



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAestrÍA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS QUÍMICAS**

**EVALUACIÓN IN VITRO DE LA DIFUSIÓN DE
ACETONIDO DE FLUOCINOLONA ANHIDRA EN
CREMA UTILIZANDO DIFERENTES MEMBRANAS**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN FARMACIA (BIOFARMACIA)

PRESENTA

Q.F.B. GLADIS GONZÁLEZ MUCINO

TUTOR:



DRA. INÉS FUENTES NORIEGA

AÑO: 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



LIC. BALFRED SANTAELLA HINOJOSA
Coordinador de la Unidad de Administración del Posgrado
Presente

Me es grato informarle que el Comité Académico, autorizó a la alumna **GLADIS GONZALEZ MUCIÑO**, con número de cuenta 91810658 y expediente 5911050, presentar su examen para optar por el grado de Maestra en Farmacia (Biofarmacia), quien defenderá el proyecto de investigación titulado: **“Evaluación *in vitro* de la difusión de acetónido de fluocinolona anhidra en crema, utilizando diferentes membranas”**, realizado bajo la supervisión de la Dra. Inés Fuentes Noriega, ante el siguiente jurado:

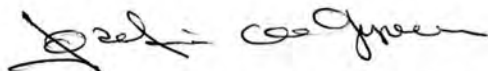
Presidente	Dr. Carlos Hoyo Vadillo	Cinvestav, IPN
Vocal	M. en C. Oscar Abundis Canales	Institución Privada
Vocal	M en C. Sofía Margarita Rodríguez Alvarado	Facultad de Química, UNAM
Vocal	Esp. Est. Ramón Rodríguez Hernández	Laboratorios Liomont, S.A. de C.V.
Secretario	M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña	UAM-Xochimilco

Nota: Se recuerda a los miembros del jurado que el plazo máximo para revisión de la tesis es de 30 días naturales a partir de la recepción de la misma.

Este oficio cancela y sustituye al de fecha 23 de agosto de 1995.

Sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, D.F. a 14 de febrero de 2011.
Atentamente.



DRA. JOSEFINA DE GYVES MARCINIAK
Coordinadora del Programa

c.c.p. Integrantes del Jurado
Alumno
Expediente
Sección Escolar de la Coordinación de Posgrados, Facultad de Química

Agradecimientos



Facultad de Química

Agradezco a todos mis maestros, amigos y compañeros por el apoyo incondicional para poder finalizar este ciclo.



Hospital General
de México

"A la Vanguardia en
el Cuidado de la Vida"

Hospital General del D.F. Área de Oncología.

A toda el área medica y su equipo que hicieron posible realizar esta investigación, con el apoyo de las muestras de piel humana.

Q.F.B. Alexandro Bonifaz Trujillo por su apoyo y compañerismo, muchas gracias.



Especialmente al Dr. Carlos Hoyo Vadillo, por impulsarme y motivarme a continuar con este trabajo.

Agradezco la confianza de CONACYT y resultando ser una ciudadana más que disfrutara de los beneficios que brinda este Organismo Federal y que hizo posible cumplir esta meta

Becada por

CONACYT Referencia Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología Cuenta No. CN62429.

Tema expuesto en los siguientes Congresos:

- VIII Congreso Nacional de Química Analítica 25 de junio de 1993.
- Primer coloquio de Biofarmacia 10 de septiembre de 1993.
- XXVI Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas 11 de Noviembre de 1993.
- I Congreso de Química Perinatal y VI Reunión de Químicos IMPer. 7 de diciembre de 1993.



Agradecimientos

Agradezco a Dios por el presente de la vida.

A mis queridos padres:

**A mi Mamita María Silvia Muciño ArroyoLópez y
A mi Padre Hilario González Álvarez, que han dado la vida por mí.**

A mis hijos:

**J. Bruno que es la Ternura de mi vida, gracias por estar con migo.
Arón Moisés, Gabriel y Gabriela, que los llevo en mi corazón.**

A mis queridos hermanos:

**Silvia Elizabeth, Ernesto, Marisela, L. Hilario, E. Ulises, Miriam Susana,
Sócrates Abraham González Muciño, por todo su cariño, tenacidad y
fortaleza que me han enseñado.**

A todos mis amigos y amigas pero un reconocimiento muy en especial a:

**Dra. Helgi J.C., Dra. Inés F. N., Margarita S., Angélica, Clara, María
Teresa, Alejandro, Noe, Alfredo.**

Por los amigos que se nos han adelantado:

**Eduardo Ramírez, Patricia López, por la amistad que en su momento
me pudieron brindar muchas gracias.**



ÍNDICE

1 Justificación	12
2 Resumen	13
3 Generalidades	14
4 Propiedades Físicoquímicas del Acetonido de Fluocinolona Anhidra (A.F.A)	34
5 Aspectos farmacocinéticos	41
6 Métodos Analíticos Reportados	44
7 Objetivos Generales	45
8 Hipótesis	46
9 Parte Experimental	46
10 Método analítico para la cuantificación de A.F.A. por el método de HPLC	49
11 Descripción del método para el perfil de difusión de A.F.A. en diferentes membranas	52
12 Membranas de difusión	54
13 Método analítico	55
14 Validación del método	56
15 Validación de la Celda de Franz	58
16 Resultados	59
17 Especificidad	67
18 Difusión de A.F.A.	70
19 Cinética de las membranas	84
20 Discusión de Resultados	89
21 Cinética de difusión de las membranas naturales y artificiales	94
22 Conclusiones	95
23 BIBLIOGRAFIA	96
24 APENDICE A GLOSARIO	103
Proteína transmembranal	107
25 Estructura y patología de la piel	114
26 www.uv.es/derma Dr. Víctor Alegre de Miquel	122



ÍNDICE DE FIGURAS

NÚMERO DE PÁGINA

▪ Figura No. 1 Fisiología de la piel de humana.	18
▪ Figura No. 2 Estrato corneo.	19
▪ Figura No. 3 Sistema de absorción percutánea con 6 Celdas de Franz	22
▪ Figura No. 4 Proceso de absorción de una droga por vía dérmica	24
▪ Figura No. 5 Cilindro rotatorio aparato 3 propuesto por USP/NF	31
▪ Figura No. 6 Equipo automuestreador empleando celdas de difusión de Franz.	34
▪ Figura No. 7 Modificación de la celda de difusión de Franz.	35
▪ Figura No. 8 Celda Típica de difusión percutánea lado por lado.	35
▪ Figura No. 9 Formula desarrollada de acetónido de fluocinolona anhidra (AFA)	36
▪ Figura No. 10 Producción de glucocorticoides	39
▪ Figura No. 11 Mecanismos de acción de los corticoesteroides	40
▪ Figura No. 12 Preparación de solución de AFA.	52
▪ Figura No. 13 Celda de Franz	56
▪ Figura No. 14 Cromatogramas de Acetónido de fluocinolona (AFA)	63
▪ Figura No. 15 Linealidad del Método AFA, Concentración Vs tiempo	64
▪ Figura No. 16 Repetibilidad del método	66
▪ Figura No. 17 Reproducibilidad del método	67
▪ Figura No. 18 Estabilidad del Método -15° C	68
▪ Figura No. 19 Estabilidad del método a temperatura ambiente	69
▪ Figura No. 20 Especificidad del método utilizando la celda de Franz a través de la membrana artificial (Blanco).	70
▪ Figura No. 21 Especificidad utilizando la celda de Franz, a través de la piel de cerdo (Blanco).	70
▪ Figura No. 22 Especificidad utilizando la celda de Franz, a través de la piel humana (Blanco).	70
▪ Figura No. 23 Especificidad utilizando la celda de Franz, crema de A.F.A. con paso a través de membrana artificial.	71
▪ Figura No. 24 Especificidad utilizando la celda de Franz, crema de A.F.A. con paso a través de piel de cerdo.	71
▪ Figura No. 25 Especificidad utilizando la celda de Franz, crema de A.F.A. con paso a través de piel humana.	71
▪ Figura No. 26 Porcentaje de difusión en membrana artificial	73
▪ Figura No. 27 Cantidad acumulada en membrana artificial	74
▪ Figura No. 28 Porcentaje de difusión en piel de cerdo	75

▪ Figura No. 29 Cantidad acumulada en piel de cerdo	76
▪ Figura No. 30 Porcentaje de difusión en piel humana	77
▪ Figura No. 31 Cantidad acumulada en piel humana	78
▪ Figura No. 32 Logaritmo del porcentaje difundido de AFA en membrana artificial contra tiempo en horas	79
▪ Figura No. 33 Logaritmo del porcentaje difundido de AFA en membrana de cerdo contra tiempo en horas	80
▪ Figura No. 34 Logaritmo del porcentaje difundido de AFA en membrana de cerdo contra tiempo en horas	81
▪ Figura No.35 Promedio del porcentaje de difusión de A.F.A. membrana artificial, piel de cerdo y piel humana.	83
▪ Figura No. 36 Máximos y mínimos del porcentaje de difusión de A.F.A en las diferentes muestras.	84
▪ Figura No. 37 Log. promedio del porcentaje de difusión en las diferentes muestras.	85
▪ Figura No. 38 Valor de “y”	86
▪ Figura No. 39 Valor de las constantes de velocidad “K”	* 87
▪ Figura No. 40 Se aplico la prueba de NOM MEM para estimar la cinética de difusión de A.F.A. en la membrana artificial	88
▪ Figura No. 41 Se aplico la prueba de NOM MEM para estimar la Cinética de A.F.A en la piel de cerdo	89
▪ Figura No. 42 Se aplico la prueba de NOM MEM para estimar la cinética de A.F.A. en la piel humana	90



ÍNDICE DE TABLAS

NÚMERO DE PÁGINA

▪ Tabla No. 1. Composición del modelo lípido epidermal abdomen de humano	20
▪ Tabla No. 2. Composición del modelo lípido epidermal de cerdo	20
▪ Tabla No. 3. Solubilidad mg/ mL, A.F.A.	38
▪ Tabla No. 4. Estabilidad Acelerada de A.F.A.	38
▪ Tabla No. 5 Condiciones cromatográficas de A.F.A. encontradas en la literatura	46
▪ Tabla No. 6 Condiciones cromatográficas para la detección de A.F.A. en el método experimental.	55
▪ Tabla No. 7 Condiciones Cromatográficas para la determinación de A.F.A. Final.	58 y 63
▪ Tabla No. 8 Muestras aleatorias de las 3 membranas para la determinación del porcentaje de difusión de A.F.A.	54
▪ Tabla No. 9 Diferentes condiciones cromatográficas para el análisis de A.F.A.	62
▪ Tabla No. 10 Linealidad del método.	64
▪ Tabla No. 11 Repetibilidad del sistema en el cromatografo Gold System	65
▪ Tabla No. 12 Repetibilidad del sistema en el cromatografo Gold System	65
▪ Tabla No. 13 Reproducibilidad del método	66
▪ Tabla No. 14 Estabilidad de muestra -15 °C, A.F.A.	68
▪ Tabla No. 15 Estabilidad de muestra T.A. A.F.A.	69
▪ Tabla No.16 Resultados del porcentaje difundido de A.F.A. membrana artificial	72
▪ Tabla No 17 Resultados de la cantidad acumulada de A.F.A. en la membrana artificial	74
▪ Tabla No.18 Resultados del porcentaje difundido de A.F.A. en piel de cerdo	75
▪ Tabla No 19 Resultados de la cantidad acumulada de A.F.A. en piel de cerdo	76
▪ Tabla No.20 Resultados del porcentaje difundido de A.F.A. en piel humana	77
▪ Tabla No 21 Resultados de la cantidad acumulada de A.F.A. en piel humana	78

- TABLA No. 22 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana artificial contra tiempo en horas en Celda de Franz 79
- TABLA No. 23 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana de piel de cerdo contra tiempo en horas en Celda de Franz 80
- TABLA No. 24 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana de humano contra tiempo en horas en Celda de Franz 81
- Tabla No. 25 Promedio del porcentaje de difusión de A.F.A en diferentes membrana 82
- Tabla No. 26 Prueba de ANOVA para las 3 membranas. 83
- Tabla No. 27 Análisis de Varianza entre la membrana artificial y la piel humana. 84
- Tabla No. 28 Porciento de difusión de AFA entre las tres membranas 84
- Tabla No. 29 Máximos y mínimos de difusión de AFA en las diferentes membranas 85
- Tabla No. 30 Valor de K 87
- Tabla No. 31 Se aplica la prueba de NOM MEM para estimar la cinética de difusión de A.F.A. en la membrana Artificial 88
- Tabla No. 32 Se aplica la prueba de NOM MEM para estimar la cinética de difusión de A.F.A. en piel de Cerdo 89
- Tabla No. 33 Se aplica la prueba de NOM MEM para estimar la cinética de difusión de A.F.A. en piel humana 90

1 Justificación

Los métodos de control de calidad actuales para las formas farmacéuticas semisólidas están basadas en especificaciones organolépticas, especificaciones fisicoquímicas y de contenido, sin embargo, no se han desarrollado especificaciones sobre la cinética de liberación que deben presentar (como en el caso de formas farmacéuticas sólidas), lo anterior se ha debido probablemente a que este tipo de medicamentos presentan acciones de tipo local y solo en algunos casos muy específicos de tipo sistémico.

En los últimos años se ha encontrado que la liberación de fármacos de formas farmacéuticas semisólidas se ha incrementado, como también es una condición primordial para el efecto terapéutico, además de presentar diferencias importantes de lote a lote y diferencias de biodisponibilidad mas marcadas entre diferentes bases. Por lo anterior se empieza a vislumbrar la necesidad de establecer técnicas que ofrezcan la posibilidad de determinar la difusión del fármaco a partir de su base, y así ofrecer una repetibilidad adecuada para un tipo de base específico del proceso de manufactura a las variaciones de los parámetros fisicoquímicos del medicamento (como la viscosidad);este tipo de determinaciones se deberá basar en dos parámetros importantes, el primero la difusión del fármaco para ser liberado de la base donde se encuentren distribuidos, y la permeación que presente con las membranas, con las que se encuentre en contacto en el sitio de aplicación. Existen diferentes técnicas por las cuales se pueden estimar los parámetros antes mencionados, sin embargo, no existe un acuerdo general sobre el tipo de técnica a emplear, dado que los resultados obtenidos con diferentes técnicas pueden llegar a conclusiones diferentes.

