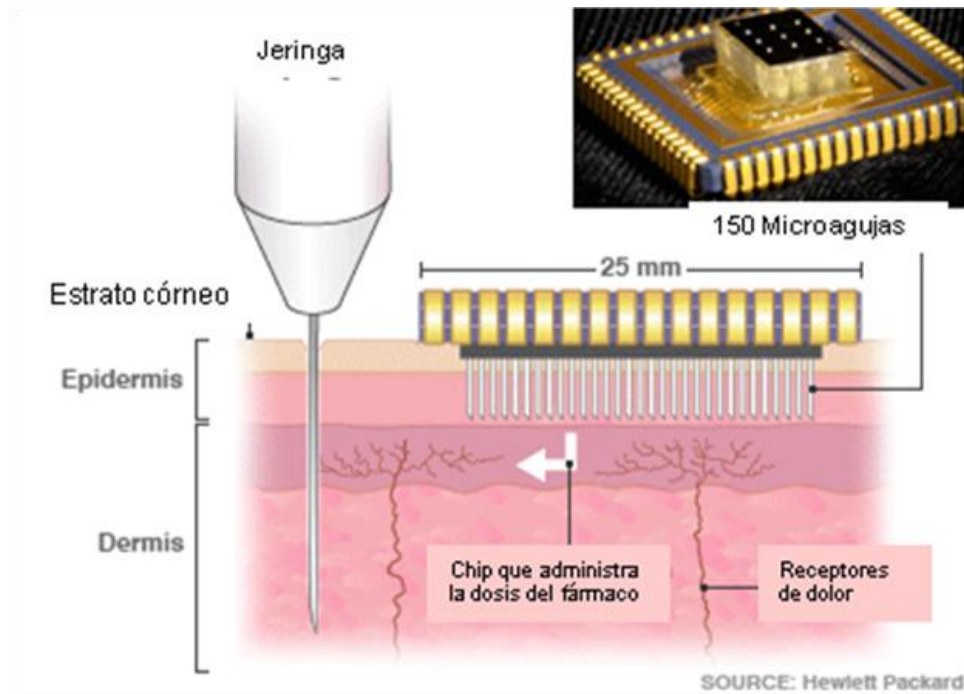


Figura 16. Parche de microagujas (81).

4.4.5 Nanoacarreadores

La nanotecnología es la ciencia involucrada en el diseño de materiales funcionales, dispositivos y sistemas por medio del control de la materia a escala nanométrica, 1 a 100 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$), dimensiones en las cuales las propiedades físicas, químicas y biológicas de los materiales cambian drásticamente, lo cual permite la interacción a nivel celular y molecular con alto grado de especificidad (82-85). La nanomedicina es la aplicación de la nanotecnología a la medicina con el objeto de ejercer control sobre las estructuras biológicas, con precisión molecular y atómica, con el fin de mantener y establecer la salud (85); incluye aplicaciones en el diagnóstico, el tratamiento, la monitorización y el control en diversas funciones biológicas (86).

Cada día se hace más evidente la necesidad de investigar la utilización de nanomateriales (Fig. 17) en los diferentes campos de la medicina, tanto en el diagnóstico temprano de diversas enfermedades, como en su utilidad como acarreadores y liberadores de medicamentos, en el recubrimiento de dispositivos de uso clínico, en el control de infecciones y su posible intervención en terapia génica. La tabla 9 muestra los nanosistemas frecuentemente usados en biología y medicina (82).

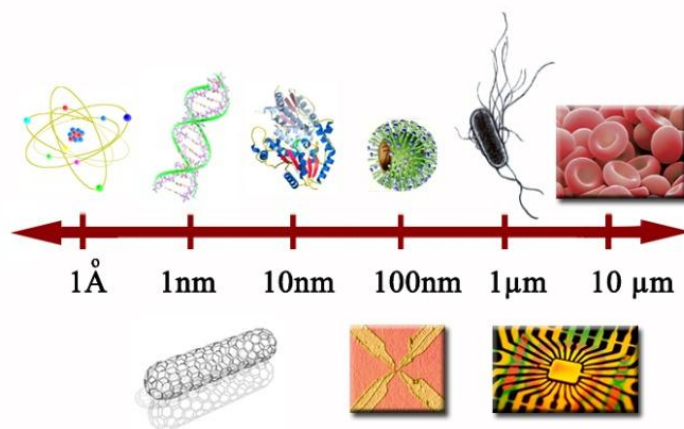


Figura 17. Nanomateriales y nanobiomateriales.

Tabla 9. Nanosistemas usados en biología y medicina (82).

NANOSISTEMA	DEFINICIÓN	APLICACIONES MÁS COMUNES	REFERENCIAS
Puntos cuánticos	Agregados de cientos de átomos (por ejemplo, cadmio, tecnecio, cinc, selenio, talio, indio), cubiertos por solventes no polares o solubles en medios acuosos a los que además pueden añadirse otros componentes.	Debido a la emisión de fluorescencia, son útiles en diagnóstico mediante imágenes y en el estudio dinámico de procesos celulares	92-95
Nanoliposomas	Vesículas en las cuales un volumen acuoso que contiene el compuesto activo, es rodeado por una membrana fosfolipídica similar a la membrana celular.	Acarreadores de gran variedad de medicamentos, agentes de contraste y radiofármacos. Se está desarrollando una nueva generación capaz de incorporar fulerenos para liberar medicamentos no solubles en agua.	84, 86-90
Nanoesferas	Sistemas gel y coloidales que contienen una sustancia activa, adsorbida en la superficie o disuelta en el interior de la partícula.	Acarreadoras de medicamentos Agentes de contraste para imagen.	84, 91-96
Nanocápsulas	Sistemas vesiculares en donde la sustancia activa está confinada en un núcleo lipídico o acuoso y rodeada por una membrana polimérica de una o múltiples capas.	Acarreadoras de medicamentos. Agentes de contraste para imagen.	84, 97-98

Tabla 9. Nanosistemas usados en biología y medicina. Cont.

NANOSISTEMA	DEFINICIÓN	APLICACIONES MÁS COMUNES	NANOSISTEMA
Nanoemulsiones	Dispersiones de aceite y agua en la cual la fase dispersa está formada por gotas de la sustancia activa en nanoescala. Son estabilizadas en la superficie con una cubierta de surfactante y co-surfactante.	Acarreadoras de medicamentos	Nanoemulsiones
Dendrímeros	Son moléculas esféricas poliméricas, altamente ramificadas, con un núcleo central, (por ejemplo, NH ₃), y capas alternantes de monómeros, generalmente ácido acrílico y etilen-diamina.	Detección de cambios celulares específicos. Agentes de contraste para imagen. Acarreadores de medicamentos. Sensores de muerte celular. Acarreadores de fragmentos de ADN.	Dendrímeros
Nanocubiertas	Estructuras óptimamente activas, formadas por un núcleo de silicio rodeado por una delgada capa metálica, generalmente de oro.	Detección de cambios celulares específicos. Tratamiento de cáncer.	Nanocubiertas
Nanotubos	Átomos de carbono en disposición cilíndrica, en una sola capa o en varias. Pueden hacerse solubles en agua y aumentar su biocompatibilidad mediante la activación de su superficie.	Detección de cambios celulares específicos. Sistema liberador de agentes de contraste para imagen y medicamentos. Sustrato para crecimiento celular y regeneración de tejidos.	Nanotubos

4.4.6 Mesoterapia

La mesoterapia es una técnica desarrollada en 1952 por el médico francés Michel Pistor, que consiste en tratar las zonas afectadas con microinyecciones de medicamentos de medicina convencional, homeopática, vitaminas, minerales o aminoácidos. El nombre proviene de la capa de la piel en la que se inyectan las sustancias, derivada del mesoderma embrionario.

Es una técnica de administración de medicamentos por vía intradérmica, por micro punciones entre 1 a 3 mm debajo de la piel, con efecto directo sobre la zona a tratar, en pequeñas dosis, se introducen pequeñas gotitas del medicamento, activándose la circulación local, mejorándose la oxigenación tisular, alterando la permeabilidad de las paredes de las células de grasa, facilitando la liberación de su contenido y produciendo una combustión local de las grasas. No es dolorosa y es particularmente ventajosa por un razonable costo beneficio. Debido a las características del tejido intradérmico superficial, el medicamento permanece largo tiempo actuando en la zona donde se ha depositado sin pasar a circulación general y sin interactuar con otros órganos o sistemas, con lo que se consiguen muy buenos resultados con mínimas dosis

La mesoterapia es considerada como uno de los tratamientos más efectivos para la celulitis. Este método puede ser usado como tratamiento y mantenimiento por largo tiempo, por comodidad, frecuencia de aplicación y costo accesible. Con la mesoterapia se pueden utilizar distintas combinaciones de medicaciones lipolíticas, reafirmantes de la piel, antiedematosos y venotónicas, para cada situación en particular (107).

V. ELECTROPORACION

V. ELECTROPORACION

5.1 DEFINICIÓN

La electroporación o electropermeabilización es un significativo aumento de la conductividad eléctrica y la permeabilidad de la membrana plasmática celular causado por un campo eléctrico aplicado externamente.

Es una técnica que se basa en la aplicación de un elevado voltaje (~100-1000V/cm) a las células durante un período de tiempo muy corto (micro o milisegundos) y durante ese tiempo las células despolarizan sus membranas y se forman pequeños orificios o poros por los que penetran las moléculas que se encuentran alrededor (1, 108).

5.1.1 Electroporación en ruta transdérmica

La vía transdérmica constituye una alternativa a las vías tradicionales (oral, intramuscular y parenteral) de administración de principios activos y medicamentos. Ya que la electroporación induce un incremento en el transporte transmembrana celular a través de pulsos de alto voltaje, es una nueva opción para introducción de fármacos por vía percutánea, sin agujas, ya que posibilita la introducción de diversas sustancias activas.

Al no utilizar agujas, se impone como una alternativa no invasiva e indolora. Las microcorrientes son utilizadas previamente a la aplicación de la electroporación con la finalidad de mejorar la permeabilidad cutánea (33).

La aplicación de pulsos prolongados durante la electroporación pueden causar elevaciones localizadas de temperatura, originando fases termotrópicas transitorias dentro de la bicapa lipídica en la matriz del estrato córneo. El uso de agentes químicos adicionales aplicados en la piel durante el proceso de electroporación puede reducir este efecto.

5.1.2 MECANISMOS

Entre los posibles mecanismos mediante los cuales se lleva a cabo este fenómeno destacan difusión, movimiento electroforético, y electroósmosis.

También se piensa que el campo eléctrico cambia el potencial electroquímico alrededor de la membrana celular e induce inestabilidad en la bicapa lipídica polarizada de la membrana. La membrana inestable cambia su forma, originando canales acuosos a nano-escala (poros) a través de la membrana. La transferencia de masa puede llevarse a cabo a través de estos poros que debido a la reversibilidad, persisten por un periodo de pocos segundos (109).

El mecanismo de difusión de los productos a través de la epidermis por electroporación se produce mediante dos vías: la vía transcelular y intercelular directamente vía la epidermis o vía los folículos piloso y poros. El tipo de vía de penetración depende de la potencia de la onda y del producto. Por ejemplo un voltaje alto y un tiempo de descarga corto produce electroporación transcelular, al revés un voltaje reducido y una descarga mas larga se produce una electroporación intercelular o transfolicular. Estudios anteriores indican el paso de partículas de 0,2 μm hasta 45 μm a través de la piel sobre cobayo usando pulsos de 120 V y 1.2ms (110).

En la electroporación los pulsos de permeación son efectuados en una escala de tiempo de microsegundos y los poros formados se cierran en cuestión de segundos, por ello es reversible. Para una aplicación óptima en medicina molecular es importante predecir la transferencia de masa en el tejido durante la electroporación reversible.

Las macromoléculas presentes en el espacio extracelular pueden entrar a las células por difusión durante el tiempo que los poros están abiertos.

La electroporación es utilizada en medicina y biotecnología para introducir especies químicas no permeables a través de la membrana celular, para moléculas pequeñas como aquellas fluorescentes, marcadores radioactivos, para moléculas de alto peso molecular como anticuerpos, enzimas, ácidos nucleicos, DNA.

Se ha demostrado que el estado de permeación persiste, lo cual implica que las moléculas entran al espacio intracelular después de la aplicación de los pulsos eléctricos. Una vez que la célula es permeada, pequeñas moléculas generalmente entran vía difusión. Debe enfatizarse que mientras que en las pequeñas moléculas como fármacos anticancerígenos se produce un proceso de difusión, se sabe poco de cómo los genes cargados eléctricamente penetran la célula durante la electroporación (33).