2 Resumen

El acetónido de fluocinolona es un adreno corticosteroide no esteroidal empleado en enfermedades cutáneas. Las presentaciones farmacéuticas para tratamientos de la piel que contienen acetónido de fluocinolona, están indicadas para aliviar la inflamación y el prurito asociado a enfermedades que responden a los corticosteroide.

La penetración percutánea a través del estrato córneo se hace en forma pasiva y la capacidad de penetración del corticosteroide estará determinada por el grosor de la capa córnea.

En el presente trabajo se empleo la celda de difusión de Franz para determinar el porcentaje de difusión de fluocinolona en tres diferentes membranas a) piel de humano zona de mama (la piel de mama fue donada por el área de Oncología del Hospital General del D.F., post operatorias y se utilizaba tan solo un corte por muestra de piel), b) piel de cerdo y c) membrana artificial, se tomaron muestras a diferentes tiempos y se analizaron utilizando una técnica de cromatografía líquida de alta resolución, utilizando detector de ultravioleta-visible. El método analítico empleado se validó demostrando ser lineal en un intervalo de concentración de 0.048 - 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, repetible intradía, reproducible entre diferentes analistas, concentración mínima cuantificable de 0.048 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y concentración mínima de tectable fue de 0.012 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Los resultados obtenidos muestran diferencias en la difusión entre las diferentes membranas encontrando ser de 98.61 % para la piel de cerdo, 94.48 % para la membrana artificial y de 69.57 % para la piel del humano.

3 Generalidades

3.1 Estructura de la piel

La fisiología de la piel como del estrato córneo se muestra en la Fig. No. 1 y 2 respectivamente. El papel primario de la piel es actuar como una barrera y esto se cumple bien por su estructura. Es un epitelio de capas múltiples de células escamosas. La capa mas externa, el estrato córneo, es crucial para la impermeabilidad relativa de la piel a los agentes químicos y físicos. Esta capa se compone de células enucleadas que provienen de los queratinocitos en la capa epidermal basal. Cada córneocito esta lleno de filamentos de α -queratina (una proteína estructural) sumergidos en una matriz amorfa rica en puentes disulfuro. Cada célula esta rodeada por una cubierta espesa de involucrina, una proteína filamentosa, y los espacios intercelulares contienen lípidos laminares fuertemente hidrófobos. Esta estructura de "ladrillos" hidrófilos en una "mezcla" lipídica hidrófoba, es una barrera eficaz para sustancias hidrófilas e hidrófobas. La composición de la piel de humano se muestra en la tabla No. 1. La piel de cerdo tabla No. 2 se ha empleado como modelo fisiológico por su parecido con la piel de humano.

Muchos estudios se han realizado empleando modelos animales, debido a los problemas relacionados con la piel humana, la variabilidad de la respuesta de acuerdo al sitio y al sujeto y a la dificultad para obtener la piel humana. Los principales modelos animales son: ratones lampiños, cobayos, ratas y conejos. Además de los modelos animales se han hecho estudios utilizando la muda de la piel de serpiente. Esta presenta similitudes con la estructura interna de la piel humana, la composición lipídica y la permeabilidad del agua.^{1,2,75}

La piel funciona como un reservorio para los fármacos y como un lugar para su metabolismo también en sí mismo, un órgano inmunológicamente activo y la manipulación farmacológica de la piel puede tener efectos profundos sobre procesos sistemáticos, y por supuesto, de este modo puede hacerse un control directo y continuo de los efectos de los fármacos, aun que no siempre en forma cuantitativa.

La principal función de la piel es proteger el cuerpo de agentes externos y la deshidratación, esta es más o menos permeable a sustancias químicas y los fármacos deben ser absorbidos por esta vía en condiciones definidas.

3.2 Las preparaciones tópicas

En este caso se desea una acción local sobre el estrato córneo, sin penetración y absorción del fármaco. Este tipo de aplicación se desarrolla en cosmetología y en terapéutica especialmente en el caso de antibióticos y preparación antifúngicos.

Preparaciones endodérmicas: la difusión de la sustancia es más importante, pero el fármaco no alcanza la circulación sistémica. El fármaco difundirá desde el estrato córneo hacia la dermis. La principal aplicación de este tipo de preparados con las formulaciones de antiinflamatorios, especialmente de corticosteroides.²

Preparaciones transdérmicas: En este caso la piel es una ruta de administración y el fármaco difundirá desde el estrato córneo hasta la hipodermis y alcanzará la circulación sistémica. Los parches transdérmicos pueden ser definidos, con el objeto de administrar un fármaco y alcanzar un efecto sistémico. Un parche transdérmico es un sistema multicapas con las siguientes vías dérmicas.

Sistema de reservorio: el fármaco se mantiene dentro de un reservorio con una membrana de permeabilidad selectiva. La membrana controlará la liberación del fármaco y la difusión a través de la piel. El estrato córneo no es el factor limitante de la penetración, la membrana creará un sistema de liberación controlado con una liberación que sigue una cinética de orden cero.

Sistemas matriciales: estos sistemas monolíticos están constituidos por un disco polimérico de grosor y área definidas, en el cual el fármaco está uniformemente dispersado.²

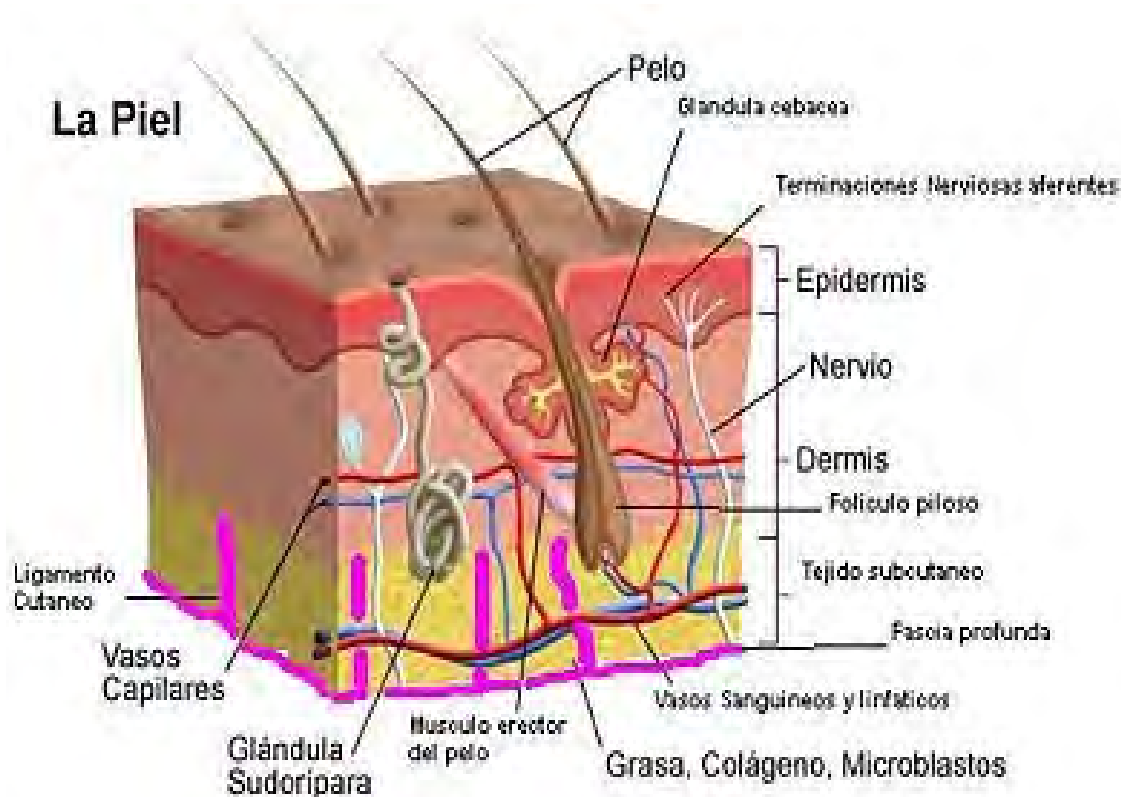


Figura No. 1 Fisiología de la piel humana.

- Capa protectora externa

_Reservorio del fármaco (suspensión, gel, film)

>Membrana para controlar la liberación en el caso de sistemas de reservorio.

<Capa adhesiva

X Capa protectora interna (para ser removida)

La determinación de la biodisponibilidad de las formulas tópicas es un proceso complejo, debido a que múltiples factores están involucrados. En primer lugar, el principio activo debe ser liberado desde la preparación y este proceso puede involucrar varias etapas, luego el fármaco debe alcanzar el tejido adiposo blanco ya sea en algún lugar de la piel o lejos del sitio de administración sobre la superficie de la piel.^{1,2 y 75}

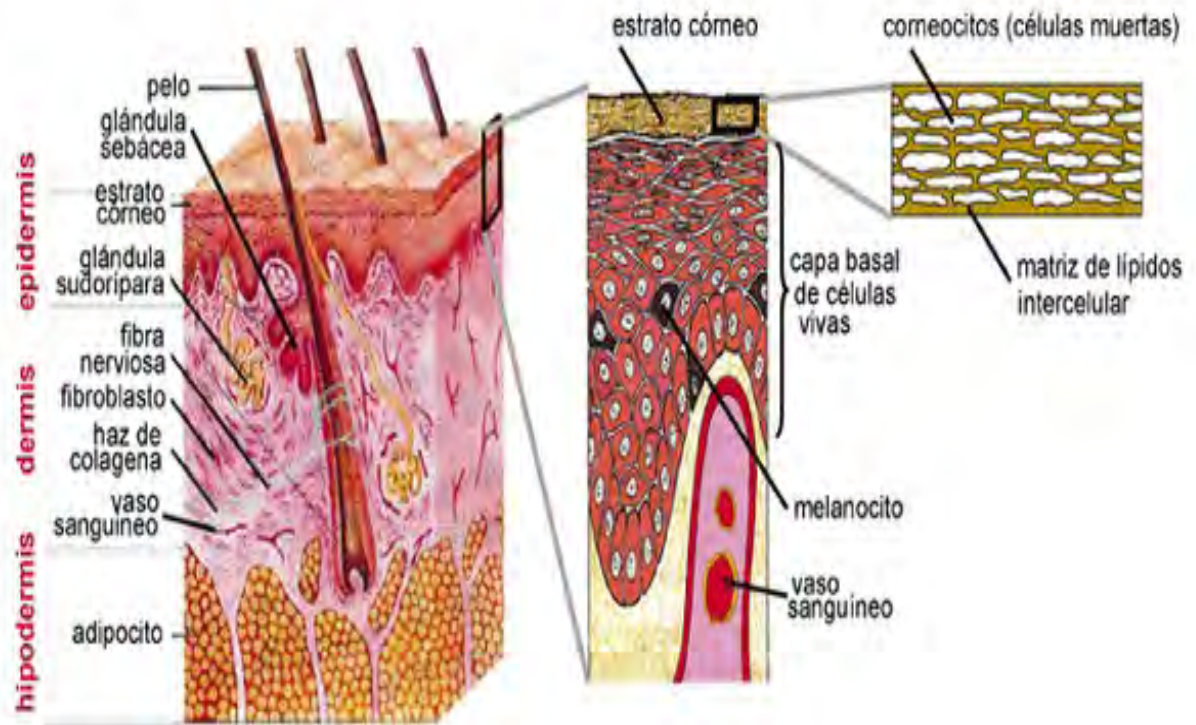


FIGURA No. 2 Estrato Córneo

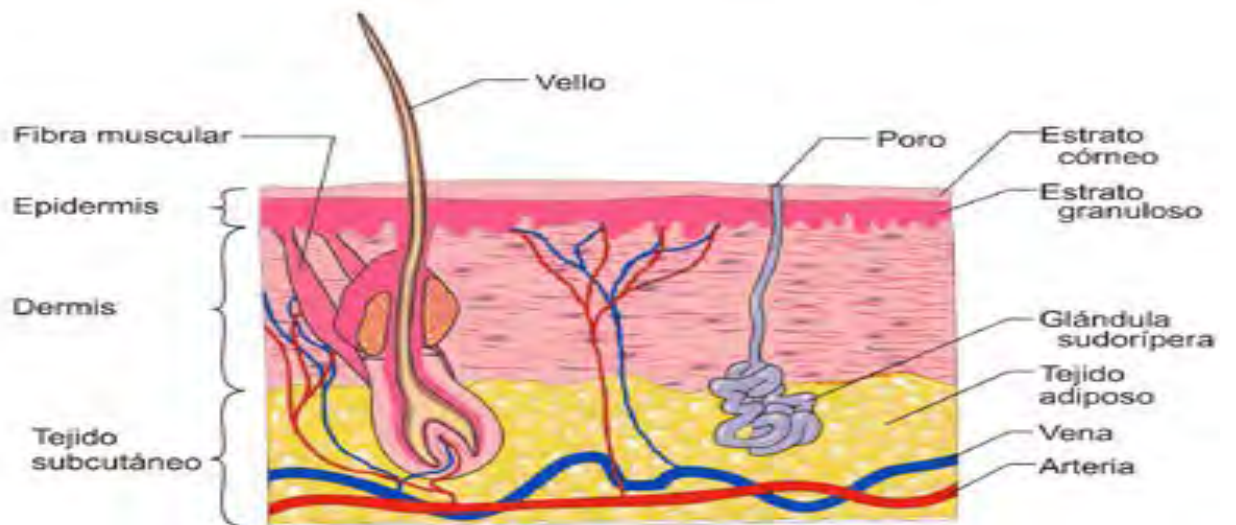


Figura No. 1 Fisiología de la piel humana.

Derivado de que en nuestro estudio se decidió estudiar con piel de cerdo ya es el modelo que al parecer presenta mayor similitud en la composición de lípido epidermal en relación a la piel humana, a continuación se detalla la composición de ambos modelos:

Tabla No. 1 Composición del modelo lípido epidermal Abdomen de Humano.

Componentes	Mezcla en porcentaje %
Ácidos grasos libres	19
Ácido oleico	33.1
Ácido linoleico	12.5
Ácido Palmitoleico	3.6
Ácido esteárico	9.9
Ácido Murístico	3.8
<i>Fosfatidiletanolamina</i>	5
Colesterol	14
Sulfato de colesterol	2
Trioleina	25
Ester palmitil ácido oleico	6
Escualeno	7
Ceramidas (tipo III)	7
Pristona	4
Ácido palmico	36.8

Tabla No. 2 Composición del modelo lípido epidermal de Cerdo

Tipos de lípidos	Enfermedad de Malpigi	Células granulares	Estrato córneo
Ácidos grasos libres	6.7%	16.5%	26.0%
Triglicérido	7.5%	2.4%	2.6%
Fosfolípidos	65.6%	25.6%	0.0%
Colesterol	8.7%	21.3%	19.6%
Ester colesterol	0.9%	0.7%	0.7%
Ceramidas	0.9%	15.6%	49.2%
Ceramide Glucocilo	7.3%	9.0%	0.0%
Hidrocarburo	2.4%	8.9%	0.0%

Existen amplias pruebas de que el estrato córneo es la barrera primaria para la absorción de los fármacos a través de la piel. Los porcentajes de penetración de sustancias químicas a través de la piel viva y muerta son casi iguales, lo mismo que aquellos a través del estrato córneo y piel entera aislados. Si se despoja a la piel de su estrato córneo, se incrementa en forma pronunciada la penetración de agentes que de otro modo estarían excluidos.^{5,6}

La calidad de la piel está determinada por el grosor, el grado de hidratación, los cambios circulatorios; el metabolismo, etc.^{6,7y8} La impermeabilidad cutánea general implica desventajas y ventajas para la administración de fármacos con el objeto de alcanzar efectos sistémicos. La absorción de fármacos aplicados en forma tópica en la piel es lenta e incompleta, se alcanzan porcentajes máximos después de 12 a 24 horas, por ello es que no pueden darse grandes cantidades de fármaco con rapidez.

El paso de una molécula a través de las diversas capas de la piel presenta una gran oportunidad para la liberación de fármacos en sitios específicos. La piel es uno de los órganos más extensos (aproximadamente 18,000 m²) y más irregular del cuerpo humano, funcionando como una barrera protectora, sensitiva y regulatoria de funciones. Cuando la piel se encuentra intacta pueden penetrar un sin número de plaguicidas por ejemplo, los organofosforados, los disolventes orgánicos como el benceno y el tolueno, también resulta ser vulnerable a los agentes irritantes, desecantes y queratolíticos. Cuando en una aplicación local, se presenta un exceso de absorción percutánea de químicos o fármacos pueden provocar irritación, sensibilización o efectos colaterales sistémicos.⁹

3.3 Principios de la absorción percutánea

Algunos compuestos se absorben bien por vía cutánea a pesar de su baja permeabilidad. Cuando un corticoide tópico es empleado debe, por lo tanto fundamentarse en las

características intrínsecas del corticosteroide, el vehículo que permite la liberación rápida del corticosteroide en el estrato córneo, en el cual el corticoide está incorporado y la calidad de la piel. El porcentaje de difusión de un fármaco a través de la membrana epidérmica, está determinada por la estructura química, la constante de disociación, el área superficial de aplicación, la constante de difusión del fármaco en el estrato córneo y el coeficiente de distribución del fármaco entre el estrato córneo y el vehículo.^{10, 11, 66, 74}

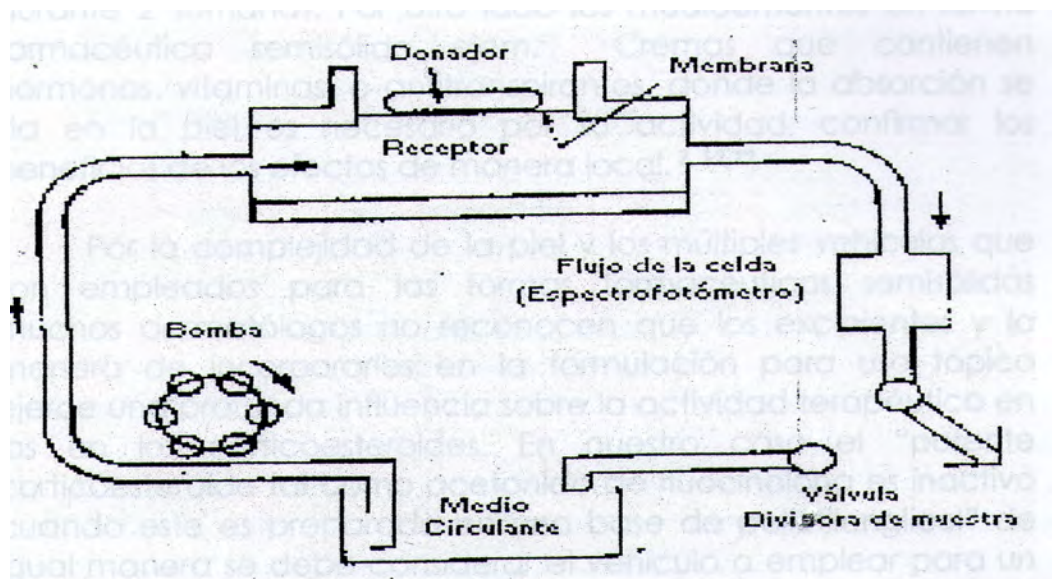


Figura No. 3 Sistema de absorción percutánea con 6 celdas de Franz

La difusión simple. Es el paso de pequeñas moléculas la cual va de una zona de mayor a menor concentración, puede realizarse a través de la bicapa lipídicas o a través de canales proteicos, difusión simple a través de la bicapa (Ver Fig. No. 2), así entran moléculas lipídicas como las hormonas esteroideas, anestésicos como el éter y fármacos lipídicos.

La constante de difusión es una medida de la movilidad del fármaco a través de la matriz de la barrera; el aumento del tamaño molecular o la alteración del agente para mejorar su interacción con la barrera disminuyen la constante de difusión. El aumento de la liposolubilidad del fármaco suele aumentar su coeficiente de distribución entre la barrera y el vehículo, y en consecuencia su permeabilidad.^{6 y 13}

La piel, puede funcionar como un reservorio de agentes farmacológicos, en especial de fármacos lipofílicos. Por ejemplo, la aplicación de un corticosteroide tópico bajo oclusión durante 24 horas establece un reservorio que puede persistir durante 2 semanas. Por otro lado los medicamentos en forma farmacéutica semisólidas, cremas que contienen hormonas, vitaminas, o antitranspirantes, donde la absorción se produce en la piel, es necesario por su actividad, confirmar los beneficios de los efectos de manera local.^{7, 12,72}

Por la complejidad de la piel y los múltiples vehículos que son empleados en las formas farmacéuticas semisólidas muchos dermatólogos no reconocen que los excipientes y la manera de incorporarlos en la formulación para uso tópico ejercen una profunda influencia sobre la actividad terapéutica de corticosteroides. En nuestro caso el “potente corticosteroide tal como acetónido de fluocinolona es inactivo cuando éste es preparado en una base de polietilenglicol”, de igual manera se debe considerar el vehículo a emplear para un corticosteroide ya que tiene como propósito contener la sustancia activa y liberarla rápidamente al ponerse en contacto con la capa córnea. En algunos casos (por ejemplo propilenglicol),² el vehículo por sí mismo puede facilitar la penetración percutánea del corticosteroide, además de liberarlo rápidamente. También otros factores deben ser considerados en la absorción percutánea como las propiedades fisicoquímicas y los aspectos de la estructura molecular del fármaco.^{11,28}

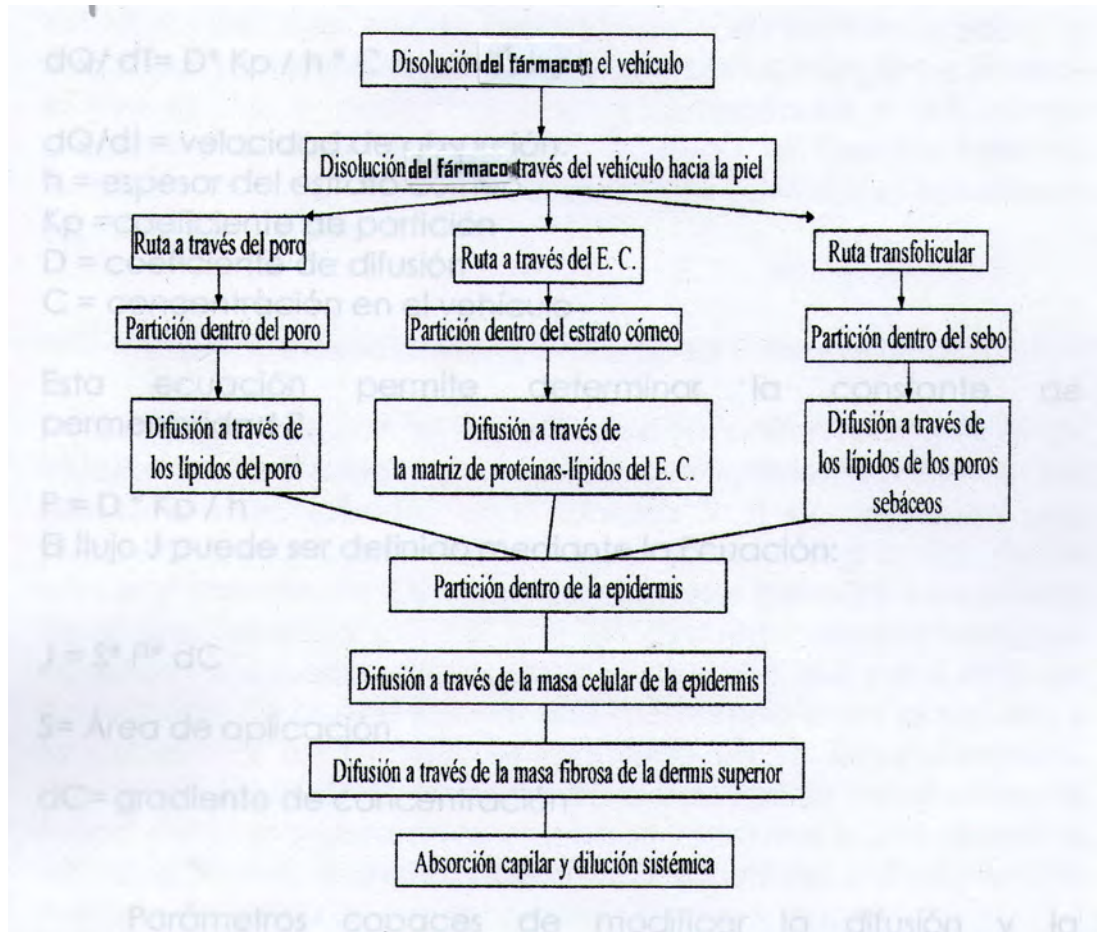


Figura No. 4 Proceso de absorción de un fármaco por vía dérmica

3.4 Factores que intervienen en el mecanismo de absorción en piel

Teniendo en consideración las interacciones entre el fármaco, la piel y los excipientes, los mecanismos de absorción percutánea pueden ser explicados simplemente utilizando el mecanismo de difusión pasiva.

Las etapas limitadas son:

- Coeficiente de partición del fármaco entre el excipiente y la piel
- Solubilidad del fármaco
- Difusión del fármaco desde el estrato córneo hacia la dermis.
- Difusión del fármaco desde la dermis hacia la circulación sistémica. (en el caso de Acetonido de fluocinolona anhidra no sucede esta difusión.) ^{1, 2, 14, 15, 16, 17, 18, 66}

$$dQ/dT = D * K_p / h * C$$

dQ/dt = velocidad de absorción.

h = espesor del estrato córneo

K_p = coeficiente de partición

D = coeficiente de difusión

C = concentración en el vehículo

Esta ecuación permite determinar la constante de permeabilidad P .

$$P = D * K_p / h$$

El flujo J puede ser definido mediante la Ecuación:

$$J = S * P * dC$$

S = Área de aplicación

dC = gradiente de concentración

A pesar de que mucha bibliografía ha referido que acetónido de fluocinolona por vida tópica no ha tenido efectos adversos, recientes investigaciones se indica que la dosis tópica en adultos y niños mayores de 12 años sin apósito, se debe realizar aplicando una capa fina de crema sobre la zona afectada y frotando suavemente.⁷⁶

Parámetros capaces de modificar la difusión y la penetración. Los excipientes actuarán mediante sus propiedades fisicoquímicas y el estrato córneo a través de su estructura y su composición. La epidermis viable y la dermis son geles acuosos y no presentan una función de barrera.

Como también la dosis tópica en adultos y niños mayores de 12 años con apósito, se debe realizar aplicando una capa fina de crema sobre la zona afectada y frotando suavemente. Ese tratamiento no debe durar más de dos meses. Así como también la dosis tópica en niños menores de 12 años debe ser una aplicación al día.⁷⁶

A partir de las consideraciones anteriores, puede ser interesante emplear modelos **in vitro** para estudiar la liberación del fármaco desde la forma farmacéutica y la difusión del fármaco a través de membranas, con el objeto de simular o de correlacionar los resultados **in vitro** con el comportamiento *in vivo*. Las correlaciones **in vitro-in vivo** son una de las principales herramientas para el desarrollo de formas farmacéuticas y muchos investigadores están trabajando en este campo. Se pueden llevar a cabo estudios de liberación de fármacos **in vitro** y estudios de difusión **in vitro** a través de la piel, con el objeto de simular la difusión y correlacionar esta última con estudios *in vivo*. Se han desarrollado métodos **in vitro** para la absorción dérmica, los cuales han sido crecientemente aplicados en estudios de absorción percutánea de metabolización y toxicidad. La metodología para establecer correlaciones **in vitro-in vivo** es más o menos compleja y los resultados más o menos predictivos o discriminatorios, de acuerdo con el tipo de relación involucrada y al tipo de preparados dérmicos estudiados (epidérmico o transdérmico) ^{1,2,68,73,75}

El método de la celda (Farmacopea Europea: EP)

Una celda de extracción es empleada con el aparato de paleta, realizada con materiales únicamente inertes, que consta de un soporte, una cubierta y, si es necesario, una membrana. La parte central del soporte forma una cavidad con una profundidad de 2,6 mm. y un diámetro definido. La cubierta tiene una abertura central con un diámetro seleccionado de acuerdo con el soporte empleado o el tamaño del parque a ser examinado. Se puede insertar una membrana entre el soporte y la cubierta y esta última se mantiene en su lugar mediante nueces de laboratorio. La celda de extracción se introduce en el fondo del vaso y durante la prueba se mantiene a una distancia de 25 ± 2 mm. entre la paleta y la superficie del disco. Este método de celda puede ser empleado con todas, las formulaciones cutáneas. En el caso de cremas, ungüentos o geles, se emplea una membrana para aislar la forma farmacéutica del medio. Debido al diseño del aparato empleado una gran área esta inmersa en un gran volumen. Las

membranas usadas son membranas artificiales de porosidades diferentes.^{30, 31, 33, 64, 65, 71, 73, 75}

3.5 Empleo de corticoesteroide tópicos

El empleo de un corticoide tópico, debe fundamentarse en las características intrínsecas del corticosteroide, el vehículo y la calidad de la piel. En el campo de la terapia tópica la aparición de los corticosteroide en 1952 ha sido uno de los grandes avances en la terapéutica dermatológica y nos permite la excelente oportunidad de administrar fármacos en el sitio de la enfermedad, con posibilidades mínimas de producir efectos colaterales sistémicos. Así, gran número de dermatosis han sido tratadas con corticosteroide, sin que en todas ellas exista una indicación clara de su uso. Por otro lado, la facilidad de su empleo, su gran aceptación por los pacientes y su rápido efecto terapéutico han hecho que los corticosteroides sean usados en numerosos padecimientos en los que no están indicados.