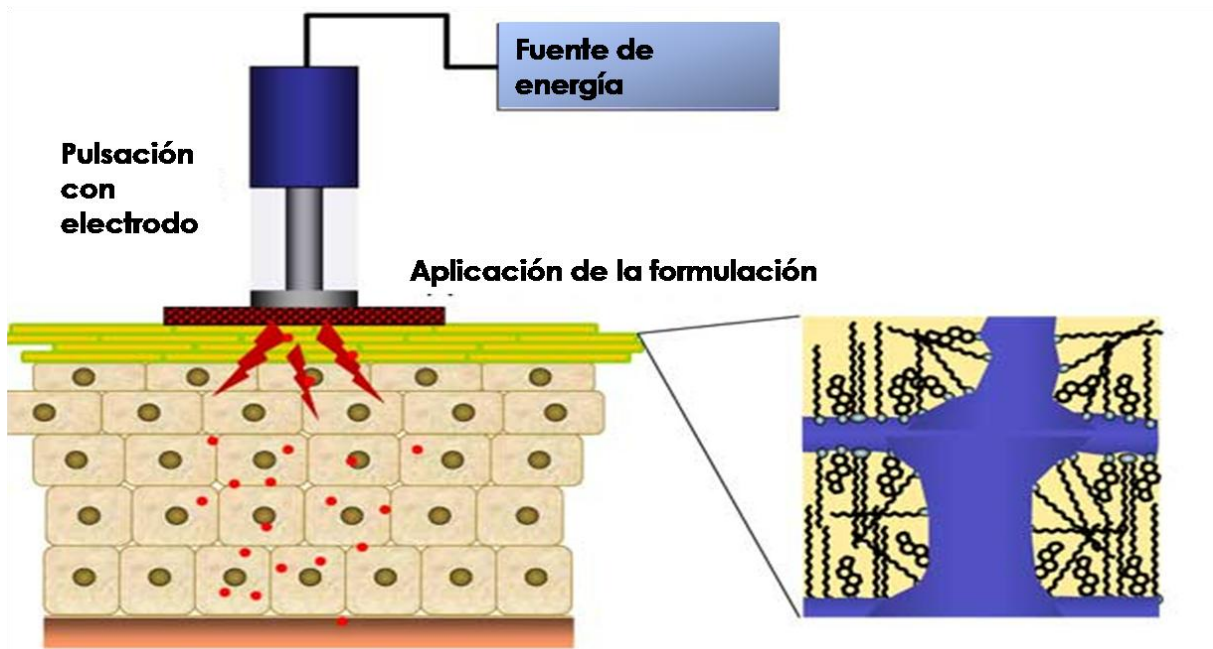


Figura 18. Electroporación

5.1.3 VENTAJAS Y DESVENTAJAS

Se han utilizado diferentes métodos para asegurar la tolerancia de la piel a los pulsos eléctricos, como examinación visual, métodos de bioingeniería no invasivos, medición de la propiedades eléctricas de la piel, estudios histológicos y ultraestructurales así como estudios clínicos (Tabla 10) (108).

En conjunto las alteraciones de la piel debidas al alto voltaje son suaves y reversibles pero las contracciones musculares son usualmente inducidas. Cuando los pulsos de alto voltaje son aplicados a la piel su resistencia eléctrica desciende dramáticamente (111,112). Para pulsos largos y/o múltiples protocolos esto es parcialmente reversible.

Los cambios estructurales persisten dentro del LTR debido a la combinación de los efectos térmicos y eléctricos (113). Como el estrato córneo tiene mayor resistencia eléctrica que la piel subyacente y tejidos profundos, al aplicar un campo eléctrico a la piel éste se concentrará en el estrato córneo y será mucho menor en los tejidos viables, que quedarán protegidos de efectos adversos

Se ha reportado una sensación de dolor durante la electroporación debido a la corriente aplicada en la piel que causa una excitación directa de los nervios y músculos subyacentes. Un incremento en la proporción del pulso, la duración o el voltaje tiende a incrementar los niveles de sensación como picazón, hormigueo, comezón, contracción muscular y dolor en general (114).

Además de una disminución en la resistencia de la piel, la electroporación con pulsos exponenciales descendentes reporto que inducía:

- (i) incremento en la hidratación de la piel
- (ii) desorganización de la bicapa lipídica del estrato córneo
- (iii) un deterioro transitorio de la función protectora (incremento de la pérdida de agua transepitelial)
- (iv) incremento transitorio del flujo sanguíneo

Estos cambios fueron parcialmente reversibles (115,116).

Recientemente el efecto de pulsos de onda cuadrada en la integridad de piel in vivo fue estudiado (117). Los efectos inducidos por pulsos de ondas cuadradas fueron reversibles y ligeros, estos pulsos indujeron un leve deterioro de la función protectora de la piel, una disminución dramática en la impedancia de la piel y un incremento en la pérdida de agua transepitelial (TEWL) así como una rápida, reversible y transitoria (<10 min) disminución del flujo sanguíneo. Con todo y estas

alteraciones, no se altera la viabilidad de la piel y confirma su tolerancia a los pulsos de onda cuadrada in vivo. Existen antecedentes clínicos para la aplicación segura de pulsos eléctricos con el uso de técnicas como estimulación eléctrica transcutánea de nervio y electroquimioterapia.

Incluso la aplicación de pulsos en pacientes para electroquimioterapia indicaban que estos pulsos fueron bien tolerados. Los efectos inmediatos fueron marcas de los electrodos en la piel que desaparecen después de pocos minutos, y una desagradable sensación causada por contracción muscular. Los pacientes no requirieron control especial del dolor ya que se disipaba a medida que se aplicaban los pulsos eléctricos. De ahí que la aplicación de pulsos de alto voltaje parece inducir pocos y temporales efectos adversos que consisten en contracciones musculares durante las pulsaciones y eritemas transitorios.

El diseño de electrodos, así como protocolos de pulsación pueden reducir estos efectos no deseados. Confinando el campo eléctrico hacia el estrato córneo, las contracciones musculares y el dolor podrían reducirse. Con electrodos ondulados, puede haber un transporte efectivo del fármaco sin dolor en áreas sensibles y en ausencia de anestesia (118). El diseño de electrodos y condiciones de transporte deben ser optimizadas dependiendo los requerimientos médicos sin incomodidad en el tratamiento.

Tabla 10. Efectos de electroporación en la piel. (Adaptada de Jadoul et al.) (123).

MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	OBSERVACIONES	REFERENCIAS
Aspecto visual	Suaves eritemas reversibles	122
Impedancia	Menor resistencia (arriba de 3 unidades de magnitud en la escala de microsegundo)	111,112,117,119,120,121
FTIR (espectroscopia infrarrojo de transformación Fourier)	Misma fluidez de la cadena lipídica. Mayor hidratación	77
DTA (análisis térmico diferencial)	Misma temperatura. Disminución de la entalpía	116
Rayos X	Disminución del orden y empaquetamiento del tejido	77
FFEM (microscopia electrónica de congelamiento y fractura)	Deformaciones esféricas, superficies rugosas, apariencia de estructura de red	116,122
TEWL (pérdida de agua transepidermal)	Deterioro transitorio de la función protectora	117,123

Tabla 10. Efectos de electroporación en la piel. Cont.

MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	OBSERVACIONES	REFERENCIAS
LDV (velocimetría de láser Doppler)	Incremento de suavidad reversible en circulación sanguínea, sin modificación significativa en el flujo sanguíneo	117,123
LDI (imagen de láser Doppler)	Disminución reversible en circulación sanguínea	117
Cromametro	Suaves eritemas reversibles	117,123
Evaluación clínica	Sin irritación cutánea. Buena tolerancia a la sensación eléctrica	118

Tabla 11. Ventajas y desventajas de la electroporación

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Usa ondas NO ionizantes y atérmicas.	Daño celular: Si los pulsos no son los adecuados ya sea en cuanto a duración o intensidad, algunos poros serán demasiado grandes o no cerrarán del todo, causando ruptura o daño celular (126).
No existe contacto eléctrico con el paciente, no hay riesgo de quemaduras químicas, contracciones musculares, dolor e inflamación. No tiene efecto galvánico ni estimula el músculo.	El transporte de material dentro y fuera de la célula durante el tiempo de electroporabilidad no es específico (126).
Carece de electrodo de retorno (placa neutra).	Sensibilidad del paciente
No hay ionización molecular de las sustancias transportadas.	
No está contraindicado en prótesis.	
Práctico y fácil manejo. No invasivo.	
Introduce sustancias iónicas, no iónicas, lipofílicas e hidrofílicas.	
No precisa gel conductor.	

Tabla 11. Ventajas y desventajas de la electroporación. Cont.

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Permanencia del efecto conseguido. Satisfacción del paciente	
Incrementa la penetración del fármaco con respecto al transporte pasivo	
Permite un control estricto en las proporciones de penetración transdérmica	
Versatilidad: la electroporación es efectiva con casi todas las células y especies (127)	
Eficiencia: un gran número de células alcanza el blanco de ADN o de la molécula (128).	
Permite un rápido transporte del fármaco al concluir la electroporación	
El procedimiento puede llevarse a cabo dejando intacto el tejido, con menor ansiedad o dolor que en la inyección	
No hay sensibilidad inmunológica	
No existe contacto eléctrico con el paciente, no hay riesgo de quemaduras químicas, contracciones musculares, dolor e inflamación. No tiene efecto galvánico ni estimula el músculo.	

5.1.4 ADMINISTRACIÓN DE DIFERENTES FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL MEDIANTE ELECTROPORACIÓN

A continuación se mencionan algunos de los fármacos probados usando el método de electroporación y/o combinaciones de métodos (127). Ver tabla 12.

- Anticancerígenos

El 5-fluorouracilo (5-FU) es un análogo del uracilo (base pirimidica) que incorpora en la estructura molecular un átomo de fluor en posición 5 en lugar del hidrógeno, interfiriendo en la síntesis celular, por tanto es usado en tratamientos anticancerígenos.

En un tratamiento usando primero electroporación con subsecuente iontoforesis, se obtuvo una mayor permeación de (5-FU) que usando las técnicas por separado (128).

- Analgésicos

Transporte transdérmico de ciclodextrinas (CD) a través de epidermis porcina por electroporación; la cual incrementa la permeación de h-ciclodextrina (BCD) e hidroxipropil h-ciclodextrina (HPCD) por varias órdenes de magnitud, de transporte relativo a pasivo. La presencia de BCD y HPCD incrementa el transporte de las pruebas de permeación con piroxicam y carboxifluoresceína (CF) respectivamente, tanto de soluciones como de suspensiones (129).

Efecto sinérgico de iontoforesis y electroporación en el transporte transdérmico de nalbufina (NA) y dos profármacos: benzoato de nalbufina y éster de dinalbuphina sebacoil (SDN) tanto de soluciones como de hidrogeles. La combinación de ambos métodos eléctricos incrementa el transporte de NA, sin embargo no se observa tanto aumento para la permeación de NAB y SDN. Los resultados demuestran que la lipofilicidad y tamaño molecular así como la composición del hidrogel tienen efectos significativos en la permeación cutánea de NA, NAB y SDN vía difusión pasiva o bajo influencia de un campo eléctrico (130).

Los efectos de electroporación en permeación transdérmica de nalbufina (NA) y sus profármacos pueden ser incrementados por la aplicación de pulsos de alto voltaje, la duración del pulso así como el número de pulsos. Varias cinéticas y mecanismos se observan para la permeación del hidrofílico NA y del lipofílico nalbufina que se incrementa a través de diferentes barreras cutáneas por aplicación de electroporación (131).

El efecto de iontoforesis combinado con el tratamiento de otros mecanismos físicos mejoradores como el de electroporación, ultrasonido de baja frecuencia, y erbio láser: YAG (yttrium-aluminum-garnet/ granate de itrio-aluminio) en el transporte transdérmico de acetato de sodio de nonivamida (SNA).

Las pulsaciones de alto voltaje (electroporación) seguida de iontoforesis no resultan en un incremento de transporte en comparación a iontoforesis por separado. Sin embargo la electroporación acorta el inicio del transporte iontoforético de SNA (132).

- Antidiuréticos

Uso de macromoléculas como promotores químicos del transporte transdérmico de manitol mediante electroporación cutánea. La electroporación incrementa el transporte transdérmico de manitol aproximadamente 2 órdenes de magnitud. La adición de macromoléculas incrementa el transporte más de 5 unidades (133).

- Antivirales

El transporte *in vivo* de interferón α -2b (IFN α 2b) fue demostrado por microporos creados en la capa externa de la piel en ratas calvas. La iontoforesis incrementa el transporte a través de piel microporada (134).

Dentro de los parámetros que influyen el transporte transdérmico de clorhidrato de terazosina en piel de ratas calvas; se encuentran el voltaje, duración del pulso, y número de pulsos. Para entender el mecanismo del transporte de terazosin como un indicador preliminar de seguridad; el uso de pulsos cortos y electrodos de área amplia es una técnica más segura que el uso de pulsos largos y electrodos de área pequeña cuando la electroporación es usada para incrementar la permeabilidad de la piel con clorhidrato de terazosina (135,136).

- Insulina

Se estudió el transporte transdérmico de insulina y la extracción de glucosa intersticial bajo iontoforesis seguido de electroporación en presencia de 1,2-dimiristoilfosfatidilserina (DMPS). El transporte *in vivo* no invasivo de insulina para niveles terapéuticos y extracción de glucosa puede lograrse por combinación de electroporación con lípidos aniónicos y electroósmosis (137).

La absorción percutánea de insulina es sinérgicamente incrementada por una combinación de iontoforesis y electroporación y alterando las propiedades de agregación de la insulina es importante para incrementar la absorción percutánea de insulina por ambos métodos (138).

- Hormonas

Se midió el flujo de la hormona paratiroidea (1-34, hPTH) con pulsos de electroporación de 100 y 300V seguido de iontoforesis a 0.2 mA/cm² fue 10 y 5-unidades más, respectivamente en comparación al flujo con los correspondientes pulsos por separado. (139). La combinación de iontoforesis y electroporación aumenta la permeación transdérmica más que cualquiera de las 2 técnicas por separado, en el transporte de hormonas reguladoras como salmon calcitonina (sCT) y hormona paratiroidea a través de epidermis humana. La electroporación incluso acorta el tiempo de duración del transporte transdérmico iontoforético de salmon calcitonina (140).

La combinación de iontoforesis y electroporación no mejora significativamente la penetración de una solución acuosa saturada de estradiol (fármaco lipofílico) en epidermis humana. Los resultados obtenidos implican la reparación de la barrera de la piel debido al efecto retardado de la penetración de los monómeros de fosfatidilcolina liberados de los liposomas (141).

- Fotosensibilizadores

Se usaron pulsos eléctricos para incrementar el transporte de ácido aminolevulónico (ALA) un precursor de protoporfirina fotosensible IX (PpIX). Se observa un incremento mayor de 2 unidades de producción de PpIX con transporte electroporativo contra el obtenido en transporte pasivo (142).

La aplicación de iontoforesis y/o electroporación por separado incrementa la permeación de ácido 5- aminoclavulínico (ALA) aproximadamente en 15-unidades y 2-unidades, respectivamente. La incorporación de iontoforesis y/o electroporación con 2 técnicas reemergentes como: erbio: yttrium-aluminium-garnet /granate de itrio-aluminio (Erb:YAG) esto es láser y microdermoabrasión, causan un profundo sinergismo con la permeación de ALA (143).

- Oligonucleótidos

Transporte tópico de fosfodiéster (modificado de 39 oligonucleótidos) usando electroporación, la cual incrementa el transporte por 2 órdenes de magnitud comparada con la difusión pasiva sin diferencia significativa entre derivados de oligonucleótidos (144).

Un método libre de agujas basado en electroporación transcutánea se describe para transporte de vacunas peptídicas. La eficacia del transporte péptico fue comparable con aquel de inyección intradérmica con adyuvante completo de Freund. El péptido específico CTL responde a la vacuna transportada por el método libre de agujas electroporación/electroósmosis y fue equivalente a aquel transportado por inyección intradérmica (145).

El profármaco fotosensible ácido delta amino levulónico, el anticancerígeno metotrexato, y vacunas pépticas diseñadas para prevención de cáncer e inmunoterapia han sido transportados transdérmicamente por electroporación. Estos estudios son prometedores, ya que hay una adaptación de la electroporación y la tecnología de electrofusión tanto en investigación como en tratamiento de cáncer humano (146).

- Polifenoles

Los isómeros (+)-catequina y (-)-epicatequina, muestran diferentes comportamientos de permeación cutánea y deposición cutánea local con los métodos eléctricos asistidos. Un efecto sinérgico se detecta para (+)-catequina pero no para (-)-epicatequina después de la aplicación de electroporación seguida de iontoforesis en piel porcina (147).

- Estimulantes

Se investigó el efecto de electroporación en la permeabilidad de la piel mediante la medición del transporte acumulativo de cafeína y ascorbil fosfato de sodio (NAP), observándose un incremento de éstos en piel.

Los factores mejoradores para NAP de 7.2 a 14.9 se observan después de 20 minutos de electro taratamiento, muestreando de inmediato, equivalentes a una posterior difusión pasiva de 60 minutos comparada con una difusión pasiva de 20 u 80 minutos (148).

- Dextran (antiplaquetario)

El uso de promotores lípidos correctos, extiende el límite de químicos transportables. Entendiendo el mecanismo de los promotores lípidos se puede diseñar mejor los promotores de fármacos transdérmicos y transporte de vacunas por electroporación (149).

Efecto sinérgico sustancial de CaCl_2 y electroporación en permeaciones en piel *in vitro* de calceína y dextranses FITC. Se observó un cambio en el estrechamiento C-H de la banda de lípidos cutáneos producido con electroporación al compararlo con aquel sin electroporación. El estrechamiento asimétrico C-H fue mayor con electroporación en solución de CaCl_2 . Una pequeña liberación de calceína se observa de SCL sin electroporación, mientras que una mayor liberación se observa después de electroporación con o sin CaCl_2 o NaCl . (150).

La presencia de dodecil sulfato de sodio (SDS) durante la electroporación ayuda a lograr el transporte transdérmico de difusores deseado con menos exposición eléctrica (151).

- Antagonistas de ácido fólico

La aplicación de electroporación incrementa el transporte transdérmico de metotrexato (MTX). La electroporación de metotrexato con un anión promotor lipídico dentro de un ambiente hipertérmico amortiguado provee un significativo transporte transdérmico en un tiempo corto de aplicación (152).

Electroporación transdérmica *in vivo* usando un arreglo de microelectrodos para minimizar la sensación de dolor, con 180 pulsos de 150 V, 0.2 ms a 1 Hz, seguido de 30 min de metotrexato, la oclusión se incrementa más de 4 unidades del nivel sistémico de metotrexato en ratones (153).

Tabla 12. Usos de la electroporación para administrara diferentes fármacos a través de la piel. Modificada de Escobar-Chávez et al. 2009 (33).

FARMACO	RESULTADO
Anticancerigenos	Mayor permeación de (5-FU) usando conjuntamente iontoforesis y electroporación
Analgésicos	Incremento de permeación de h-ciclodextrina (BCD) e hidroxipropil h-ciclodextrina Efecto sinérgico de iontoforesis y electroporación en el transporte transdérmico de nalbufina (NA) y dos profármacos
Antidiuréticos	Incremento del transporte transdérmico de manitol
Antagonistas de ácido fólico	Incremento del transporte transdérmico de metotrexato
Antivirales	Transporte transdérmico de interferon alfa-2b (IFN α 2b) a través de microporos, e incrementado por iontoforesis, en ratas calvas Incremento de transporte transdérmico de clorhidrato de terazosina
Dextran	Efecto sinérgico sustancial de CaCl ₂ y electroporación en permeaciones en piel <i>in vitro</i> de calceína y dextranes
Estimulantes	Se investigó el efecto de electroporación en la permeabilidad de la piel mediante la medición del transporte acumulativo de cafeína y ascorbil fosfato de sodio, observándose un incremento de éstos en piel.

Tabla 12. Usos de la electroporación para administrara diferentes fármacos a través de la piel. Cont.

FÁRMACO	RESULTADO
Fotosensibilizadores	Incremento mayor de 2 unidades de producción de protoporfirina fotosensible IX (PpIX) usando transporte electroporativo que con transporte pasivo.
Hormonas	La combinación de iontoforesis y electroporación aumenta la permeación transdérmica más que cualquiera de las 2 técnicas por separado, en el transporte de hormonas reguladoras como salmon calcitonina (sCT) y hormona paratiroidea a través de epidermis humana.
Insulina	La absorción percutánea de insulina es sinérgicamente incrementada por una combinación de iontoforesis y electroporación
Oligonucleotidos	Un método libre de agujas basado en electroporación transcutánea se describe para hacer más eficiente el transporte de vacunas peptídicas.
Polifenoles	Efecto sinérgico para (+)-catequina pero no para (-)-epicatequina después de la aplicación de electroporación seguida de iontoforesis en piel porcina.

5.1.5 VARIABLES RELACIONADAS CON ESTUDIOS DE ELECTROPORACIÓN

Dentro de las variables a considerar en el método de electroporación cabe señalar las siguientes:

- **Electrodos**

Su importancia radica en la forma y el material con que esten fabricados.

Los electrodos de contacto son 2 barras paralelas de acero inoxidable de 1 mm de diámetro, una longitud de 10-20mm separados entre si a una distancia que va de 4-9mm según los diferentes modelos (Figs.19-20). Su penetración en el gel (o su extensión con la piel) puede ser ajustada ejerciendo diferentes presiones. Un gel conductor se usa para mejorar el contacto con la piel en experimentos *in vivo* (154).

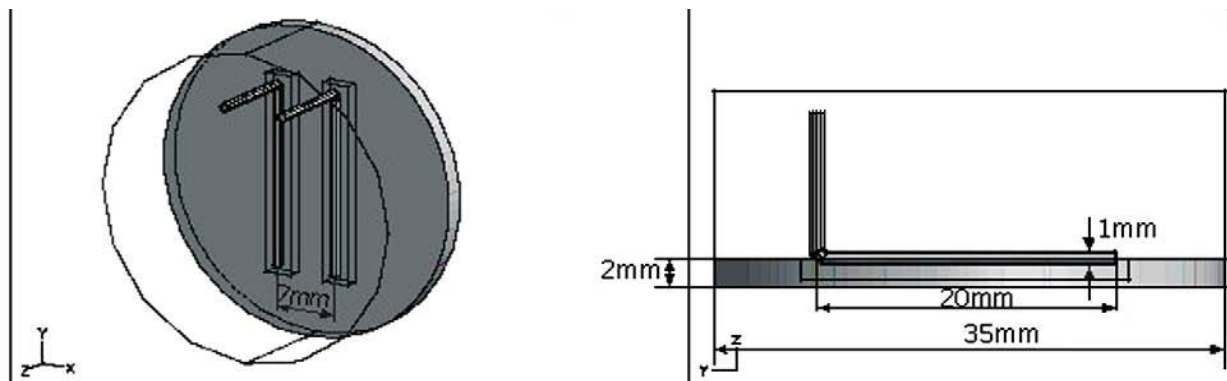


Figura 19. Dibujo de los electrodos de contacto (155).



Figura 20. Foto de los electrodos de contacto. El ancho es de 9mm. La longitud es de 20mm (155).

Cuando el blanco clínico es una superficie de liberación controlada como en electroquimioterapia de grandes tumores cutáneos (por ejemplo sarcoidomas en caballos) los electrodos de contacto son los sistemas más apropiados, debido a su diseño ergonómico son fáciles de sostener y pueden ser movidos en la superficie del órgano para tratar superficies sucesivas y obtener electrotratamiento en un área mayor. (Fig.21) (156). Solo se obtiene un efecto superficial debido a la localización del campo, pero por repetición del tratamiento se pueden erradicar tumores gruesos.



Figura 21. Vista detallada de los electrodos de contacto durante experimentos *in vivo* en ratones y caballos (155).

Debe mencionarse que a un voltaje dado en proporción a la distancia, la profundidad efectiva de la penetración se incrementa mientras mayor sea la distancia entre electrodos. A un voltaje dado y anchura de electrodo la corriente depende de la longitud del electrodo y del tejido de contacto. El sistema de contacto, con un campo de penetración profunda limitado, es apropiado para transferencia de genes en la dermis, donde las células presentadoras de antígeno son abundantes (para experimentos en electroinmunización de ADN) y para expresión de IL12 (157).

La geometría de estos electrodos de contacto es muy simple, su forma es cilíndrica, no deben presentar bordes afilados ya que estos pueden inducir campos eléctricos locales altos y corriente (158). Esto significa que una quemadura local pudiera presentarse, si en lugar de usar electrodos cilíndricos, se usaran electrodos de platino poniendo sus bordes afilados en contacto con la piel; otra limitante de éstos, también llamados “electrodos zigzagueantes” (159) es que la proporción de superficies de los electrodos y de la piel es mayor que con los electrodos de contacto.

Se presentan diseños más sofisticados y caros en el mercado de los electrodos zigzagueantes pero falta una apropiada descripción del campo de distribución (155). Están diseñados para obtener un efecto específicamente en el estrato córneo para poder obtener un transporte transdérmico (160).