El primer corticosteroide tópico usado fue la hidrocortisona que sigue vigente, ya que aunque tiene actividad anti inflamatoria menor que otros corticosteroide descubiertos posteriormente, sus efectos colaterales también son menores. Durante algún tiempo se pensó que la terapéutica con corticosteroide tópicos no producía efectos colaterales sistémicos, pero conforme se aumentó la potencia de los corticosteroide se observaron mejores resultados en el tratamiento, pero también un incremento importante en las complicaciones tanto locales como sistémicas.^{19, 32, 37, 73, 74}

Existe una relación estrecha entre la estructura química del corticosteroide y su actividad clínica; Así, algunos corticosteroides, particularmente los fluorados, son más activos que otros. La actividad del corticosteroide en la piel depende de su capacidad de penetrar a través de la capa cornea y de la interacción con los lípidos cutáneos (acción lipofílica), al disminuir los grupos polares (hidrófilos), aumenta la capacidad de absorción en la capa córnea. La acción lipofílica aumenta con la eliminación de los grupos hidroxilos de los carbonos 16, 17 y 18. La naturaleza del vehículo usado con el corticoide tiene

una influencia importante en su potencia. El descubrimiento de nuevos vehículos que mejoran la acción de los corticoides ha contribuido en forma importante con el aumento de la potencia de éstos. La actividad terapéutica tópica es debida a tres acciones que son la liberación del corticosteroide por el vehículo, la penetración de la capa córnea y la actividad antiinflamatoria que a su vez son el resultado de la triada corticoide – vehículo – piel.^{19,20,38}

3.6 Actividad de los corticoesteroides

El primer corticoide, descubierto por Sarat (1935 por Edwar Calvin Kendall Tadeus Reichstein), fue la cortisona que no tenía actividad al ser usada tópicamente ya que, aunque en la piel se transforma en hidrocortisona, lo hacía en cantidad insuficiente como para tener efecto terapéutico.^{18,20}

En 1952 Sulzberger²¹ usó por primera vez la hidrocortisona en forma tópica y observó que su efecto antiinflamatorio era superior al de todos los fármacos que en ese eran usados momento. Posteriormente se hicieron numerosas modificaciones en la estructura del núcleo básico de la hidrocortisona (núcleo ciclo pentano perhidro fenantreno) y en sus radicales (doble ligadura, sustitución de hidrógenos por hidroxilos, halógenos, etc.) y obtuvieron la prednisona, la prednisolona, triamcinolona, dexametasona, betametasona y acetónido de fluocinolona. Todas estas modificaciones en la estructura química de la hidrocortisona tenían como finalidad aumentar la actividad antiinflamatoria y disminuir sus efectos colaterales.

Se han usado diversos métodos para medir la actividad y capacidad de penetración de los corticosteroide en la piel. Mckenzie y Stoughton en 1962, usaron la capacidad del corticosteroide para producir vasoconstricción como indicativa de su actividad y eficacia clínica. Roberto y Macback, en 1982, usaron como medida de la actividad del corticoide, la capacidad de inhibir la mitosis celular, particularmente la de los fibroblastos, han sido usados otros métodos para medir la actividad del corticosteroide como son la medida del poder antiinflamatorio en los animales en los que se utilizan como productores de la reacción inflamatoria, la luz ultravioleta y el aceite de Croton. La aplicación tópica de corticosteroide

marcados con radioactividad y su posterior aparición en heces y orina también han sido usados con resultados confiables.^{23,24,25}

Actualmente la investigación busca el corticoide ideal que combine gran eficiencia, ausencia de taquifilaxia y fenómeno de rebote, pocos o nulos efectos colaterales locales y sistémicos y que no produzcan supresión del eje hipotalámico-hipófisis-suprarrenales.

3.7 Tipos de corticosteroides tópicos

Los corticosteroides pueden ser clasificados en tres tipos de acuerdo a la capacidad que tienen de producir vasoconstricción siguiendo la técnica descrita por McKenzie y Stoughton. Estos tres tipos son: de potencia baja, intermedia y alta. Entre los de baja potencia se encuentran la hidrocortisona y el desinide.

Entre los de potencia intermedia tenemos la betametasona y sus derivados, dexametasona y sus derivados, flurandrenalina, halcinónido al 0.025 %, valerato de hidrocortisona, acetónido de triamcinolona al 0.025 %, Acetonido de fluocinolona al 0.01 % y sistema de triple corticoide integrado (STCI). Entre los de alta potencia están, dipropianato de betametasona, desoximetasona, fluocinolona, la fluocinonida, halcinónido al 0.01 %, acetónido de triamcinolona al 0.5 % y acetónido de fluocinolona al 0.025 %.^{23,41}

3.8 Estudios de liberación *in vitro*

Los estudios de difusión *in vitro* se realizan con la finalidad de evaluar y predecir el nivel de penetración del fármaco a través de la piel y la velocidad del proceso. Dichos estudios se llevan a cabo utilizando celdas de difusión ya sea con una solución o suspensión del fármaco para determinar la absorción que presentan. También pueden realizarse con otras formas

farmacéuticas tal como geles, cremas y pomadas para estudiar la influencia de los excipientes en la formulación.

Han descrito en la literatura muchas celdas de difusión. Idealmente, un sistema **in vitro** para un estudio de difusión debiera diseñar de manera tal que la velocidad intrínseca de liberación o permeación pueda ser exactamente determinada.

Los diferentes sistemas, celdas horizontales o verticales, constan de dos compartimentos, uno donante en el cual se aplica la forma farmacéutica, y uno receptor en el cual se cuantifica el fármaco. El sistema entero es homogéneo y es mantenido a una temperatura artificial, animal, humana o sintética. Ver Figura No. 8

El primer sistema fue propuesto por Chien y Valía. Este sistema faz a faz esta compuesto de dos cámaras horizontales de 0.9 cm. de diámetro y 3.8 cm. de longitud. La entrada de las muestras está en la parte vertical de la cámara. El área de intercambio es 0.64 cm². y puede ser usada con membranas biológicas. Cada cámara es mantenida a una temperatura definida y agitación constante.

Entre los diferentes sistemas descritos, la celda de Franz ha sido empleada en la mayoría de los trabajos publicados y puede considerarse como la celda de referencia. Ver Fig. No. 6 ^{32,34,40,41,43}

Muchos parámetros pueden influir en la difusión del fármaco. El compartimiento receptor y especialmente su temperatura y velocidad de agitación. ^{1,45}

El medio receptor. Este es más o menos complejo de acuerdo con la membrana utilizada. Este medio debe permitir mantener la vitalidad y la potencialidad celular. Debe también ser un buen medio de disolución para el fármaco. El tipo y la naturaleza de la membrana empleada. ¹

El objetivo es determinar la cantidad de fármaco liberado desde el sistema, la cinética de liberación (modelo) y el comportamiento biofarmacéutico **in vitro** del sistema. Es un control de calidad que asegura la reproducibilidad y la conformidad de la forma farmacéutica.

Las pruebas de disolución descritas son las siguientes:
El método de montaje del disco o método de paleta sobre disco USP y Farmacopea Europea ^{16, 29, 30, 31 y 41}

Un disco de acero en la forma de una red diseñada para sostener el sistema transdérmico se emplea junto con el aparato de paleta. Durante la prueba se mantiene una distancia de 25 ± 2 mm. Entre la paleta y la superficie del disco. El disco mantiene el sistema plano con la superficie de liberación paralelo con el fondo de la paleta. Este sistema sólo es apropiado para parches que pueden ser cortados (sistemas matriciales) porque el parche no debe sobrepasar los bordes del disco y en este caso deberá cortarse un trozo de parche de dimensiones apropiadas. Debido a la apertura de la malla de $125 \mu\text{m}$ (micrómetros), aun con el uso de una membrana, este método no puede ser empleado con las diferentes formulaciones cutáneas. ^{1,2} Ver Fig. No. 5

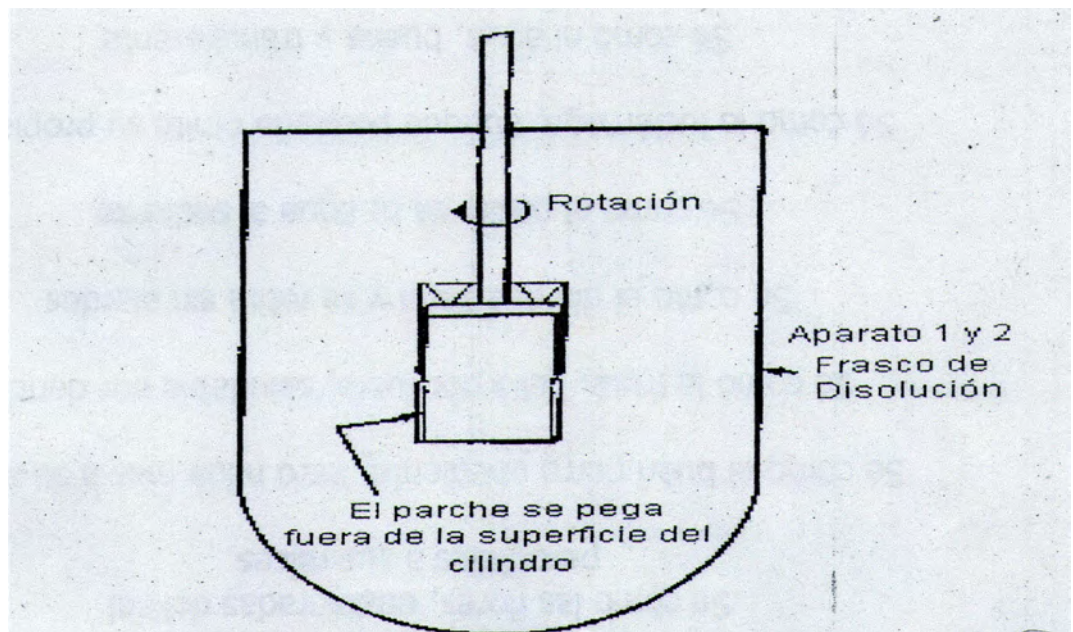


Figura No. 5 Cilindro rotatorio –Aparato 6 propuesto por la US

En años recientes, el interés en el desarrollo de formas farmacéuticas transdérmicas se ha incrementado exponencialmente.^{39,29} También existen pruebas para la evaluación final de la disolución (Aparatos de la USP V, VI y VII) también existen para la evaluación final de las formas farmacéuticas transdérmicas,³⁹ celdas de difusión especializadas

como la celda de Franz. Estas son muy importantes durante el desarrollo del estudio de cinética **in vitro**.^{32 y 43}

Estas celdas son evaluadas en varios tipos y volúmenes, y empleando accesorios asociados (Agitación magnética especial, temperatura controlada por circulación de agua caliente y tubos etc). Tal trabajo de difusión requiere implementar y emplear nuevos equipos para investigaciones.

Actualmente se emplean diferentes tipos de membranas así como: piel escindida de animal, piel humana escindida, trozos de piel humana o animal (aproximadamente 200 μm (micrómetros de espesor), membranas artificiales y mas recientes cultivos celulares.

De acuerdo con las recomendaciones de la FDA y la AAPS publicadas después de una reunión de trabajo en 1987, debe de emplearse piel humana en los estudios **in vitro** de absorción percutánea. Se pueden extraer secciones de piel de 500 μm o menos o secciones epidérmicas aisladas.

Muchos estudios se han realizado empleando modelos animales, debido a los problemas relacionados con la piel humana, la variabilidad de la respuesta de acuerdo con el sitio y sujeto y dificultad para obtener piel humana. Los principales modelos animales son: ratones lampiños, cobayos, ratas y conejos. Además de los modelos animales se han hecho estudios utilizando la muda de la piel de serpiente. Esta presenta similitud con la estructura interna de la piel humana, la composición lipídica y la permeabilidad al agua.

Una nueva aproximación al estudio de permeación **in vitro** es el empleo de cultivos celulares como membrana de difusión, Estos cultivos cutáneos generalmente son queratinocitos humanos y después del cultivo, la arquitectura es muy similar al estrato córneo humano. Actualmente su producción esta bien estandarizada a partir de tejidos biológicos.

Con el objetivo de encontrar modelos experimentales alternativos, se han empleado diferentes membranas sintéticas y monocapa homogéneas para estudiar la absorción cutánea de productos tópicos.

A partir de estudios de difusión, los resultados obtenidos permiten que la difusión del fármaco sea cuantificada, incluyendo la velocidad de transferencia, el tiempo de latencia y la velocidad de flujo. Con el propósito de determinar el efecto de reservorio de la piel, se pueden emplear trazadores radiactivos y la determinación de la radiactividad en el compartimento receptor y en las diferentes capas de la piel.^{1, 2, 68, 69, 70}

En la USP XXIII la celda de difusión de Franz^{24,32,43} es un método reportado para realizar los estudios de difusión en formas farmacéuticas transdérmica los cuales están teniendo una serie de modificaciones para que se explique mejor el proceso cinético. (Apéndice 1)^{1, 2, 25, 26, 32, 43, 68}

3.9 Variables de la celda de Franz

La Industria Van Kel, Inc. (Edison, NJ) desarrollo la Enhancer Cell, una nueva alternativa para las pruebas de difusión de transdérmicos ***in vitro***.^{27,43} Esta celda resultó tener un tiempo de muestreo más prolongado y fácil manejo durante los experimentos no mostrando cambios aparentes, por otro lado, se puede implementar con el equipo de disolución existente (USP Aparato II)^{28,29,33,73}

Equipo Automuestreador con celdas de Difusión de Franz; método nuevo establecido en las pruebas de la USP.