Otra característica es que el ancho debe ser grande en relación al diámetro del electrodo para obtener un campo de distribución homogéneo a lo largo de la superficie (161). Debido a la flexibilidad en su uso cuando se requieren tratamientos múltiples en un mismo paciente, los electrodos no invasivos ofrecen mayor conveniencia

Actualmente encontramos diversos tipos de electrodos para electroporación, destacando los cerámicos de platino (Fig. 22) frente a los de interfase metálica (pequeñas placas circulares). Estos últimos, desdoblan parcialmente las componentes eléctrica y magnética de la OEM (onda electromagnética), restando homogeneidad a la transmisión del frente de onda y provocando procesos de oxidoreducción (ionizantes) y alteraciones de pH, tanto en la piel como en las sustancias permeabilizadas. Por esta razón, los electrodos de platino con forma de filamento zigzagueante y recubiertos de material cerámico constituyen la mejor opción.



Figura 22. Electrodos cerámicos de platino

El diseño de electrodos es un tema crítico en términos de eficacia, transporte del fármaco y tolerancia. Las investigaciones recientes en electroporación cutánea se llevaron a cabo *in vitro* con electrodos colocados en ambos lados de la piel. Si las percepciones del transporte transdérmico fueron benéficas, la posición y diseño de electrodos no fue representativa en condiciones *in vitro*. Varios electrodos y sistemas reservorios por ejemplo electrodos de platino con pliegues para piel, electrodos zigzagueantes han sido diseñados para aplicaciones *in vivo* (162). La eficacia del transporte del fármaco está influenciada por el diseño del electrodo porque la distribución e intensidad del campo eléctrico en la piel se afecta. La configuración más simple para generar un mayor o menor campo eléctrico uniforme es paralelar electrodos de platino en forma de calibradores. Sin embargo los nervios y músculos subyacentes pueden ser sujetos a estímulos eléctricos y podría observarse quemaduras en la piel superficial. Los electrodos zigzagueantes consisten en un arreglo entrelazado de electrodos, permitiendo localizar mejor el campo eléctrico dentro de las capas superficiales de la piel, evitando así efectos indeseables en los tejidos subyacentes (Fig. 23).

Como la reacción es muy rápida, se prefieren electrodos inertes como por ejemplo los de platino, en comparación con los activos como por ejemplo electrodos plata/cloruro de plata. Como ocurre oxidoreducción en los electrodos, se producen iones hidrogeno e hidroxilo que pudieran cambiar el pH en los sistemas reservorios.

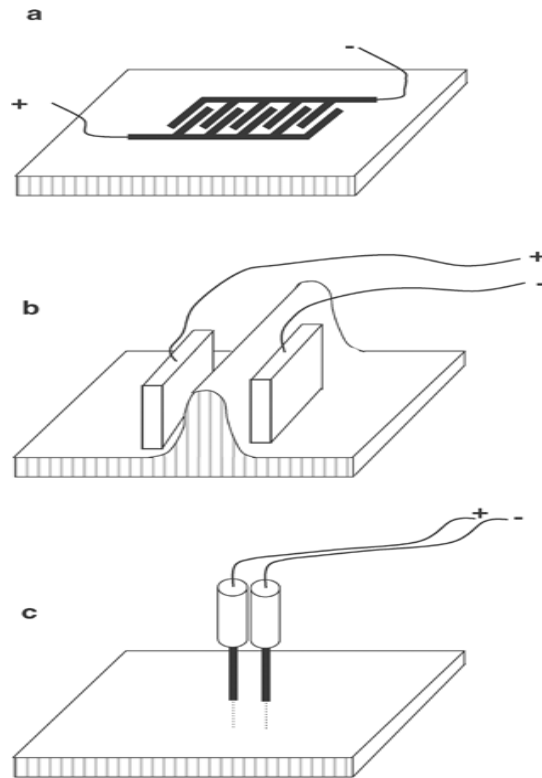


Figura 23. Tipos de electrodos usados en electrotransferencia *in vivo*. Zigzag (a) calibrador (b) aguja (c).

En el caso del electrodo zigzagante, se genera un campo eléctrico entre el electrodo positivo y negativo con parte del campo entrando en tejido. Este diseño de electrodo es menos invasivo. Con los electrodos como calibradores, un campo eléctrico uniforme es generado entre los platos del electrodo. Con los electrodos de aguja, se genera un campo eléctrico entre agujas. En algunos casos, se usan electrodos de agujas multiples (163).

- **Voltaje**

Se sabe que a un voltaje alto y un tiempo de descarga corto se produce electroporación transcelular, al revés un voltaje reducido y una descarga más larga se produce una electroporación intercelular o transfolicular. Por ello depende el grado y tipo de penetración que se desee.

Por otro lado depende el objetivo que se persiga será el grado de voltaje empleado, ya que por ejemplo para una penetración transdérmica de cualquier fármaco en el área cosmética se requiere 450-2100 volts y para usos en Biología molecular el voltaje empleado es de 2500 volts, (163), mientras que para Ozonoforesis se utilizan 4500 volts, ésta es una penetración inducida de ozono en la piel por la acción de electroporación de un campo eléctrico de "alto voltaje y mediana frecuencia" en la cual el equipo cuenta usualmente con 2 electrodos el facial de 6.5 cm. de largo y el corporal de 16.5 cm.

- **Duración de la pulsación**

Se reportan usualmente 2 tipos de protocolos de pulsación, los cuales se distinguen por la duración del pulso en:

- 1) numerosos >100, corta duración 1-2ms, alto voltaje
- 2) escasos < 20, larga duración 70-1000 ms, voltaje medio

Unos cuantos pulsos largos permiten el transporte de moléculas grandes en comparación con los pulsos cortos (122).

De forma general los pulsos no deberán ser prolongados para evitar reacciones adversas en la piel, son del orden de microsegundos para lograr un efecto reversible en la apertura de poros.

Hay generadores que pueden transportar exponencialmente pulsos decrecientes o longitudes de onda cuadradas (112). Ambos son usados para diferentes aplicaciones por ejemplo transporte de fármacos, electroquimioterapia y terapia génica. Debido a su perfil de largo voltaje, las principales ventajas de los pulsos decrecientes exponencialmente son mantener o expandir el estado de alta permeabilidad de la piel inducida por electroporación y promover el movimiento electroforético. Sin embargo como la duración de estos pulsos depende de la resistencia de la piel y el sistema de electroporación (electrodos, medio conductor)

La reproducibilidad de las condiciones de pulsación para usos clínicos puede ser un problema. En contraste el voltaje y duración de los pulsos de ondas cuadradas se mantiene constante sin importar la resistencia de la piel o el sistema de electroporación. De ahí que los pulsos de onda cuadrada se usen para tener un mejor control y reproducibilidad del transporte de fármacos.

5.1.6 OTRAS APLICACIONES

Actualmente una de las principales aplicaciones terapéuticas in vivo de la electroporación es la electroquimioterapia, (ECT), que combina un fármaco citotóxico, por ejemplo la bleomicina, con pulsos eléctricos, la electro genoterapia (EGT) como una forma no viral de genoterapia, y transporte transdérmico del fármaco. La bleomicina es un fármaco altamente citotóxico que se usa para eliminar células durante la mitosis mientras que la célula se divide, por esta razón se usa en quimioterapia para tratar tumores cancerígenos cuyas células se dividen mucho más que aquellas que son benignas. La bleomicina actúa induciendo rupturas en el ADN causando que el ciclo celular se detenga cuando alcanza la mitosis, con la subsecuente muerte celular.

La electroquimioterapia es un método prometedor para tratar tumores locales sin importar su histología con mínimos efectos colaterales y una proporcional respuesta alta. En una aplicación típica de electroquimioterapia la bleomicina es inyectada a cierta concentración en el espacio extracelular del tumor. Los pulsos eléctricos son aplicados mediante electrodos que rodean el tejido maligno y el campo eléctrico permeabilizará la membrana celular lo suficiente para que el fármaco penetre a la célula y abata el tumor (73).

Por otro lado la Electroporación Facial, es un recurso estético que posibilita la aplicación y absorción transdérmica de cualquier activo a través de la emisión de una onda electromagnética con características especiales. Este sistema garantiza la penetración intra-celular de las sustancias al aumentar momentáneamente hasta 400 veces la permeabilidad de la membrana conduciendo los activos hasta el interior de la misma.

Los equipos consiguen la penetración transdérmica de cualquier principio activo liposomado sea o no iónico, sin importar su tamaño molecular o si es lipo o hidrosoluble.

Dentro de los tipos de ondas ejercidas en los equipos de electroporación se encuentran: hectométrica, pulsada (reversible), modulada.

La onda media o hectométrica hace referencia a la frecuencia del equipo situada en la región de la radiofrecuencia (1 MHz). El hecho de que sea reversible es porque mediante la aplicación de voltajes pulsados inferiores al HEPL (límite superior de electroporación) el mecanismo de apertura de los poros es reversible (evitando la rotura de la membrana y la consiguiente muerte celular). El efecto despolarizador puede ser natural al suprimir la emisión o forzado (emisión bipolar). La capacidad de penetración de la EP se estima en 2 ordenes de magnitud con respecto a la Iontoforesis, 3 con respecto a la electroforesis y 4 con respecto a la aplicación tópica (164).

Para optimizar el buen resultado del tratamiento con la electroporación, previamente se recomienda realizar una exfoliación mediante microdermoabrasión con puntas de diamante o eventualmente otro método, para eliminar la capa córnea y favorecer la absorción de las sustancias

La electroporación provoca un reacomodamiento físico de las células de la piel. Al ser la corriente de electroporación alternada (o sea que cambia de dirección permanentemente) logramos que este reacomodamiento sea continuo, y que vaya generando nuevos poros y canales mientras la corriente esté activa.

La electroporación permite introducir tanto micro como macromoléculas, inclusive mayores a 800.000 Dalton como el ácido hialurónico o la heparina, o de 500.000 Dalton como el colágeno.

Principales indicaciones:

- Rejuvenecimiento facial
- Líneas de expresión
- Secuelas de acné
- Adiposidades localizadas
- Celulitis
- Estrías
- Flaccidez
- Pre y post operatorio de cirugía plástica
- Reafirmación de senos
- Reafirmación facial y de cuello
- Anti-edad
- Hiperpigmentación
- Queloides, cicatrices

Existen diversos aparatos utilizados en el método de electroporación, a continuación se muestran unos ejemplos (Figuras 24, 25, 26 y 27).



Figura 24. Equipo de Electroporación transdérmica para reducir volumen (165).



Figura 25. Equipo de electroporación transdérmica no invasiva (TDES) en combinación con la nanocosmética (165).

El TDES permite introducir cualquier activo (hidratante, adelgazante, drenante o anticelulítico) hasta el interior de las células sin agujas y de forma indolora; con la nanocosmética, que implica la reducción de las partículas que forman las cremas hasta conseguir un tamaño inferior a los espacios que se encuentran entre las células. Está indicado en el tratamiento de: Obesidad, celulitis, anti-edad, cicatrices, estrías



Figura 26. Mesolux™ PHOTO-ELECTROPORATION SYSTEM (166).

Sistema no invasivo de introducción transdérmica de activos por electroporación combinado con fototerapia.

La fototerapia con longitud de onda de 633nm resulta ser la más efectiva para estimular las células de la piel y activar la cascada de procesos necesarios para la reestructuración de la matriz de colágeno, la reactivación celular y los fibroblastos. Además produce una vasodilatación y una reactivación microcirculatoria, mejorando la absorción y difusión del activo introducido mediante electroporación, aumentando

así los efectos del tratamiento. De este modo, el uso combinado de ambos tratamientos actúa en sinergia potenciando el efecto de ambos.



Figura 27. Electroodos de aplicación facial, capilar y corporal (166).

Electroporación en biología molecular

La medicina molecular a menudo requiere la introducción de moléculas específicas como genes o fármacos macromoleculares, en células específicas del cuerpo. Regularmente las moléculas tienen dificultad para penetrar en la membrana celular. Estas dificultades son causadas por la carga molecular, el peso molecular, la condición hidrofílica de la molécula, u otras propiedades fisicoquímicas. Esto hace imposible el uso de fármacos potenciales para tratamiento de cáncer por ejemplo. Los plásmidos y genes son ejemplos de moléculas que no pueden penetrar en la célula.

Es habitual en biología molecular como forma de introducción de diferentes sustancias en células, como por ejemplo sondas moleculares, un fármaco que puede cambiar las funciones celulares o un fragmento de DNA codificante, como puede ser un plásmido.

Cuando el voltaje que atraviesa una membrana plasmática excede su rigidez dieléctrica se forman poros. Si la fuerza del campo eléctrico aplicado y/o la duración de la exposición al mismo se eligen apropiadamente, los poros formados por el pulso eléctrico se sellan tras un corto periodo de tiempo, durante el cual los compuestos extracelulares tienen la oportunidad de entrar a la célula. Sin embargo, una exposición excesiva de células vivas a campos eléctricos puede causar apoptosis y/o necrosis, procesos que provocan la muerte celular.