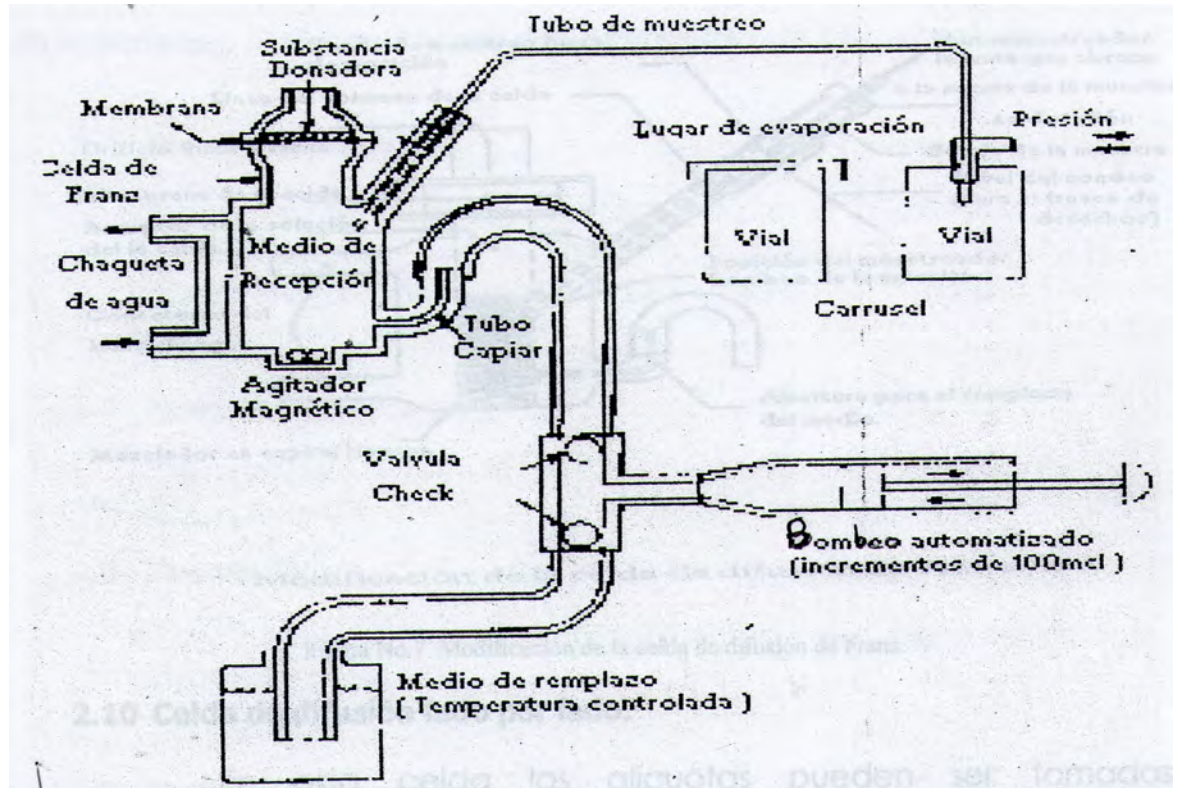


Figura No. 6 Equipo Automuestreador empleando celda de difusión de Franz.

En la actualidad, las celdas de difusión de Franz se han complementado con un equipo muestreador automático establecido en las pruebas de la USP. La celda de difusión tiene un sistema de flujo continuo y es similar a la empleada en las pruebas de disolución para formas farmacéuticas sólidas. El muestreo se desarrollo tomando alícuotas del fluido en incremento de tiempos programables y llevándolas a un colector de muestras apropiado para ser analizadas. Esta técnica tiene la desventaja de que las concentraciones evaluadas en el análisis están limitadas por la velocidad y el tiempo de exposición en la membrana. Ver Figura No. 7

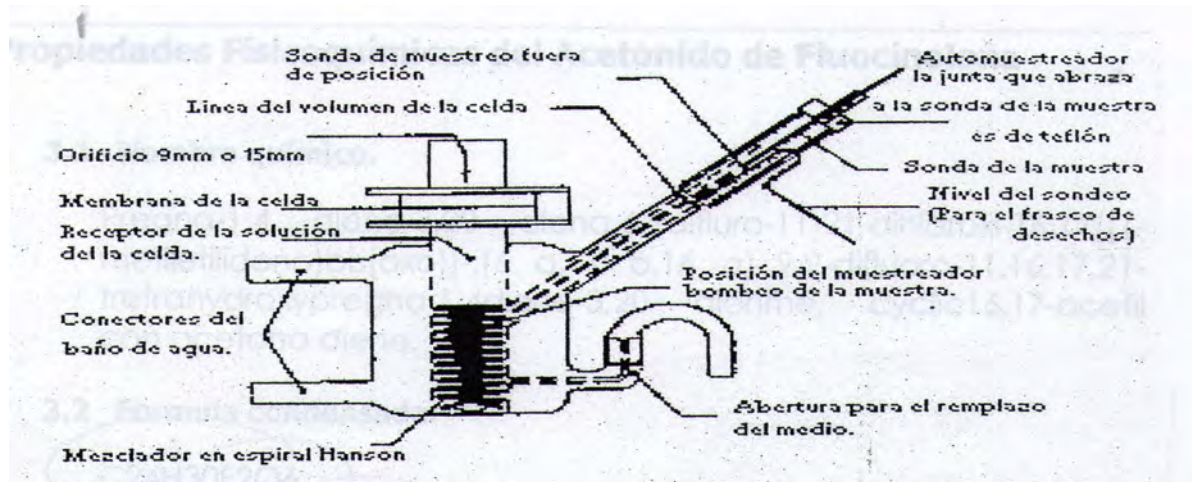


Figura No.7 Modificación de la celda de difusión de Franz.

3.10 Celda de difusión lado por lado

En esta celda las alícuotas pueden ser tomadas periódicamente por el analista, o se puede utilizar un sistema de muestreo automatizado evaluando simultáneamente 2 muestras.

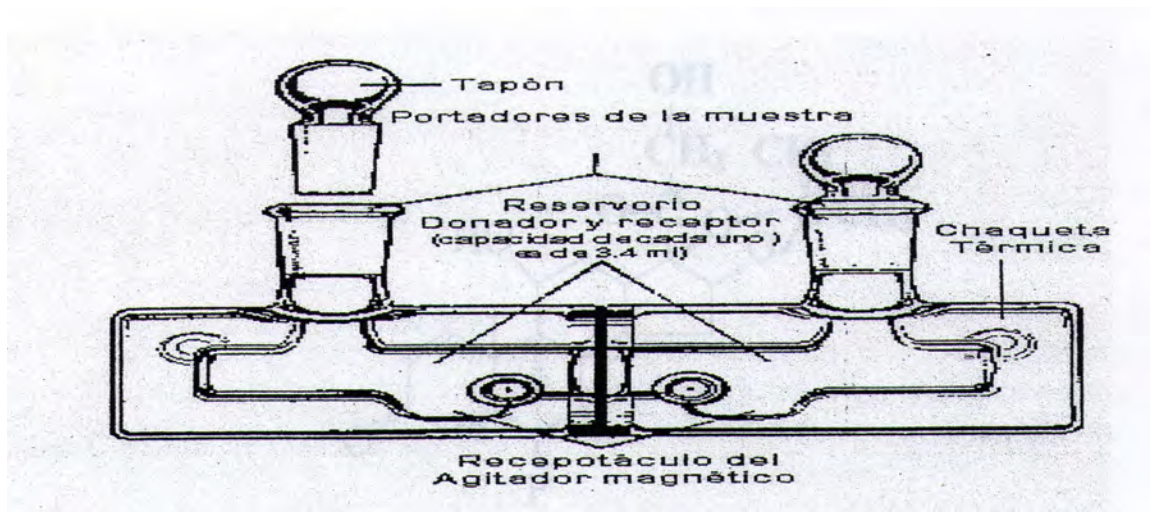


Figura No. 8 Celda típica de difusión percutánea lado por lado. (Cortesía de Crown Glass,Somerville,NJ).

4 Propiedades Físicoquímicas del Acetonido de Fluocinolona Anhidra (A.F.A).

4.1 Nombre químico

Pregna-1,4 dieno-3,20 diona,6,9difluoro-11-21-dihidroxi-16,17((1-metiletilideno)bis(oxo))-,(6 a,11 b,16 a)-.9,9-difluoro-11,16,17,21-tretrahidroxypregna-1,4dieno-3,20 dione, ciclico16,17-acetil con acetona dieno.

4.2 Fórmula condensada

C₂₄H₃₀F₂O₆

4.3 Descripción

Polvo cristalino blanco o blanquecino, olor característico, es estable en el aire.⁴⁵

4.4 Fórmula desarrollada

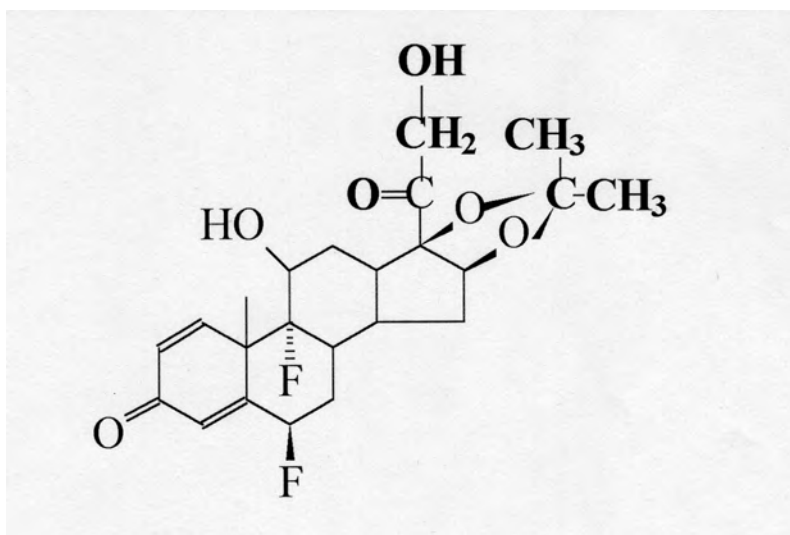


Figura No. 9 Acetonido de Fluocinolona Anhidra, Adrenocorticoide esteroideal (tópico antiinflamatorio) sintético.

4.5 Composición porcentual.

C63.70 % H6.68 %, F2.40 %, O21.22 %.

4.6 Peso molecular

452.49

4.7 Sinónimos y acrónimos

Cortiplastol; Dermalar, Fluocinil, Tópicos Synalar, Sinamol, Synandone Fluorar.

4.8 Punto de fusión

El A.F.A. funde con descomposición aproximadamente a los 270 ° Celsius .³⁶

4.9 Absorción ultravioleta

Longitud de Onda UV max. 238 NM

4.10 Coeficiente de extinción

$(\log.E \frac{1\%}{1 \text{ cm}} = 4.21)$

4.11 Solubilidad

El A.F.A. es muy soluble en tetrahidrofurano, soluble en acetona y etanol, parcialmente soluble en acetato de etilo, metanol, y diclorometano, medianamente soluble en acetonitrilo, muy ligeramente soluble en tolueno y prácticamente insoluble en hexano y agua, poco soluble en éter y en cloroformo.⁴⁷

Tabla No. 3 Solubilidad (mg/ml)

Solventes	Acetónido de Fluocinolona Anhídra
Tetrahidrofurano	310
Acetona	72
Etanol	38
Acetato de Etilo	25
Metanol	16
Diclorometano	11
Acetonitrilo	4
Tolueno	0.3
Hexano	<0.1
Agua	<0.1

4.12 Estabilidad de acetónido de fluocinolona anhidra

Estudios de estabilidad acelerada se realizaron exponiendo el acetónido de fluocinolona anhidra a una temperatura de 60 °C y otra muestra fue expuesta a la luz fluorescente por un total de 6 semanas. Las muestras se analizaron inicialmente en intervalos de 1,3, 6 semanas por cromatografía de capa fina, los datos de las pruebas de estabilidad acelerada por cromatografía de capa fina (CCF) se reportan en la Tabla No. 4 y no presentaron cambios. Las cantidades cuantificadas por cromatografía de capa fina (CCF) no presentan una degradación significativa, durante el estudio de estabilidad acelerada.^{31,45}

Tabla No. 4. Estabilidad Acelerada de Acetónido de Fluocinolona Anhidro en los disolventes del sistema: 5% MeOH en CHCL₃.³¹

Muestras	% de Pureza por TLC Temp (60°C) Luz
Inicial	98.5 (q) 98.5 (q)
1 Semana	97.7 (q) 98.4 (q)
3 Semana	97.7 (s) 98.4 (s)
6 Semana	97.8 (q)

4.13 Estabilidad en una forma farmacéutica

Estudios reportados en la literatura se menciona que la degradación de acetónido de fluocinolona anhidra una forma farmacéutica semisólida (crema, aceite-agua), depende directamente del pH y la temperatura, con respecto a la temperatura los intervalos fueron de 23 °C a los 80 °C y una formulación con un pH entre los límites de 3 a 6 reportando acetónido de fluocinolona anhidra una cinética de degradación de pseudo primer orden. Mostrando una menor degradación en la forma farmacéutica con un pH de 4.0; al parecer, esto depende de la cantidad de fase acuosa de la crema.⁴⁵

4.14 Formas comerciales

Crema al 0.01 %, 0.025 % y 0.2 %.
Ungüento al 0.025 %.
Solución tópica al 0.01 %.