En biología molecular, el proceso de electroporación es usado habitualmente para la transformación de bacterias, levaduras y protoplastos vegetales. Además de membranas lipídicas, las bacterias también tienen una pared celular compuesta de peptidoglicano y sus derivados. Sin embargo, las paredes son porosas por naturaleza y sólo actúan como corazas que protegen a la célula de impactos ambientales severos. Si bacterias y plásmidos se mezclan, los plásmidos pueden transferirse al interior de las células tras la electroporación. En este proceso suelen emplearse varios cientos de voltios, que atraviesan una distancia de varios milímetros. A continuación, las células han de ser manipuladas cuidadosamente hasta que tienen la oportunidad de dividirse, produciendo nuevas células que contendrán copias del plásmido. Este proceso es aproximadamente diez veces más efectivo que la transformación por métodos químicos (167).

La electroporación se lleva a cabo en un electroporador, un aparato que crea la corriente eléctrica y la hace pasar a través de la suspensión celular (típicamente bacterias, aunque otros tipos de células pueden ser usadas, como se ha comentado anteriormente). La suspensión se pipetea en una cubeta de plástico o vidrio con electrodos de aluminio en los costados (Fig. 28).

Por ejemplo, para la electroporación de bacterias suele utilizarse una suspensión de unos 50 μ L. Antes de la electroporación las células se mezclan con los plásmidos con los que se quieren transformar. La mezcla se pipetea en la cubeta, el voltaje se selecciona en el electroporador (unos 240 voltios, por ejemplo) y la cubeta se inserta en el electroporador. Inmediatamente después de la electroporación se añade 1 ml de medio a las bacterias (en la propia cubeta o en un tubo de microcentrífuga) y se incuban a la temperatura óptima de las bacterias durante una hora o más para después extenderlas en una placa con agar (Fig.29).

El éxito de la electroporación depende en gran medida de la pureza de la solución con el plásmido, especialmente de su contenido en sal. Las soluciones impuras pueden causar una pequeña explosión (un arco eléctrico), en cuyo caso las células morirían. Si esto ocurre a menudo, una precipitación de las células podría ser necesaria antes de una nueva electroporación (168).

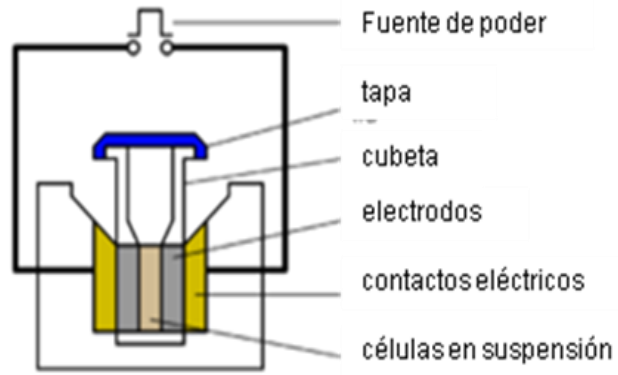


Figura 28. Componentes de un electroporador con la cubeta dentro (169).



Figura 29. Celdas para electroporación.

Son de plástico con electrodos de aluminio. Pueden contener hasta 400µl

V. COMBINACIÓN DE ELECTROPORACIÓN Y OTROS MÉTODOS

VI. COMBINACIÓN DE ELECTROPORACIÓN Y OTROS MÉTODOS

6.1 Electroporación y Sonoforesis (ultrasonido)

Debido a sus similares mecanismos de acción, una combinación de ambos es poco prometedora. Sin embargo ha sido comprobado un sinergismo entre estos 2 métodos (170). Una aplicación simultánea de ultrasonido y electroporación incrementa el transporte transdérmico de calceína. La aplicación de ultrasonido reduce el umbral de voltaje para electroporación.

6.2. Iontoforesis y Electroporación

Esta combinación está basada en la diferencia entre los mecanismos de acción de ambos métodos. La electroporación puede desarreglar la bicapa lipídica de la piel y crea nuevas rutas de transporte dentro de la piel facilitando así el paso de corriente durante la subsecuente iontoforesis como resultado se produce un incremento de transporte transdérmico (171).

La aplicación previa de electroporación a la iontoforesis ha reportado incluso incremento en el transporte de fármaco y/o acorta el tiempo de latencia, o en algunos casos no tiene efecto en el flujo iontoforético.

Un estudio sobre el efecto sinérgico de iontoforesis y electroporación en el transporte transdérmico de LHRH (hormona liberadora de gonadotropina) in vitro (172), con aplicaciones de pulsos electroporéticos antes de una constante aplicación de iontoforesis produjo de 5–10 flujos consistentes.

El incremento de la eficiencia al aplicar electroporación seguida de iontoforesis se atribuye a la reducción de impedancia y selectividad de tamaño de la piel.

Se ha estudiado el efecto de electroporación y iontoforesis en el transporte transdérmico de salmon-calcitonina y hormona paratiroidea a través de epidermis humana (173). Con pulsaciones de bajo voltaje (<120 V) seguidas de aplicación de iontoforesis y no se obtuvo incremento en el transporte en comparación con la aplicación de iontoforesis por separado.

Se estudio el transporte transdérmico de acetato de nonivamida mediante la aplicación de 15 pulsos exponenciales en orden descendente (1 ppm) de 500 V a 200 ms seguido por la aplicación de iontoforesis, esto condujo a una entrada de flujo rápida y alta (174) mostrando que los pulsos de alto voltaje seguidos por la aplicación de iontoforesis no incrementan el transporte de acetato de nonivamida de sodio en comparación con la aplicación de iontoforesis por separado, sin embargo se acortaba el tiempo de latencia.

El efecto de las propiedades fisicoquímicas del fármaco en el transporte transdérmico por combinación de electroporación y iontoforesis fue recientemente dilucidado (175). En el caso de buprenorfina, un fármaco muy lipofílico, la electroporación falló al incrementar el transporte iontoforético a través de epidermis humana (100). En una comparación del efecto de electroporación con transporte iontoforético de cationes β -bloqueadores lipofílicos e hidrofílicos, timolol y atenolol (175); se observó un transporte mínimo de timolol con la combinación de electroporación y iontoforesis que con iontoforesis por separado, no así con el atenolol.

Este efecto negativo de electroporación en el transporte iontoforético de timolol fue explicado por la acumulación de timolol cargado positivamente en la piel por electroporación induciendo una disminución del flujo electroosmótico durante la iontoforesis.

En conclusión, además de los parámetros eléctricos, las propiedades fisicoquímicas del fármaco son capaces de afectar el electro-transporte del fármaco.

6.3 Electroporación y radiofrecuencia

La radiofrecuencia (Atérmica) aplicada a la Transmisión Transdérmica de Sustancias al interior celular (Electroporación), atravesando la barrera del estrato corneo, posee características propias; lo mismo sucede con la diatermia o hipertermia (Térmica), por eso y aún tratándose de ondas de radiofrecuencia, ambas funcionan con parámetros eléctrico-electrónicos distintos. Las dos técnicas son compatibles y sinérgicas pero no simultáneas, es decir no se aplican a la vez sino una a continuación de la otra.

La Diatermia o hipertermia prepara el terreno por los efectos de vascularización, vasodilatación y activación metabólica que provoca. El incremento del flujo sanguíneo es un factor importante en la facilitación de la absorción percutánea, particularmente vía transepidérmica; es más significativo para los gases y vapores, a los que la piel, como otros muchos tejidos, es muy permeable. Mientras que la electroporación introduce las sustancias que deseamos, en función del tratamiento que se va a realizar.

La sinergia entre ambas técnicas se aprecia rápidamente, mejora considerablemente las prestaciones individuales y completa la realización de los tratamientos (Fig. 30) (176).



Fig. 30. Equipo que incorpora en un solo aparato la diatermia o hipertermia y la electroporación.

(177).

Campos de aplicación:

-Traumatología

-Fisioterapia

-Rehabilitación

-Medicina Deportiva

-Reumatología

-Tratamiento del dolor

-Dermatología

-Enfermedades degenerativas

-Medicina Estética

6.4 Electroporación y promotores químicos

Los promotores de absorción son compuestos químicos, farmacológicamente inactivos, con propiedades fisicoquímicas que permiten modificar reversiblemente la barrera resistente del estrato córneo, ayudando a los fármacos a penetrar más rápidamente en los tejidos, para actuar de manera local o sistémica.

La acción de los promotores de penetración es compleja, sin embargo la mayoría de ellos, químicos, interactúan a nivel intercelular (Figura 30).

Pueden actuar directamente sobre piel (178).

1. Queratina (estrato corneo): modificando su conformación intracelular al desnaturalizarla o modificarla provocando un hinchamiento que incremente la hidratación.
2. Desmosomas: desestabilizar la cohesión que existe en los corneocitos.
3. Lípidos intracelulares: modificar las bicapas lipídicas, empacándose en las mismas provocando una modificación en su configuración.
4. Naturaleza: modificando sus propiedades hidrofóbica.

E indirectamente:

1. Modificando la actividad termodinámica del vehículo.
2. Solubilizando al fármaco.

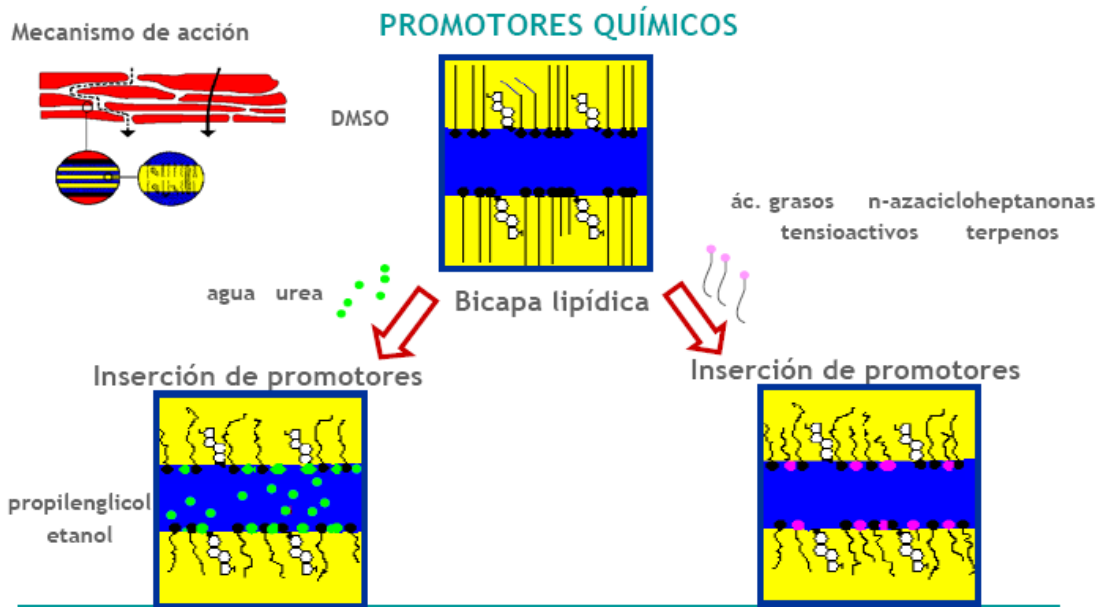


Figura 30. Adición de promotores químicos, estrategia para incrementar la absorción de fármacos.

Al combinar el método de electroporación con promotores químicos, la piel es pretratada con los mismos. De modo tal que al aplicar el fármaco mediante electroporación en la misma zona de pretratamiento con el promotor, la permeación transdérmica se verá aumentada por efecto sinérgico, trayendo como consecuencia la reducción del tiempo de exposición a las pulsaciones y/o al voltaje, esto en beneficio del paciente

VII. COMENTARIOS FINALES

El uso de la vía transdérmica radica en que se evita el efecto del primer paso hepático, sorteando así reacciones adversas debidas a irritación gástrica o hepática, además de que puede ser aplicado el fármaco en diversas partes de la piel según lo requiera el tratamiento, y las reacciones no sobrepasan la sensibilidad propia de la piel. Otra de las ventajas de esta vía con respecto a las demás es que mantiene concentraciones sanguíneas constantes del fármaco, no es invasiva, ni dolorosa además puede administrarse el fármaco a intervalos espaciados de dosificación. Dentro de las formas farmacéuticas a utilizar por esta vía destacan cremas, geles y parches

Existen varios mecanismos por los cuales ocurre el paso de fármacos a través de la piel destacando la vía intercelular, esto es a través de los espacios intercelulares, o transcelular a través de queratinocitos y lípidos.

En la vía transcelular dependerá la naturaleza de la molécula (polaridad) para que la difusión ocurra, ya sea, por disolución en los lípidos de la matriz lipídica, en el caso de los fármacos lipofílicos, o por disolución en el agua que se acumula en el estrato córneo.

En la vía intercelular el paso del principio activo puede ocurrir a través de los canales lipídicos que hay entre los queratinocitos; esta es la principal ruta de paso de fármacos lipófilos a las capas más profundas de la epidermis

Debido a la forma en que se da la liberación de un fármaco al ser aplicado en piel, el fármaco ideal debe tener, en una primera fase, suficiente lipofilicidad para distribuirse en el estrato córneo, pero también debe tener cierta hidrofilia para poder acceder a la circulación sistémica. Por ello éste método es ideal para aquellos fármacos que no cumplen las características anteriores o que tienen alto peso molecular.

En el ámbito cosmético la duración de la terapia es corta de 30 minutos a 1 hora, y para lograr resultados satisfactorios se requieren mínimo 10 sesiones.

Dentro de las variables que influyen en una exposición a electroporación destacan el voltaje, duración de la pulsación y tipo de electrodo a utilizar, ya que los resultados no serán los mismos aún tratándose de la misma zona y/o el mismo individuo si estos factores se modifican. Por ejemplo un voltaje alto y un tiempo de descarga corto produce electroporación transcelular, al revés un voltaje reducido y una descarga más larga se produce una electroporación intercelular. De modo que dependerá el tipo de penetración deseada.

En cuanto a las pulsaciones se destacan 2 protocolos: numerosos >100 , corta duración 1-2ms, alto voltaje
y/o escasos < 20 , larga duración 70-1000 ms, voltaje medio.

Los electrodos se pueden generar fácilmente, solo se necesita una fuente de poder y las celdas, con estos se puede comenzar a realizar estudios de investigación sin la necesidad de tanta inversión como se pensaría; el de forma zigzag es más socorrido debido a que permite localizar mejor el campo eléctrico dentro de las capas superficiales de la piel, evitando efectos indeseables en los tejidos subyacentes, es menos invasivo, esto no implica que sean el único capaz de producir un efecto deseable.

Sin embargo se recomienda un análisis previo al tratamiento, para obtener los mejores resultados con el mínimo de reacciones adversas o molestias.

La razón de combinar la electroporación con otros métodos físicos o químicos de la penetración transdérmica tiene la finalidad de incrementar la eficiencia de la permeación del fármaco y por tanto del efecto deseado; esto es, se potencia la acción, disminuyendo el tiempo de pulsaciones o el grado de voltaje, exponiendo menos al paciente a algún efecto adverso.

VIII. CONCLUSIONES

Es evidente según esta revisión que la electroporación promete mucho para el futuro de transporte transdérmico de fármacos. La electroporación es un método eficiente para incrementar el transporte de material genético *in vitro* e *in vivo*, y actualmente se expande el rango de componentes que pueden ser transportados transdermicamente. Es una alternativa como un transporte no invasivo de macromoléculas (de más de 40 kDa) y de rápido o pausado transporte, sin embargo es necesaria la optimización de los protocolos de pulsaciones así como los diseños de electrodos para reducir los efectos adversos.

Se debe tener presente que el transporte de fármacos asistidos eléctricamente involucra varios procesos químicos, bioquímicos y fisiológicos y hay un traslape en los mecanismos involucrados en el transporte vía electroporación. La electroporación es uno de los métodos más usados, y en combinación con otros métodos como el de iontoforesis hacen que su efecto se potencie; de modo que nuevos desarrollos e investigaciones se esperan en el futuro para hacer este método más versátil.

Dentro de las principales aplicaciones de éste método destacan: la electroporación en biología molecular, electroquimioterapia y electroporación facial.

La primera requiere la introducción de moléculas específicas como genes o fármacos macromoleculares, en células específicas del cuerpo. La segunda combina un fármaco citotóxico con pulsos eléctricos. Y la última es un recurso estético que garantiza la absorción transdérmica de cualquier activo.

IX. REFERENCIAS

- 1) Becker S.M., Kuznetsov A.V. Thermal in vivo skin electroporation pore development and charged macromolecule transdermal delivery: A numerical study of the influence of chemically enhanced coher lipid phase transition temperatures. USA, International Journal of Heat and Mass Transfer 51, (2008) 2060–2074
- 2) http://blogbellezza/la_piel/desarrollo_y_estructura_de_la_piel. (Consultado en 2009).
- 3) http://www.geomundos.com/uruguay/auxfarm2007/estructura-de-la_piel_doc_101006.html. (Consultado en 2009).
- 4) Panchagnula, R. Transdermal delivery of drugs. Ind J Pharmacol (1997) 29: 140-156
- 5) Kneep V.; Hadgraft, J. y Guy R.H. Transdermal drug delivery: Problems and possibilities. CRC Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, (1987) 4(13-37)
- 6) <http://salud.inicia.es/mi-doctor//que-es-la-piel.html>. (Consultado en 2009).
- 7) <http://lapiel.com/frontend/lapiel/noticia.php>. (Consultado en 2009).
- 8) <http://es.ask-schwarzkopf.com/articles/52>. (Consultado en 2009).
- 9) Aiba S, Katz SI. Phenotypic and functional characteristics of in vivo-activated Langerhans cells. Journal of Immunology (1990) 145: 2791-2796.
- 10) <http://www.geocytes.com/pawbill2/EF.html>. (accedido en 2009).
- 11) Tortora Gerard J., Bryan Derrickson. Principios de anatomía y fisiología. México. Médica Panamericana. 2006; pp 143-161
- 12) http://www.farmacia_internacional.net/ms/txt.Barcelona. (Accedido en 2009).
- 13) Menon GK. New insights into skin structure: scratching the surface. Adv Drug Deliv Rev. (2002) 54, S3-17.

- 14) Lampe MA, Burlingame AL, Whitney J, Williams ML, Brown BE, Roitman E, Elias PM. Human stratum corneum lipids: characterization and regional variations. *J. of Lipid Res.* (1983) 24: 120-130.
- 15) <http://www.portalfarma.com> / Consejo general de colegios oficiales de farmacéuticos. (Consultado en 2009).
- 16) <http://www.bdbmedica.com>. (Consultado en 2009).
- 17) Elias PM, Feingold KR. Coordinate regulation of epidermal differentiation and barrier homeostasis. *Skin Pharmacol.* (2001) 14 (1):28-34.
- 18) Jimbow K, Le, SK, King MG, Hara H, Chen H, Dakour J, Marusyk H. Melanin pigments and melanosomal proteins as differentiation markers unique to normal and neoplastic melanocytes. *J. Invest Dermatol* (1993) 100: 259-268.
- 19) Merk, H.F., Jugert, F.K., Frankenberg, S. Biotransformations in the skin, in: *Dermatotoxicology*, F.N. Marzulli and H.I. Maibach (eds.) Taylor & Francis, USA, (1996) pp. 61-73.
- 20) Valia, K.H., Tojo, K., Chien, Y.W. Long-term permeation kinetics of estradiol: (III) Kinetic analysis of the simultaneous skin permeation and bioconversion of estradiol esters, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 11, (1985) 1133-1173.
- 21) Guzek, D.B., Kennedy, A.H., McNeill, S.C., Wakshull, E., Potts, R.O. Transdermal drug transport and metabolism. Comparison of *in vitro* and *in vivo* results, *Pharm. Res.*, 6, 1989; 33-39.
- 22) Yamamoto, T., Yamamoto, Y. Electrical properties of the epidermal stratum corneum, *Med. Biol. Eng.*, (1976) 14, 151-158.
- 23) Kalia, Y. N., Guy, R. H. Interaction between penetration enhancers and iontophoresis: Effect on human skin impedance *in vivo*, *J. Control. Rel.*, 44, (1997) 33-42.

- 24) Alberty, W.J., Hadgraft, J. Percutaneous absorption: *in vivo* experiments. *J. Pharm. Pharmacol.*, 31, (1979) 140-147.
- 25) Flynn, G.L. *Modern pharmaceutics*. Ed. Marcel Dekker, New York, (1990) p. 263-325
- 26) Hadgraf J. *Advances in transdermal drug delivery. Practitioner.* (1996) 240 (1568): 656-658.
- 27) Potts RO, Guy RH. Predicting skin permeability. *Pharm Res.* (1992) 9: 663-669.
- 28) http://www.producción-animal.com.ar/18.el_pelaje_los_medicamentos_y_los_reactivos.pdf. (Consultado en 2009).
- 29) Kalia YN, Guy RH. Modeling transdermal drug release. *Adv Drug Deliv Rev.* (2001) 48 (2-3): 159-72.
- 30) Walters KA, Roberts MS. *The Structure and Function of Skin*, (Ed.) Marcel Dekker (New York), (2002) 1-40.
- 31) Borradori L, Sonnenberg A. Structure and function of hemidesmosomes: more than simple adhesion complexes. *J. Invest. Dermatol.* (1999) 112: 411-418.
- 32) Barry BW. Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. *Eur. J. Pharmacol. Sci.* (2001) 14 (2): 101-114.
- 33) Escobar-Chávez José Juan, Bonilla-Martínez Dalia, Villegas-González Angélica, Revilla-Vazquez Alma Luisa. The electroporation as an efficient physical enhancer for transdermal drug delivery. *J. Clin. Pharmacol.*, (2009), 49(11):1262-83.
- 34) Tacharodi, D. y Paduranga, R., *Biomaterials*, (1995) 16, 145
- 35) McBurney, E.J., Noel, S.B. y Collins, J.H., *J. Am. Acad. Dermatol.*, (1989) 20, 508.

- 36) Ratner, B.D., Hoffman, A.S. en “Hydrogels for Medical and Related Applications”, Andrade, J.D. (editores), ACS Symposium Series 31, American Chemical Society, Washington 1; (1976)
- 37) Jeyanthi, R. y Rao, K.P., *Biomaterials*, (1990) 11, 238.
- 38) Sáez Virginia, Estíbaliz Hernáez y Leyre López. Liberación Controlada de Fármacos. Aplicaciones Biomédicas Grupo de Nuevos Materiales, Facultad de Ciencias, Campus de Lejona (Vizcaya). Universidad del País Vasco. España. *Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 4(2)*, Abril 2003.
- 39) Akomeah F. and Nazir T. Effect of heat on the percutaneous absorption and skin retention of three model penetrants. *Eur J Pharm Sci.* (2004) 21: 337-345.
- 40) Riviere J, Papich M. Potential and problems of developing transdermal patches for veterinary applications. *Adv Drug Deliv Rev.* (2001) 50: 175-203.
- 41) Magnusson BM, Walters KA, Roberts, MS. Veterinary drug delivery: potential for skin penetration enhancement. *Adv Drug Deliv Rev* (2001) 50 (3): 205-227.
- 42) Hotchkiss SA. *Dermal Metabolism*, Ed. Marcel Dekker (New York), (1998) p. 43-101.
- 43) Caron D, Queille-Roussel C, Shah VP, Schaefer H. Correlation between the drug penetration and the blanching effect of topically applied hydrocortisone creams in human beings. *J Am Acad of Dermatol.* (1990) 23: 458-462.
- 44) Monteiro-Riviere N. Altered epidermal morphology secondary to lidocaine iontophoresis: in vivo and in vitro studies in porcine skin. *Fundam. Appl. Toxicol.* (1990) 15, 74-85.

- 45) Barry BW. Breaking the Skin Barrier. *The Nature Biotechnology* (2004) 22: 165-167.
- 46) Ritschel, W. "Pharmacokinetic and Biopharmaceutical Aspects in Drug Delivery", en "Drug Delivery Devices", P. Tyle (editor), Marcel Dekker, Nueva York, (1988) pags. 17-79, .
- 47) Gardner, C.R. en "Drug Delivery Systems: Fundamentals and Techniques", Johnson P.y Lloyd-Jones, J.G. (editores.), VCH Publishers, Nueva York, (1988) pag. 12
- 48) Higaki K, Nakayama K, Suyama T, Amnuait C, Ogawara K, Kimura T. Enhancement of topical delivery of drugs via direct penetration by reducing blood flow rate in skin *Inter. J Pharm.* 2005; 288: 227-233
- 49) Müller M. Permeation, metabolism and site of action concentration of nicotinic acid derivatives in human skin: Correlation with topical pharmacological effect. *Eur J Pharm Sci.* (2003) 20: 181-185.
- 50) Guy RH, Hadgraft J. Physicochemical aspects of percutaneous penetration and its enhancement. *Pharmacol Res.* (1988) 5: 753-758.
- 51) Aungst BJ, Blake JA, Hussain MA. Contributions of drug solubilization, partitioning, barrier disruption, and solvent permeation to the enhancement of skin permeation of various compounds with fatty acids and amines. *Pharmacol Res.* (1990) 7: 712-718.
- 52) Scheuplein RJ. Mechanism of percutaneous absorption. *J Invest Dermatol.* (1965) 45: 334-346.
- 53) Williams AC, and Barry BW. Penetration enhancers. *Adv Drug Del Rev.* 56: 603-618.