La ACTH estimula principalmente la producción de glucocorticoides (el cortisol predomina en el hombre, cerdo y perro mientras que la cortisona predomina en rata, raton y conejo), y sólo cuando los niveles de ACTH son elevados estimula la producción de mineralocorticoides, que son regulados fundamentalmente por la angiotensina II y por concentraciones de K^+ e/c

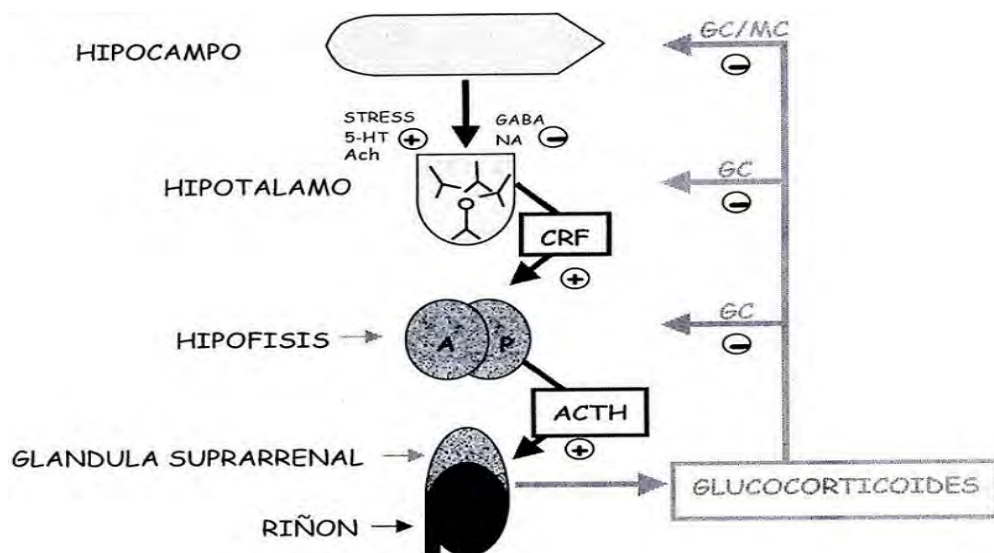


Fig. No.10 Producción de glucocorticoides

Glucocorticoides sintéticos

Ciertas modificaciones químicas en la estructura básica de los corticoesteroides llevan a la síntesis de los corticoesteroides artificiales.

4.15 Farmacología de acetónido de flucinolona anhidra

Mecanismos de acción de los corticosteroides ⁷⁸

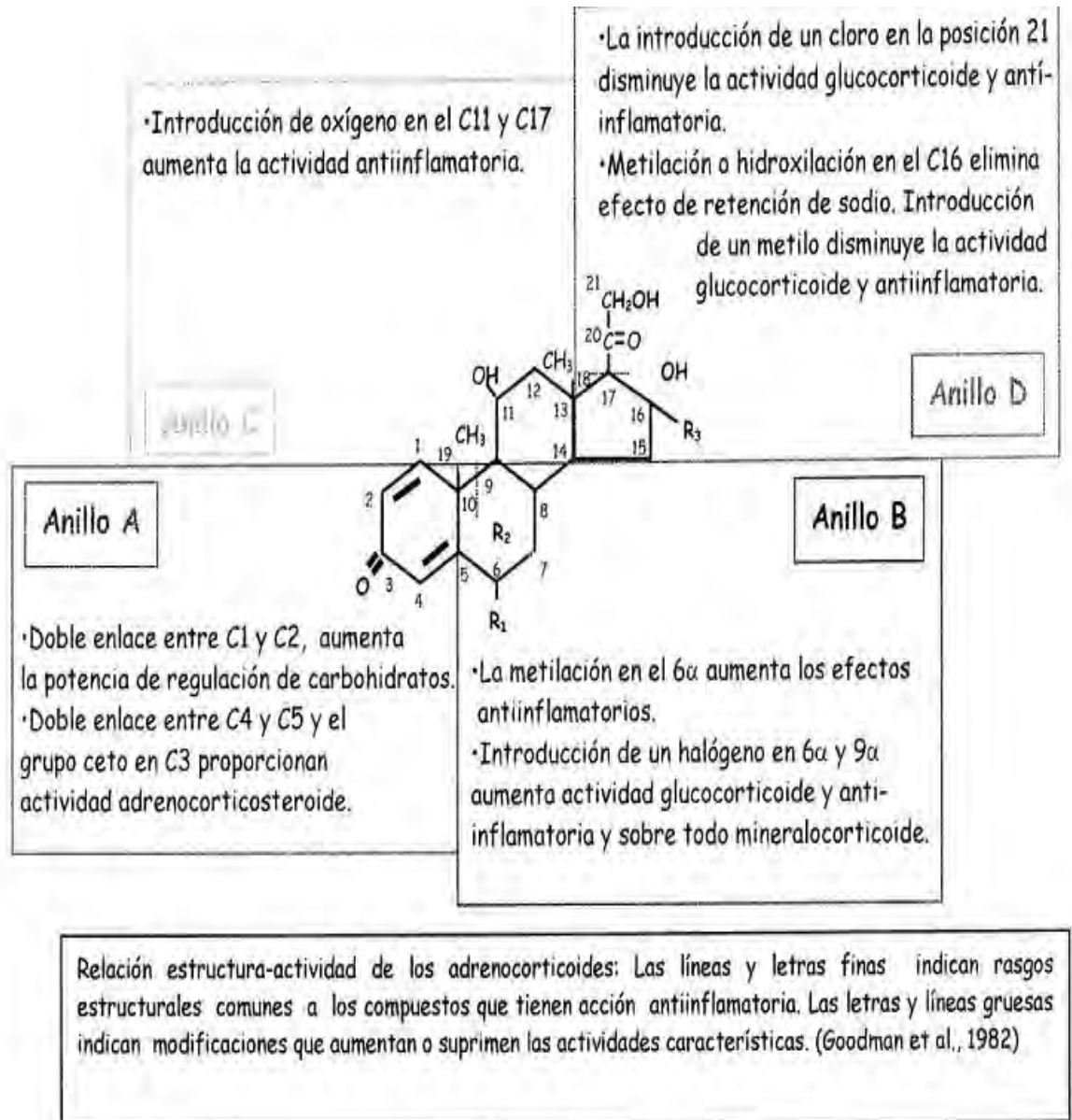


Fig. No. 11 Mecanismos de acción de los corticosteroides

Modificaciones en el anillo A: El doble enlace entre C4 y C5 y el grupo ceto en C3 son necesarios para la típica actividad adrenocorticoide.

Los corticosteroides tópicos son intrínsecamente activos y no necesitan ser metabolizados en la piel para tener su forma activa. Esto explicaría la rapidez con que se manifiesta su acción terapéutica. La capacidad terapéutica de los corticosteroides sobre las dermatosis depende de su actividad antiinflamatoria.

A pesar de la mayor accesibilidad que tiene la piel en relación a otros órganos del cuerpo, no se conoce realmente cómo actúan los corticosteroides en el proceso inflamatorio, aunque se han efectuado numerosos trabajos sobre este mecanismo de acción.³⁸ Se han hecho investigaciones sobre el efecto de los corticosteroides en los mediadores de la inflamación como la histamina, prostaglandinas, quinina, etc., su interferencia en la migración de los polimorfos nucleares y en la acumulación de los macrófagos en el sitio de la inflamación de las membranas liposomales. Los corticoides también tienen acción antimicótica, especialmente sobre los fibroblastos e inhiben la producción de colágeno. Estas acciones permiten usar a los corticoides en padecimientos en los que existe aceleración de la queratopoyesis o formación de tejido conjuntivo, pero también son responsables de efectos colaterales locales. En el mecanismo de acción de los corticosteroides deben tomarse en cuenta otros factores que influyen en su actividad como son la concentración del corticoide en el vehículo, su forma de aplicación y el área de la piel donde se aplica. El buen éxito de un corticoide tópico depende de su estabilidad fisicoquímica, su aceptabilidad cosmética, y su capacidad para que sus componentes activos alcancen el sitio deseado.

Se cree que el mecanismo de acción de los corticosteroides, como otras hormonas esteroidales, actúa controlando la velocidad de síntesis de proteínas.¹⁶ Los corticosteroides se difunden a través de las membranas celulares y forman complejos con receptores citoplasmáticos específicos. Estos complejos entran después en el núcleo celular, se unen al DNA (cromatina, y estimulan la transcripción del ARN mensajero (ARNm) y la posterior síntesis de varias enzimas que, se piensa, son responsables en última instancia de los efectos antiinflamatorios de los corticosteroides de aplicación tópica. El

vehículo de las formulaciones que contienen corticosteroides tópicos también puede contribuir al efecto terapéutico proporcionando una acción emoliente o secante o aumentando la absorción transcutánea del corticosteroide. El descubrimiento de corticosteroides con mayor potencia antiinflamatoria y menos efectos colaterales y el uso de nuevo vehículos más cosméticos que mejoran la efectividad de los corticosteroides tópicos ha permitido alcanzar muy buenos resultados terapéuticos con las limitantes debidas a sus efectos colaterales que son numerosos y observados con mayor frecuencia cuando se usan técnicas oclusivas.⁴⁶

4.16 Sistema nervioso central

Los corticosteroides afectan al sistema nervioso central (SNC) en muchas formas indirectas: en particular mantienen concentraciones plasmáticas normales de glucosa, una circulación adecuada y el balance normal de electrolitos en el cuerpo. Los esteroides pueden tener también efectos indirectos pero estos aún no están bien definidos. Una influencia de los corticosteroides puede observarse sobre el estado de ánimo, la conducta, el electroencefalograma (EEG) y la excitabilidad cerebral.

4.17 Acción sobre esteroides endógenos

Se ha estudiado también la afección de los corticosteroides administrados en forma tópica, sobre las hormonas endógenas. En la actualidad se está estudiando aún más esta relación. Se ha encontrado una indudable supresión en el tratamiento sobre la producción de esteroides endógenos después de un tratamiento largo. En estos estudios se ha hecho uso de las pruebas de Radioinmunología, donde se han cuantificado la hormona cortisol, hormona adrenocotrópica (ACTH) y alfa-melanocito siendo ésta un estimulante hormonal, prolongado la (α -MSH) antes, durante y después de un tratamiento largo y sobre una superficie considerada del cuerpo de un corticosteroide tópico (30 gr. ó 0.025 % de ungüento por 9 días) Los cuales fueron aplicados a 8 pacientes enfermos, por una dermatosis inflamatoria extensiva (7 casos de eczema, 1 caso de psoriasis). También se estudiaron los efectos sobre la

réplica del ADN y síntesis de proteínas de los queratinocitos de la epidermis humana en los siguientes aspectos: Inhibición del ADN alfa polimerasa apidicolín (y sus derivados apidicolín glician) metanesulfón-m-anisidina), modificación en la estructura de la cromatina (butirato de sodio, 3-aminobenzamida, y quinasa), inhibidor de la activación de la calmodulina y la proteína kinsa, clorpromazina y trifluoperazina): fármacos usados en dermatología clínica (antralín, acetónido de fluocinolona, ketoconazol e hidroxurea). Cada compuesto se empleó en las dosis especificadas por la literatura y según se sabe son efectivos en su acción.^{42,46, 48,49}

5 Aspectos farmacocinéticos

5.1 Absorción

No se busca una absorción sistémica sino un efecto local. La penetración percutánea a través del estrato córneo se hace en forma pasiva y la capacidad de penetración del corticosteroide está determinada por el grosor de la capa córnea,⁴¹ y por otros factores que aumentan la solubilidad del corticosteroide (propilenglicol),⁴⁷ la hidratación,⁴⁸ el aumento de la temperatura y las lesiones de la integridad anatómica de la piel. En realidad, un gran número de factores influyen en la velocidad con la que un corticoide penetra y atraviesa la capa córnea. La interacción es tan compleja que es frecuente que los resultados de los estudios efectuados sobre la penetración resultan inexplicables.^{44,50, 54, 55, 56}

5.2 Distribución

El resultado de la actividad terapéutica puede ser visto como la suma de tres acciones que son la liberación, la penetración y la actividad antiinflamatoria. Estas tres acciones son a su vez producto de la relación entre el corticoide, el vehículo y la piel. La liberación es la separación del corticoide del vehículo en el que se encuentra, para entrar en contacto con la capa córnea. Existen reportes de la farmacocinética de AFA en crema del 0.025 % la cual está reportada que existen 8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ por un método de cromatografía de líquidos de alta resolución.^{15, 51, 52, 53}

5.3 Metabolismo

Los compuestos fluorados se metabolizan más lentamente en la piel por lo que tienden a absorberse sistémicamente en un mayor grado.¹⁸

5.4 Modelo farmacocinético

En recientes estudios se ha propuesto un modelo farmacocinético para algunos compuestos que se emplean en dosificación de transdérmicos por ejemplo la nitroglicerina que debe tener un efecto sistémico y por ejemplo los anestésicos locales y donde nosotros solo esperamos un efecto local por parte de AFA y que este nos refiere una acción terapéutica adecuada. A continuación se ilustra los posibles compartimientos en los que se puede ver involucrada la penetración de A.F.A. (Ver Fig. No. 1 y 2)

5.5 Usos terapéuticos

El acetónido de fluocinolona anhidra se emplea para el trastorno de varios desordenes de la piel ⁵⁷ y/o enfermedades cutáneas (tratamiento): Están indicadas para aliviar la inflamación y el prurito asociado a enfermedades que responden a los corticosteroide, Entre las que se pueden citar las siguientes: Picadura de insecto, quemaduras de poca importancia, como son las quemaduras solares, dermatitis atópicas, dermatitis por contacto envenenamiento por hiedra, roble o zumaque, dermatitis seborreica, dermatitis inflamatoria, eczema leve o severo, granuloma anular, liquen plano, lupus eritematoso discoide, neurodermatitis localizada, otitis externa alérgica, pénfigo, pitiriasis rosada, psoriasis, ^{56,57} rash de los pañales y xerosis en fase inflamatoria. ^{55, 58, 59,60}

Otros usos terapéuticos de AF son:

Edema macular

Edema macular quístico(EMQ).

Etiología y tratamiento del edema macular

Edema macular diabético

A pesar de los adelantos en la comprensión de la patofisiología del Edema Macular Diabético EMD, el único tratamiento recomendado es la fotocoagulación láser focalizada. AF está indicada para evaluar el patrón de las pérdidas y excluir un componente significativo de isquemia macular. Dióxido de carbono total (TCO) La Explicación del método de análisis del TCO 2 medido se calibra según el método de referencia TCO 2 1 de la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC); TCO constituye un método sensible para detectar la tracción vitre macular (desaparición de la adhesión vitre-retiniana y la resolución del edema).

Cuando no hay respuesta a la fotocoagulación láser puede recurrirse a tratamiento farmacológico. Sería lógico utilizar corticoides en este caso debido a las posibles complicaciones, sin embargo, su utilización sigue en estudio. También, la posibilidad de utilizar dispositivos de liberación de triancinolona, fluocinolona y dexametasona en ojos con edema macular diabético, está siendo investigada.

El factor de crecimiento endotelial es otro de los potenciales tratamientos farmacológicos para combatir el EMD, aunque su eficacia se encuentra aún en estudio.^{22,23,24,25, 26 y 27}

5.6 Efectos colaterales principales de la fluocinolona son:

Ardor, prurito, eritema, xerosis, foliculitis, hipertrichosis, erupciones acneiformes, hipopigmentación, dermatitis perioral, dermatitis por contacto, maceración infección agregada, atrofia de la piel, estrías atróficas, dermatitis esquematosas y miliaria.
^{48,49,54,60,63}

5.7 Tolerancia

Tiene una tolerancia de 8 µg/cm² según reportes de la literatura.⁶¹

5.8 Sensibilidad

En estudios realizados reportados en la literatura de pacientes que presentan sensibilidad cuando los corticoides se han administrado con etanol.⁵²

6 Métodos Analíticos Reportados

6.1 Método por cromatografía de capa fina (CCF)

Esta prueba indica los niveles de degradación del A.F.A. en las muestras de estabilidad. Por lo tanto el método de CCF ha sido evaluado por la especificidad en la cantidad de impurezas, estabilidad, especificidad y límites de detección. Fase móvil: Nitrometano-Diclorometano-metanol (50:50:1), placas de CCF: E. Merck Silica Gel 60 F-254 (0.25 mm) o equivalente Cantidad de muestra 100 µg, longitud de onda de 254 nm.^{76,77 y 78}

6.2 Método por cromatografía de líquidos de alta presión con detector UV

Tabla No. 5 Condiciones cromatográficas encontradas en la literatura.

Columna	Shandon ODS Hypersil, 3 µ, 4.5 mm X10.0 cm
Precolumna	-----
Fase móvil	Agua, acetonitrilo, tetrahidrofurano (10: 13: 77)
Temperatura de Columna	40 °C
Velocidad de flujo	1.4 mL/min.
Detector	Detector 254 nm, 0.02 AUFS
Tiempo de retención	7.4 minutos
Vol. De inyección	20 µl

Los fármacos de esta clase en nuestro caso como A.F.A., no deben administrarse por vía intravenosa o intramuscular por que se pierde la selectividad y aumenta la incidencia de efectos adversos y tóxicos. Aunado a esto no se contaba con un método analítico específico para la evaluación de formas farmacéuticas semisólidas, como también no se cuenta con estudios de A.F.A.

que muestre la diferencia en la velocidad y grado de permeabilidad en tres 3 diferentes membranas.^{44,49,50,51, 76,77 y 78.}

7 Objetivos Generales

Determinar y comparar la cinética de difusión de acetónido de fluocinolona anhidra (A.F.A.) en tres modelos de absorción.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Desarrollar y validar un método analítico para A.F.A. en un medio de difusión.
- 2) Validar el método de la celda de difusión de Franz.
- 3) Estudiar la cinética de difusión de A.F.A. en Membrana sintética y Membranas naturales.

8 Hipótesis

Se espera no obtener diferencia estadísticamente significativa en la velocidad de penetrabilidad de A.F.A. en relación a las tres membranas.

Se espera que la membrana artificial pueda utilizarse en estudios posteriores de difusión transmembrana reemplazando a la piel humana.

9 Parte Experimental

9.1 Reactivos

Reactivos

- a) Tetrahidrofurano, grado HPLC
Fisher Scientific

Lote Núm. 883875

- b) Alcohol metílico grado HPLC
Mallinckrodt
Lote Núm. 3041

- c) Acetonitrilo grado HPLC
Mallinckrodt
Lote Núm. 2856

- d) Etanol HPLC
Mallinckrodt
Lote Núm. 1934

- e) Alcohol etílico absoluto
J.T. Baker
Lote Núm. 9000-63

- f) Acetonido de fluocinolona anhidra,
J.T. Baker
Syntex, S.A. de CV
Lote Núm. 2983
Potencia 99.9%

9.2 Material

9.2.1 Materiales para filtrar las soluciones empleadas en el cromatógrafo de líquidos de alta presión

- Membranas de filtración Acuoso, Millipore.
Tipo HV de 0.45 μm
Diámetro 5 cm, aproximadamente

- Membranas de filtración para Solventes Organicos, Millipore.
Tipo HA de 0.45
Diámetro de 5 cm. Aproximadamente

9.2.2 Características de la membrana sintética empleada en la celda de Franz

- a) Membrana sintética
Membrana Gelman de nylon 25 mm.
Tipo: hidrofílica
Diámetro: 2.5 cm, tamaño de poro 0.45 μm^{77}

9.3 Equipo

- (a) Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución
 1. HPLC con detector UV/VIS, de longitud de onda variable,
 2. Modelo Gold System, Marca Beckman
- (b) Bombas Programables
 1. Modulo 116
 2. Modelo Gold System, Marca Beckman
- (c) Detector programable
 1. Modulo 166
 2. Marca Beckman
- (d) Inyector Beckman 507
 1. Loop 100 μl
- (e) Computadora IBM
 1. Personal System/2,
 2. Modelo 50 Z
- (f) Impresora Epson
 1. Modelo Fx-850
- (g) Deionizador, Millipore
 1. No. de serie 01395-C

- (h) Ultrasonido.
 - 1. Ultrasonic Cleaner
 - 2. Mettler Electronic Corp.

- (i) Termo Circulador
 - 1. Perkin Elmer
 - 2. Modelo 0050405

- (j) Celda de difusión de Franz
 - 1. Crown. Glass Co., Inc., Somerville, NJ

- (k) Baño de agua, con agitación controlada
 - 1. Lab-Line Instruments, Inc.
 - 2. Modelo 3575

- (l) Dermotomo
 - 1. Brown, modelo 901, Zimmer-USA, Warsaw, IN.

- (m) Cuchillas para microtomo de perfil bajo
 - 1. Catalogo No. DMB-LP
 - 2. Lote No. 920304
 - 3. Marca, Triangle Biomedical Sciences (TBS)

10 Método analítico para la cuantificación de A.F.A. por el método de HPLC

10.1 Preparación de soluciones

Solución A o curva de calibración

Solución estándar de A.F.A., para obtener las siguientes concentraciones de 0.048, 0.120, 0.240, 0.480, 0.960 y 1.920 µg/mL. Se

pesan 3.0 mg y se aforan a 25 mL con etanol grado HPLC obteniéndose una concentración de, 1) 120 µg/mL a partir de esta solución se prepararon las demás concentraciones diluyendo con agua grado HPLC, de acuerdo a la Figura No. 12

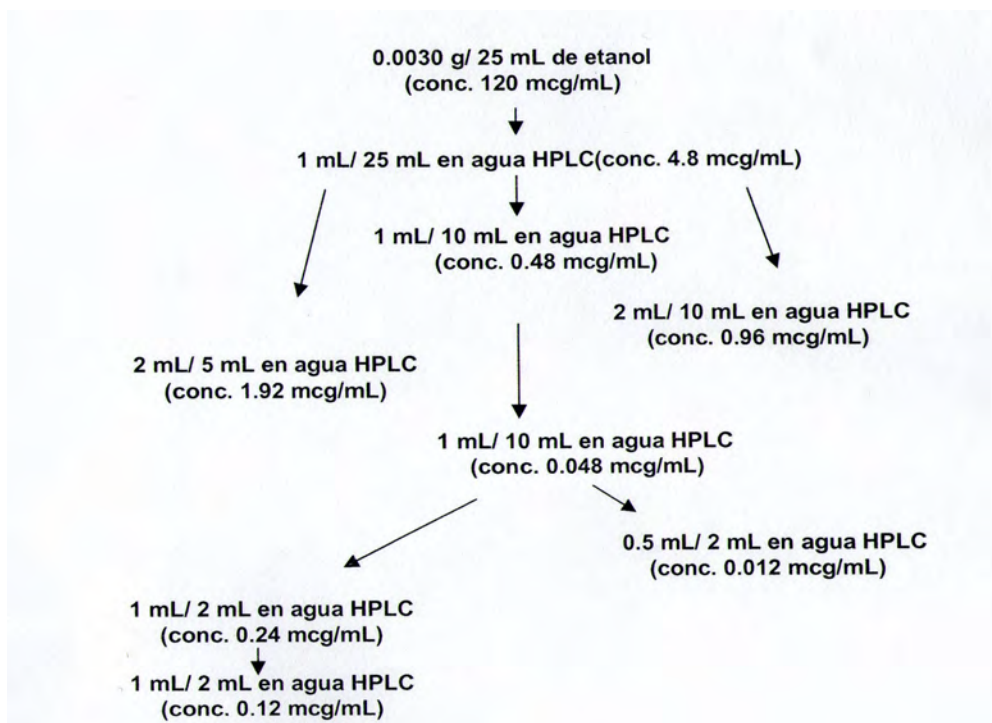


Figura No.12 Preparación de soluciones de A.F.A.

Nota importante: en la figura se presenta 1/2 esto indica que: 1 es igual a la alícuota tomada en mL y se aforo a 2 mL con agua grado HPLC como se describe a continuación.

10.2 Preparación de soluciones de A.F.A. para la valoración de la curva de calibración para el método HPLC

Para cuantificar A.F.A. se trabajó una curva de calibración en donde se emplearon las siguientes concentraciones en solución 1) 120 µg/mL se tomó una alícuota de la solución 1 y se aforó a un volumen de 25 ml con agua HPLC obteniéndose una concentración de 2) 4.8 µg/mL, se tomó una alícuota de 2 ml y se aforó a 10 mL con agua HPLC y se obtuvo una concentración

de 3) $0.96 \mu\text{g/mL}$, de la solución a2 se tomó una alícuota de 2 ml y se aforó a 5 ml con agua HPLC obteniéndose una concentración de 4) $1.92 \mu\text{g/mL}$; de la solución a2 se tomó una alícuota de 1 mL para aforar a 10 mL con agua HPLC se obtiene una concentración de 5) $0.48 \mu\text{g/mL}$. Se tomó una alícuota de 1 mL de la solución 5 la cual se aforó a 10 mL con agua HPLC se obtuvo una concentración de 6) $0.048 \mu\text{g/mL}$, se tomó una alícuota de 1 mL de la solución 5 y se aforó a 2 mL con agua HPLC obtuvo una concentración de 7) $0.240 \mu\text{g/mL}$ de la solución 7 se tomó una alícuota de 1 mL y se aforó a 2 mL con agua HPLC, se obtiene una concentración de 8) $0.120 \mu\text{g/mL}$, de la solución 6) se tomó una alícuotas de 0.5 mL y se aforó a 2 mL obteniéndose una concentración de 9) $0.012 \mu\text{g/mL}$.

10.3 Solución B

La Fase colocada dentro de la celda de Franz, siendo esta una solución de Etanol-Agua 50% grado HPLC. El etanol grado HPLC se filtra, a través de membranas millipore y el agua previamente a sido desionizada y posterior mente filtra. Se mezclan las proporciones de 50:50 de agua- etanol y se coloca en el ultrasonido en un tiempo de 30 segundos.

10.4 Solución C.

Solución de Fase móvil para el sistema cromatográfico; se emplean los siguientes disolventes Metanol (MetOH) Acetonitrilo (CH_3CN), Tetrahidrofurano (THF) y (H_2O) Agua. Los cuales deberán ser filtrados y deaireados antes de ser utilizados, lo mismo que el agua deberá ser previamente deionizada y deaireada.

El orden de la mezcla es: Primeramente se colocan 65.7 mL de agua, adicionando 19.1 mL de acetonitrilo agitando con suavidad, posteriormente se adiciona el metanol 9.5 mL y finalmente el tetrahidrofurano 5.7 mL, se agita suavemente y se coloca en el ultrasonido durante un tiempo de 30 segundos.

11 Descripción del método para el perfil de difusión de A.F.A. en diferentes membranas.

11.1 Método analítico

Para determinar la especificidad del método en las membranas naturales, se requirieron 3 cortes de piel tanto de cerdo como de humano y membrana artificial. Su análisis se propuso de una manera aleatoria como se describe en la Tabla No. 8

Tabla No. 8 Muestras aleatorias de las 3 membranas para la determinación del porcentaje de difusión de AFA.

No. De Membranas								
Humano			Cerdo			Artificial		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
No. Aleatorios								
6	5	7	2	1	9	4	8	3
5	7	3	9	1	4	2	8	6

11.2 Condiciones cromatográficas para A.F.A.

Tabla No.6 Condiciones cromatográficas de A.F.A. en el método experimental.

Columna: Ultrasphere XL dp 3 μ m, 4.6 mm X 7.0 cm Marca Beckman

Precolumna: Ultrasphere dp 5µm de 4.6 mm X 4.5 mm Marca Beckman

Fase móvil: Agua, acetonitrilo, metanol y Tetrahidrofurano a una proporción de 65.7:19.1.:9.5:5.7, respectivamente

Velocidad de flujo: 1 mL/min

Sensibilidad: Auf 0.1

Longitud de onda: 240 nm

Tiempo de análisis: 15 min

Vol. de inyección: 100 µL

11.3 Aparato empleado Celda de Franz

Se utiliza una celda de Franz con las siguientes características:

Celda de Franz. (Crown Glass Co., Inc., Semerville, NJ). Dimensiones:

Orificio con un diámetro interno de 15 mm (área de 1.767 cm²), diámetro exterior de 25 mm, volumen total del receptor de 7mL La celda de difusión que tiene una capacidad de 7 mL aproximadamente, se reguló la temperatura a 37 °C se coloca la membrana (humano, artificial o cerdo) en la parte media de la celda de Franz como lo muestra la Fig. 11, y se tomaron alícuotas de un volumen de 200 µL.^{20,43.}

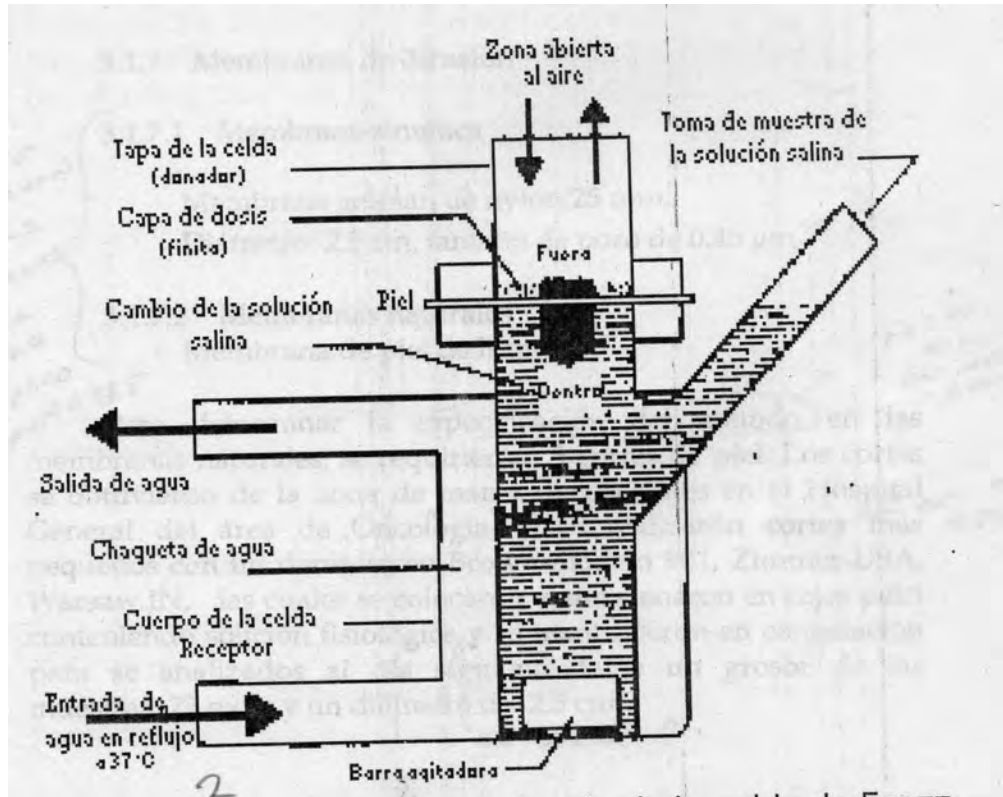


Figura No. 13. Celda de Franz

11.4 Condiciones de la celda de Franz

Temperatura 37 °C
 Solución B con un pH 5.6
 Fase de la celda etanol-agua 50 %
 Volumen de muestra tomada 200 μ L
 Volumen total del sol. B en la celda 7 mL
 Tiempos de muestreo de: 0,0.3, 0.5, 0.8, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20,
 25, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180,210, 240, 270, 300 min.