- 54) http://www.colegiofarmaceutico.cl/formulaciones_transdermicas.ppt.
(Consultado en 2009).
- 55) S. Bose, W.R. Ravis, Y.J. Lin, L. Zhang, G.A. Hofmann, A.K. Banga, Electrically-assisted transdermal delivery of buprenorphine, *J. Control. Release* 73 (2001) 197– 203.
- 56) Degim I, Acartürk F, Erdogan E, Lortlar DN. Transdermal administration of Bromocriptine. *Biol. Pharm.Bull.* (2003) 26: 501-505.
- 57) Dehghanyar P, Mayer BX, Namiranian K, Mascher H, Mueller M, Brunner M. Topical skin penetration of diclofenac alter single -and multiple dose application. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* (2004) 42 (7): 353-359.
- 58) Barry BW. Drug delivery routes in skin: a novel approach *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2002; 54 (1): 31-40.
- 59) Platt.D. The role of oral disease -modifying agents glucosamine and Chondroitin Sulphate in the management of equine Degenerative joint disease *Equine Vet. Educ./ AE/* 2001; p. 262-263.
- 60) Tachibana T. The Merkel cell: recent findings and unresolved problems. *Archives of Histology and Cytology* (1995) 58: 379-396.
- 61) <http://www.inti.gob.ar/hilo/h8/imagenes>. (Consultado en 2009).
- 62) Cevc G, Schatzlein A, Richardsen H. Ultradeformable lipid vesicles can penetrate the skin and other semi-permeable barriers unfragmented. Evidence from double label CLSM experiments and direct size measurements. *Biochim Biophys Acta* (2002) 1564:21-30.

- 63) Villarino NF, Landoni MF. Administración transdérmica de fármacos, una alternativa terapéutica Cátedra de Farmacología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CONICET. Argentina (2006)
- 64) Karande P, Jain A, Mitragotri S. Discovery of transdermal penetration enhancers by high-throughput screening. *Nature Biotechnology* (2004) 22 (2):192-197.
- 65) Prausnitz. M.R., Mitragotri, S., Langer, R. Current status and future potential of transdermal drug delivery. *Nat Rev Drug Discov.* (2004) 3 (2):115-24.
- 66) Mitragotri S. Breaking the skin barrier. *Adv Drug Deliv Rev.* (2004) 56 (5): 555-556.
- 67) Kim N. El-Khalili M. Henary ML, Strekowski L, Michniak B. Percutaneous penetration enhancement activity of aromatic S,S-dimethyliminosulfuranes. *Inter. J. Pharm* (1999) 187: 219-229.
- 68) Chuong CM, Nickoloff B, Elias P. What is the ‘true’ function of skin? *Exp Dermatol.* (2002) 11: 159-187.
- 69) Mitragotri S, Edwards DA, Blankschtein D, Langer R. A mechanistic study of ultrasonically-enhanced transdermal drug delivery. *J Pharm Sci.* (1995) 84:697-706.
- 70) Ponc M. Skin constructs for replacement of skin tissues for in vitro testing. *Adv Drug Deliv Rev.* (2002)
- 71) Cevc G. Lipid vesicles and other colloids as drug carriers on the skin. *Adv Drug Deliv Rev.* (2004) 56:675-711.

- 72) Torchilin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carries. *Nature Rev Drug Discov.* (2005) 4: 145-160.
- 73) Hammond RA, Hannon R, Frea S. Endotoxin induction of nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in equine alveolar macrophages. *Am J Vet Res.* (1999), 60: 426-431.
- 74) Yair Granot, Boris Rubinsky. Mass transfer model for drug delivery in tissue cells with reversible electroporation. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 51, Elsevier (2008).
- 75) Yeu-Chun Kima, Sameer Lateb, Ajay K. Bangab, Peter J. Ludovicea, Mark R. Prausnitz. Biochemical enhancement of transdermal delivery with magainin peptide: Modification of electrostatic interactions by changing pH. *International Journal of Pharmaceutics.* Elsevier, (2008).
- 76) Barry, B. W. Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J. Control. Rel.*, 6, (1987) 85-97.
- 77) Ganem, R. A., Piñón, S. E., Quintanar, G. D. Uso de promotores de absorción percutánea. *Ciencia Cosmética*, 4, (2), (1998) 19-25.
- 78) A. Jadoul, V. Regnier, J. Doucet, D. Durand, V. Pr  at, X-ray scattering analysis of the stratum corneum treated by high voltage pulses, *Pharm. Res.* (1997), 14: 1275– 1277.
- 79) Escobar-Chávez José Juan, Bonilla-Martínez Dalia, Villegas-González Ang  lica, Rodríguez-Cruz Isabel Marlen, Domínguez-Delgado Clara Luisa. The use of sonophoresis in the administration of drugs through the skin. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, (2009) 12(1): 88-115.

- 80) Escobar-Chávez José Juan, Merino-Sanjuán Virginia, López-Cervantes Miriam, Rodríguez-Cruz Isabel Marlen, Quintanar-Guerrero D., Ganem-Quintanar A.. The use of iontophoresis in the administration of drugs through the skin for smoking cessation. *Current Drug Discovery Technologies*, (2009) 6(3):171-185
- 81) <http://www.backendblog.com/farm3.static.flickr>. (Consultado en 2009).
- 82) Clavijo Grimaldi Dianney, Alfonso García Grégory, Alfonso Casariego Ciro. Nanotecnología en el diagnóstico y tratamiento médico. Univ. Méd. Bogotá, Colombia, (2008), 49 (3): 388-398 2008
- 83) Clavijo D, García G, Clavijo DM, Casadiego C. Zamora R, Alarcón JR, *et al.* De las nanopartículas a los nanodispositivos. *Universitas Médica*. (2006), 46:134-7.
- 84) Jain KK. *Applications of nanobiotechnology in clinical diagnostics*. *Clin Chem*. (2007), 53:2002-9.
- 85) Leary SP, Liu CY, Apuzzo MLJ. *Toward the emergence of nanoneurosurgery: Part I – Progress in nanoscience, nanotechnology, and the comprensión of events in the mesoescale realm*. *Neurosurgery*. (2005), 57:606-34.
- 86) Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. *Nanomedicine: current status and future prospects*. *FASEB J*. (2005), 19:311-30.
- 87) Sahoo SK, Labhasetwar V. *Nanotech approaches to drug delivery and imaging*. *Drug Discov Today*. (2003), 8:1112-20.
- 88) Voura EB, Jaiswal JK, Mattoussi H, *et al.* Tracking metastatic tumor cell extravasation with quantum dot nanocrystals and fluorescence emission-scanning microscopy. *Nat Med*. (2004), 10:993-8.
- 89) Ozkan M. Quantum dots and other nanoparticles: what can they offer to drug discovery? *Drug Discov Today*. (2005), 9:1065-71.
- 90) Sako Y. Imaging single molecules in living cells for systems biology. *Mol Syst Biol*. (2006), 2:56.

- 91) Zhang JA, Anyarambhatla G, Ugwu S, *et al.* Development and characterization of a novel Cremophor EL free liposome-based paclitaxel (LEP-ETU) formulation. *Eur J Pharm Biopharm.* (2005), 59:177-87.
- 92) Verschraegen CF, Gilbert BE, Loyer E, *et al.* Clinical evaluation of the delivery and safety of aerosolized liposomal 9-nitro-20(s)-camptothecin in patients with advanced pulmonary malignancies. *Clin Cancer Res.* (2004), 10:2319-26.
- 93) Zamboni WC, Gervais AC, Egorin MJ, *et al.* Systemic and tumor disposition of platinum after administration of cisplatin or STEALTH liposomal cisplatin formulations (SPI-077 and SPI-077 B103) in preclinical tumor model of melanoma. *Cancer Chemother Pharmacol.* (2004), 53:329-36.
- 94) Donald PR, Sirgel FA, Venter A, *et al.* The early bactericidal activity of a low-clearance liposomal amikacin in pulmonary tuberculosis. *J Antimicrob Chemother.* (2001), 48:877-80.
- 95) Reubi JC. *In vitro* identification of vasoactive intestinal peptide receptors in human tumors: implications for tumor imaging. *J Nucl Med.* (1995), 36:1846-53.
- 96) Sahoo SK, Labhasetwar V., Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discov Today.* (2003), 8:1112-20.
- 97) Pinto Reis C, Neufeld RJ, Ribeiro AJ, *et al.* Nanoencapsulation II: biomedical applications and current status of peptide and protein nanoparticulate delivery systems. *Nanomedicine.* (2006), 2:53-65.
- 98) Koo OM, Rubinstein I, Onyuksel H. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine,* (2005), 1:193-212.
- 99) Clavijo D, García G, Mejía O, *et al.* La frontera entre la biología molecular y la nanotecnología y su impacto en la medicina. *Iatreia,* (2007), 20:297-307.

- 100) Junping W, Takayama K, Nagai T, *et al.* Pharmacokinetics and antitumor effects of vincristine carried by microemulsions composed of PEGlipid, acid, vitamin E and cholesterol. *Int J Pharm.* (2003), 251:13-21.
- 101) Cloninger MJ. Biological applications of dendrimers. *Curr Opin Chem Biol.* (2002), 6:742-8.
- 102) Giraldo J, González E, Gómez-Baquero F. Nanotecnociencia: nociones preliminares sobre el universo nanoscópico. Bogotá. Ediciones Buinaima, (2007).
- 103) Lacerda L, Bianco A, Prato M, *et al.* Carbon nanotubes as nanomedicines: from toxicology to pharmacology. *Adv Drug Deliv Rev.* (2006), 58:1460-70.
- 104) Moghimi SM, Hunter AC, Murray JC. Nanomedicine: current status and future prospects. *FASEB J.* (2005), 19:311-30.
- 105) Harisinghani M, Barentsz J, Hahn P, *et al.* Non invasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer. *N Engl J Med.* (2003), 348:2491-500.
- 106) Rockall A, Sohaib S, Harisinghani M, *et al.* Diagnostic performance of nanoparticle-enhanced magnetic resonance imaging in the diagnosis of lymph node metastases in patients with endometrial and cervical cancer. *J Clin Oncol.* (2005), 23:2813-21.
- 107) Escobar-Chávez J.J., Melgoza-Contreras L.M., López-Cervantes M., Quintanar-Guerrero D., and Ganem-Quintanar A., The tape stripping technique as a valuable tool for evaluating topical applied compounds. In: *Frontiers in Drug Design & Discovery*, Gary W. Caldwell /Atta-ur-Rahman / Z. Yan / M. Iqbal Choudhary (Eds.) Bentham Science Publishers, Vol. 4, (2009), 189-227.

- 108) Denet Anne-Rose, Vanbever Rita, Pr  at Veronique. Skin electroporation for transdermal and topical delivery. Unit   de Pharmacie Galenique, Universit   Catholique de Louvain, Brussels, Belgium (2003).
- 109) Mojca Pavlin, Damijan Miklav  i  . Theoretical and experimental analysis of conductivity, ion diffusion and molecular transport during cell electroporation — Relation between short-lived and long-lived pores.. Slovenia, Bioelectrochemistry (2008), 74: 38–46
- 110) <http://www.oxynergy.com/mesoterapiavirtual/electroporacionfolleto.pdf>. (Consultado en 2009).
- 111) Prausnitz M.R., Bose V.G., Langer R., Weaver J.C., Electroporation of mammalian skin: a mechanism to enhance transdermal drug delivery, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993), 90: 10504– 10508.
- 112) Pliquett U., Langer R., Weaver J.C., Changes in the passive electrical properties of human stratum corneum due to electroporation, Biochim. Biophys. (1995), Acta 1239, 111 – 121.
- 113) Pliquett U.F., Martin G.T., Weaver J.C., Kinetics of the temperature rise within human stratum corneum during electroporation and pulsed high-voltage iontophoresis, Bioelectrochemistry, (2002) (57): 65–72.
- 114) Prausnitz M.R., The effects of electric current applied to the skin: a review for transdermal drug delivery, Adv. Drug Deliv. Rev. (1996),18:395– 425.
- 115) Jadoul A., Bouwstra J., Preat V., Effects of iontophoresis and electroporation on the stratum corneum—review of the biophysical studies, Adv. Drug Deliv. Rev. (1999), 35:89– 105.

- 116) Jadoul A., Tanajo H., Preat V., Spies F., Bodde H., Electroperturbation of human stratum corneum fine structure by high voltage pulses: a freeze fracture electron microscopy and differential thermal analysis study, *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* (1998), 3:153– 158.
- 117) Dujardin N., Staes E., Kalia Y., Clarys P., Guy R., Preat V., In vivo assessment of skin electroporation using square wave pulses, *J. Control. Release*, (2002), 79: 219– 227.
- 118) Zhang L., Li L., An Z.L., Hoffman R.M., Hofmann G.A., In vivo transdermal delivery of large molecules by pressuremediated electroincorporation and electroporation: a novel method for drug and gene therapy, *Bioelectrochem. Bioenerg.* (1997), 42:283–292.
- 119) Rivière J.E., Monteiro-Rivière N.A., Rogers R.A., Bommannan D., Tamada J.A., Potts R.O., Pulsatile transdermal delivery of LHRH using electroporation: drug delivery and skin toxicology, *J. Control. Release* (1995), 36: 229–233.
- 120) Pliquett U., Mechanistic studies of molecular transport due to skin electroporation, *Adv. Drug Deliv. Rev.* (1999), 35: 41–60.
- 121) Vanbever R., Pliquett U.F., Preat V., Weaver J.C., Comparison of the effects of short, high-voltage and long medium voltage pulses on skin electrical and transport properties, *J. Control. Release* (1999), 69: 35– 47.
- 122) Gallo S., Sen A., Hensen M., Hui S., Time-dependent ultrastructural changes to porcine stratum corneum following an electric pulse, *Biophys. J.* (1999), 76:2824– 2832.

- 123) Vanbever R., Fouchard D., Jadoul A., De Morre N., Preat V., Marty J.-P., In vivo non-invasive evaluation of hairless rat skin after high-voltage pulse exposure, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* (1998) 11:23– 34.
- 124) Nickoloff JA. Preface. In: Nickoloff JA, editor. *Electroporation Protocols for Microorganisms*. Totowa, New Jersey: Humana Press (1995), 5.
- 125), Miller EM, Nickoloff JA. *Escherichia coli* Electrotransformation. In: Nickoloff JA, editor. *Electroporation Protocols for Microorganisms*. Totowa, New Jersey: Humana Press (1995), 105.
- 126) Weaver JC. *Electroporation Theory: Concepts and Mechanisms*. In: Nickoloff JA, editor. *Electroporation Protocols for Microorganisms*. Totowa, New Jersey: Humana Press (1995),1.
- 127) Escobar-Chávez J.J., Merino-Sanjuán V., López-Cervantes M., et al. The Tape-Stripping Technique as a Method for Drug Quantification in Skin. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, (2008), 11(1):104-130.
- 128) Escobar-Chávez J.J., Quintanar-Guerrero D., and Ganem-Quintanar A., *In vivo* skin permeation of sodium naproxen formulated in PF-127 gels: Effect of Azone[®] and Transcutol[®], *Drug Develop Ind Pharm.* 2005; 31:447-454.
- 129) Murthy SN, Zhao Y-L, Sen A, Hui SW. Cyclodextrin enhanced transdermal delivery of piroxicam and carboxyfluorescein by electroporation. *J Control Rel.* (2004), 99:393–402.

- 130) Huang JF, Sung KC, Hu O Y-P, Wang JJ, Lin YH, Fang JY. The effects of electrically assisted methods on transdermal delivery of nalbuphine benzoate and sebacoyl dinalbuphine ester from solutions and hydrogels. *Int J Pharm.* (2005), 297:162–171.
- 131) Sung KC, Fang J-Y, Wang JJ, Hu O Y-P. Transdermal delivery of nalbuphine and its prodrugs by electroporation. *Eur J Pharm Sci.* (2003), 18:63–70.
- 132) Fang J-Y, Hwang T-L, Huang Y-B, Tsai Y-H. Transdermal iontophoresis of sodium nonivamide acetate V. Combined effect of physical enhancement methods. *Int J Pharm.* (2002), 235:95–105.
- 133) Vanbever R, Prausnitz MR, Pr at V. Macromolecules as novel transdermal transport enhancers for skin electroporation. *Pharm Res.* (1997), 14(5):638-644.
- 134) Badkar AV, Smith AM, Eppstein JA, Banga AK. Transdermal Delivery of Interferon Alpha-2B using Microporation and Iontophoresis in Hairless Rats. *Pharm Res.* (2007), 24(7):1389-1395.
- 135) Sharma A, Kara M, Smith FR, Krishnan TR. Transdermal Drug Delivery Using Electroporation. II. Factors Influencing Skin Reversibility in Electroporative Delivery of Terazosin Hydrochloride in Hairless Rats. *J Pharm Sci.* (2000), 89:536–544.
- 136) Sharma A, Kara M, Smith FR, Krishnan TR. Transdermal Drug Delivery Using Electroporation. I. Factors Influencing In Vitro Delivery of Terazosin Hydrochloride in Hairless Rats. *J Pharm Sci.* (2000), 89:528–535.

- 137) Murthy SN, Zhao Y-L, Marlan K, Hui SW, Kazim AL, Sen A. Lipid and Electroósmosis Enhanced Transdermal Delivery of Insulin by Electroporation *J Pharm Sci.* (2006), 95:2041-2050.
- 138) Tokumoto S, Higo N, Sugibayashi K. Effect of electroporation and pH on the iontophoretic transdermal delivery of human insulin. *Int J Pharm.* (2006), 326:13-19.
- 139) Medi BM, Singh J. Electronically facilitated transdermal delivery of human parathyroid hormone (1-34). *Int J Pharm.* (2003), 263:25-33.
- 140) Chang S-L, Hofmann GA, Zhang L, Deftos LJ, Banga AK. The effect of electroporation on iontophoretic transdermal delivery of calcium regulating hormones. *J Control Rel.* (2000), 66:127-133.
- 141) Essa EA, Bonner MC, Barry BW. Electrically assisted skin delivery of liposomal estradiol; phospholipid as damage retardant. *J Control Rel.* (2004), 95:535-546.
- 142) Johnson PG, Hui SW, Oseroff AR. Electrically Enhanced Percutaneous Delivery Of d- Aminolevulinic Acid Using Electric Pulses and a DC Potential. *Photochemistry and Photobiology.* (2002), 75(5):534-540.
- 143) Fang JY, Lee W-R, Shen S-C, Fang Y-P, Hu C-H. Dermatological Surgery and Lasers Enhancement of topical 5-aminolaevulinic acid delivery by erbium:YAG laser and microdermabrasion: a comparison with iontophoresis and electroporation. *Brit J Dermatol.* (2004), 151:132-140.
- 144) Regnier V, Tahiri A, André N, Lemaitrec M, Préat V. Electroporation-mediated delivery of 3'-protected phosphodiester oligodeoxynucleotides to the skin. *J Control Rel.* (2000), 67:337-346.

- 145) Zhao YL, Murthy SN, Manjili MH, Guana LJ, Sena A, Hui SW. Induction of cytotoxic T-lymphocytes by electroporation-enhanced needle-free skin immunization. *Vaccine*. (2006), 24:1282–1290.
- 146) Hui SW. The application of electroporation to transfect hematopoietic cells and to deliver drugs and vaccines transcutaneously for cancer treatment. *Technol Cancer Res Treat*. (2002), 1(5):373-384
- 147) Fang JY, Hung CF, Hwang TL, Wong WW. Transdermal delivery of tea catechins by electrically assisted methods. *Skin Pharmacol Physiol*. (2006), 19(1):28-37.
- 148) Marrat F, Levy JL, Santi P, Kalia YN. In vitro evaluation of electrotreatment on skin permeability. *J Cosmet Dermatol*. (2008), 7(2):105-111.
- 149) Sen A, Zhao Y, Zhang L, Hui SW. Enhanced transdermal transport by electroporation using anionic lipids. *J Control Rel*. (2002), 82:399–405.
- 150) Tokudome Y, Sugibayashi K. Mechanism of the synergic effects of calcium chloride and electroporation on the in vitro enhanced skin permeation of drugs. *J Control Rel*. (2004), 95:267– 274.
- 151) Murthy SN, Sen A, Hui SW. Surfactant-enhanced transdermal delivery by electroporation. *J Control Rel*. (2004), 98:307– 315.
- 152) Wong T-W, Zhao Y-L, Sen A, Hui SW. Pilot study of topical delivery of methotrexate by electroporation. *British Journal of Dermatology*. (2005), 152:524– 530.

- 153) Wong TW, Chen Ch-H, Huang Ch-Ch, Lin Ch-D, Hui SW. Painless electroporation with a new needle-free microelectrode array to enhance transdermal drug delivery. *J Control Rel.* (2006) 110:557–565.
- 154) Mossop B.J., Barr R.C., Henshaw J.W., Zaharoff D.A., Yuan F., Electric fields in tumors exposed to external voltage sources: implication for electric field-mediated drug and gene delivery, *Ann. Biomed. Eng.* (2006), 34:1564–1572.
- 155) Serge Mazères, Davorka Sel, Muriel Golzio, Gorazd Pucihar, Youssef Tamzali, Damijan Miklavcic, Justin Teissié. Non invasive contact electrodes for in vivo localized cutaneous electropulsation and associated drug and nucleic acid delivery. *Journal of Controlled Release. France* (2008).
- 156) Rols M.P., Tamzali Y., Teissié J., Electrochemotherapy of horses, a preliminary clinical report, *Bioelectrochemistry* (2002), 55: 101–106.
- 157) Heller R., Schultz J., Lucas M.L., Jaroszeski M.J., Heller L.C., Gilbert R.A., et al., Intradermal delivery of interleukin-12 plasmid DNA by in vivo electroporation, *DNA Cell Biol.* (2001), 20: 21–26.
- 158) Gehl J., Sorensen T.H., Nielsen K., Raskmar P., Nielsen S.L., Skovsgaard T., Mir L.M.,
In vivo electroporation of skeletal muscle: threshold, efficacy and relation to electric field distribution, *Biochim. Biophys.* (1999), Acta 1428, 233–240.
- 159) Hofmann G.A., Instrumentation and electrodes for in vivo electroporation, *Methods Mol. Med.* (2000), 37: 37–62
- 160) Pliquett U., Weaver J.C., Feasibility of an electrode-reservoir device for transdermal drug delivery by noninvasive skin electroporation, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* (2007), 54: 536–538.

- 161) Kennedy S.M., Ji Z., Hedstrom J.C., Booske J.H., Hagness S.C., Quantification of electroporative uptake kinetics and electric field heterogeneity effects in cells, *Biophys. J.* (2008), 94: 5018–5027.
- 162) Zhang L., Rabussay D.P., Clinical evaluation of safety and human tolerance of electrical sensation induced by electric fields with non-invasive electrodes, *Bioelectrochemistry* 56, 2002; 233–236.
- 163) Vanbever R., LeBoulenge E., Preat V., Transdermal delivery of fentanyl by electroporation: Influence of electrical factors, *Pharm. Res.* (1996), 13: 559– 565.
- 164) <http://www.ecleris.com/es/electroporacion.php>. (Consultado en 2009).
- 165) <http://www.medita.com>. (Consultado en 2009).
- 166) <http://www.sisneo.com>. (Consultado en 2009).
- 167) Elke De Vuyst, Marijke De Bock, Elke Decrock, Marijke Van Moorhem, Christian Naus, y Cyriel Mabilde, and Luc Leybaert. In Situ Bipolar Electroporation for Localized Cell Loading with Reporter Dyes and Investigating Gap Junctional Coupling, *Biophysical Journal* Volume 94 January, (2008), 469–479
- 168) Yang Sarah, New medical technique punches holes in cells, could treat tumors 2007.
- 169) <http://es.wikipedia.org>. (Consultado en 2009).
- 170) Kost J., Pliquett U., Mitragotri S., Yamamoto A., Langer R., Weaver J., Synergistic effect of electric field and ultrasound on transdermal transport, *Pharm. Res.* (1996), 13: 633– 638.
- 171) Mitragotri S., Synergistic effect of enhancers for transdermal drug delivery, *Pharm. Res.* 17, 2000; 1354– 1359.

- 172) Bommannan D.B., Tamada J., Leung L., Potts R.O., Effect of electroporation on transdermal iontophoretic delivery of luteinizing- hormone-releasing hormone (LHRH) in vitro, *Pharm. Res.* (1994), 11: 1809–1814.
- 173) Chang S.L., Hofmann G.A., Zhang L., Deftos L.J., Banga A.K., The effect of electroporation on iontophoretic transdermal delivery of calcium regulating hormones, *J. Control. Release* (2000), 669: 127– 133.
- 174) Fang J.Y., Hwang T.L., Huang Y.B., Tsai Y.H., Transdermal iontophoresis of sodium nonivamide acetate-V. Combined effect of physical enhancement methods, *Int. J. Pharm.* (2002), 235: 95– 105.
- 175) Denet A.-R., Ucakar B., Preat V., Transdermal delivery of timolol and atenolol using electroporation and iontophoresis in combination: a mechanistic approach, *Pharm. Res.* (2003), 20: 1946–1951.
- 176) Chen T, Langer R, Weaver JC. Skin electroporation causes molecular transport across the stratum corneum through localized transport regions. *J Investig Dermatol Symp Proc.* (1998), 3(2):159-165.
- 177) <http://www.bdbmedica.com>. (Consultado en 2009).
- 178) Barry, B. W. Mode of action of penetration enhancers in human skin. 1, *Journal of Controlled Release*, Vol. 6, (1987), pp. 85-97.