12 Membranas de difusión.

12.1 Membrana de piel de cerdo

Los cortes se obtuvieron del abdomen de los cerdos gracias a la donación del rastro local, las cuales se trasladaron en solución isotónica, y posteriormente se realizaron los cortes

con el dermatomo Brown modelo 901, Zimmer-USA, Warsaw, IN., y fueron colocadas en cajas petrí, conteniendo solución isotónica, se almacenaron y se mantuvieron en congelación para ser analizadas el día siguiente. Los cortes realizados presentaron un grosor aproximado de 27 micrómetros (μm) y un diámetro aproximado de 2.5 cm, con el objeto de poder cubrir el diámetro de la celda de Franz.

12.2 Membrana de piel humana

Los cortes se obtuvieron de la piel humana en específico de seno de pacientes del Hospital General del Área de Oncología que habían sido sometidas a cirugía por cáncer de mama, se trasladaron en solución isotónica, y posteriormente se realizaron los cortes con el dermatomo Brown modelo 901, Zimmer-USA, Warsaw, IN., fueron colocadas en unas cajas petri conteniendo solución isotónica se almacenaron y se mantuvieron en congelación para ser analizadas el día siguiente,

Los cortes realizados presentaron un grosor aproximado de 27 micrómetros (μm) y un diámetro como mínimo de 2.5 cm, con el objeto de poder cubrir el diámetro de la celda de Franz.

12.3 Membrana artificial

Membrana sintética

Membrana Gelman de nylon 25 mm

Tipo: hidrofílica

Diámetro: 2.5 cm, tamaño de poro 0.45 μm

Marca: 3 M

13 Método analítico

Se optimizó el método analítico para la determinación de A.F.A. por HPLC. Obteniéndose una proporción de H₂O, Acetaldehído, MetoH, THF de: 65.7: 19.1: 9.5: 5.7 respectivamente y una velocidad de flujo de 1 mL/min. Se validó el método en las siguientes condiciones. Ver Tabla No. 7

Tabla No. 7. Condiciones Cromatograficas para la detección de AFA.

Columna	Ultra esfera XL dp 3 µm, 4.6 mm X7.0 cm
Precolumna	Ultra esfera dp 5 µm de 4.6 mm X4.5 mm
Fase móvil	Agua, acetonitrilo, metanol y tetrahidrofurano en Vol. (69,20,10,6)
Velocidad de flujo	1 ml/min.
Detector	UV detector a 245 nm, 0.01AUFs
Tiempo de retención	7.4 min.
Volumen de inyección	100 µl

Al establecer las condiciones cromatográficas también de forma aleatoria se realizó el análisis de las diferentes muestras, empleando la piel de humano, de cerdo y membrana artificial. Ver Tabla No. 8

14 Validación del método

14.1 Linealidad

Se prepararon 3 curvas independientes por 3 días diferentes de 0.012, 0.048, 0.120, 0.240, 0.480, 0.960, 1.920 µg/mL de A.F.A, dichas concentraciones fueron preparadas con agua grado HPLC y se determinó la pendiente, intercepto y coeficiente de correlación.(Ver Figura No.15 y Tabla No.10)

14.2 Repetibilidad intradías

Para determinar la repetibilidad del método se prepararon soluciones de A.F.A. de 0.012, 0.048, 0.120, 0.240, 0.480, 0.960, 1.920 µg/mL dichas concentraciones fueron preparadas con agua grado HPLC y se analizaron tres muestras de todas y cada uno de los niveles de concentración por 3 días diferentes, aplicando la prueba estadística de ANOVA tomando las lecturas de concentración VS altura de pico.(Ver Figura No. 16 y Tabla No. 11 y 12).

14.3 Reproducibilidad interdías

Se prepararon 3 curvas independiente en 1 días de 0.012, 0.048, 0.120, 0.240, 0.480, 0.960, 1.920 µg/mL de AFA, dichas

concentraciones fueron preparadas con agua grado HPLC, y se aplicó la prueba de $T_{exp.} = 0.925 \cdot tT(\alpha 0.05) = 2.447$ no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la prueba de t .

La primera curva fue analizada por el Químico Manuel M.H. (Ver Figura No. 17 y Tabla No. 13)

Se preparó la solución A por triplicado de manera independiente en un día y se analizarán con analistas diferentes.

14.4 Especificidad del método

Para evaluar la especificidad del A.F.A. en la celda de Franz empleando las condiciones indicadas en el punto 10.3, colocándose única y exclusivamente las membranas correspondientes artificial, piel de cerdo y piel humana, sin muestra, de esta manera se obtuvieron las soluciones blanco de las diferentes membranas (Ver Figuras 20,21 y 22). Se analizó la solución empleadas en la celda de difusión, para verificó la presencia de posible interferencia en el método analítico.

En la celda de difusión de Franz se colocó la solución B que se mantuvo a temperatura de 37 °C con agitación continua. Se colocó la membrana artificial, y de cerdo y humana con un grosor de 27 micras y un diámetro de 2.5 cm. Aproximadamente, en la zona abierta superior de la celda, fijándola con la tapa de la misma celda sin muestra, posteriormente se muestreo al tiempo de 15 minutos en los 3 casos, tomando alícuotas de 200 μ l. Los resultados de las diferentes membranas artificial de cerdo y humana, se observan en las Figuras No. 23, 24 y 25.

14.5 Estabilidad de AFA

Se preparó la solución A, de la cual se almacenó a -15 °C y a temperatura ambiente se analizaron a las 0, 12, y 24 hrs, Fig. 18 y 19, Tabla 14 y 15.

14.6 Concentración mínima cuantificable

Es la concentración mínima encontrada en la curva validada sobre la linealidad del método (0.048 microgramos/ml).^{76, 77 y 78.}

14.7 Cantidad mínima detectable

Es la respuesta en altura encontrada con 5 veces más alto el tamaño del ruido que se detecte en el Cromatograma^{76,77 y 78}

14.8 Toma de muestra de AFA

En la celda de difusión de Franz se colocó la solución B se hace pasar el agua a reflujo por camisa de agua hasta alcanzar una temperatura regulada a 37 °C y se activó la barra magnética con agitación constante. Se colocó la membrana humana, artificial, o de cerdo en la zona abierta superior de la celda (Fig No.13), fijándola con la tapa de la misma, se colocó la muestra que pesa aproximadamente 1.120 g de AFA en crema (concentración del 0.1 %). Esta se colocó sobre la membrana ya fija sobre la celda de difusión y posteriormente se procede a la toma de muestra en el intervalo de tiempo de: 0, 0.3, 0.5, ,0.8, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300 min., en los 3 casos se tomó un volumen de 200 µL, para cada tiempo y a la misma altura del cuello de la celda de Franz.

15 Validación de la Celda de Franz

15.1 Validación

Se analizaron factores que se consideraron necesarios para la validación de la celda: nivelación, temperatura, velocidad de agitación, volumen de la celda, presencia de burbujas.

15.2 Nivelación

El cual se realizó con un nivel de tipo burbuja

15.3 Temperatura

Se tomaron 5 lecturas de temperatura con intervalos de 3 minutos cada uno, en 3 diferentes niveles de la celda, y por último una lectura a los 30 min., para asegurar la homogeneidad de la temperatura en la celda, manteniendo la agitación regulada

15.4 Velocidad de agitación

Se mantuvo a una agitación de 8.5 rpm aproximadamente, ya que el agitador magnético contaba con un regulador electrónico de velocidad, por lo que se fijaron las revoluciones antes mencionadas de forma manual durante 12 hrs continuas.

15.5 Volumen de la celda

Se mantuvo el volumen total de la celda de Franz a 7.5 ml, ya que el volumen extraído de 100 μ L para su análisis fue la misma que se adiciono de la solución B a la celda. ^{32,,43,44,64}

15.6 Presencia de burbujas

Para evitar este problema la solución se elimino el aire, con la ayuda de un ultrasonido por 15 segundos.

Variables en el medio de difusión (Burbujas); Se preparó 50 mL de una solución al 50% de etanol-agua la cual se colocó en el ultrasonido por 30 segundos para evitar la formación de burbujas en el medio.

16 Resultados

16.1 Validación y optimización del método

16.1.1 Condiciones Cromatograficas

Se realizaron varias mezclas de la fase móvil para obtener la que nos pudiera servir para el análisis de AFA

16.1.2 Pruebas realizadas para obtener la fase móvil adecuada

Tabla No. 9 Diferente condiciones cromatográficas para el análisis de A.F.A.

Fase móvil (mL)				Vel. flujo (mL/min)	Tiempo de Retención (min)
THF	Acetonitrilo	Agua	Metanol	V.F.	T.R.
11	15	74	---	1.4	8.30
10	13	77	---	1.4	7.9
5	10	85	---	1.4	15
8	11	77	5	1.4	10.50
8	13	74	5	1.0	6.15
6	13.5	74	7	1.4	4.50
6	14	71	10	1.4	2.42
6	14	71	10	1.0	9.39
6	17	71	10	1.0	10.70
6	20	69	10	1.0	8.10
5	19	67	9	1.0	7.93
5	19	67	9	1.4	6.13
6	20	69	10	1.0	7.4

Después de haber realizado varios experimentos para optimizar la respuesta de AFA lo que se obtuvo fue: (Ver Tabla No. 7)

Tabla No.7. Condiciones Cromatograficas empleadas para el análisis de AFA.

Columna	Ultra esfera XL dp 3 μ , 4.6mm X7.0cm
Precolumna	Ultra esfera dp 5 μ de 4.6mm X4.5mm
Fase móvil	Agua, acetonitrilo, metanol y tetrahidrofurano en Vol. (69,20,10,6)
Velocidad de flujo	1mL/min.
Detector	UV detector a 245nm, 0.01AUFS

Tiempo de retención	7.4min.
Volumen de inyección	100µL

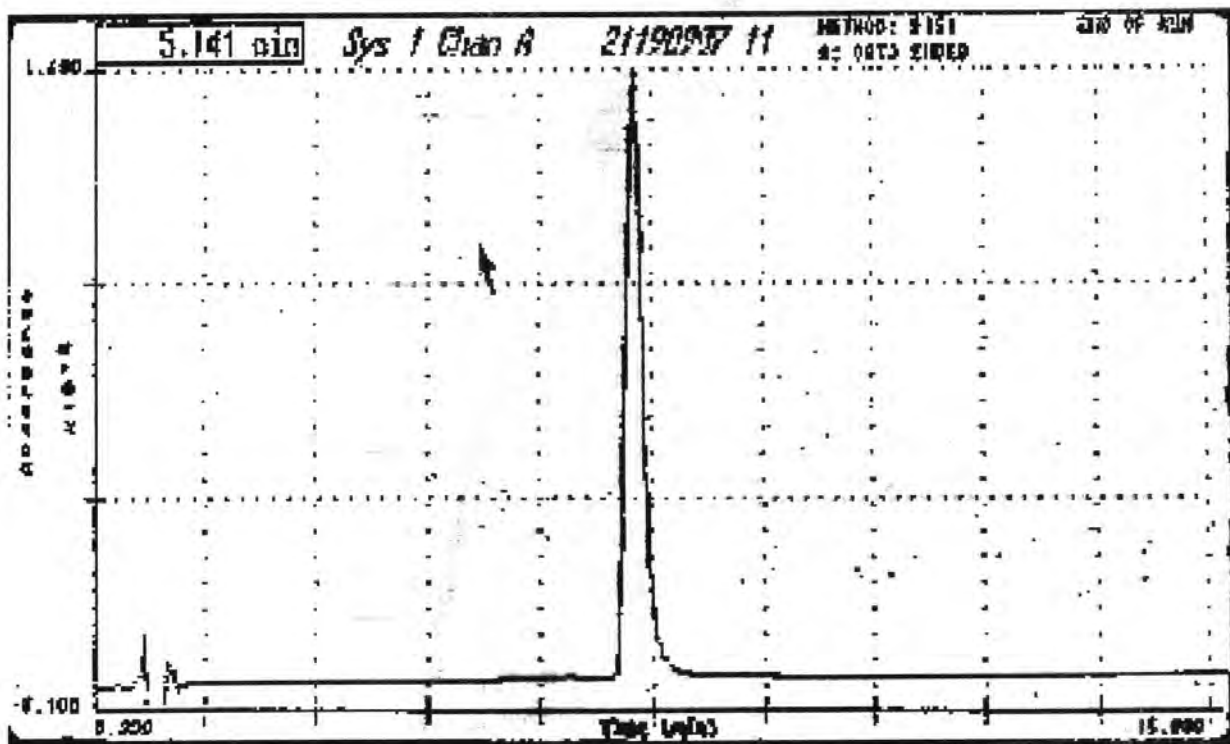


Figura No. 14 Cromatograma de AFA en las condiciones de fase móvil: H₂O-CH₃-CH₂-CN:CH₃-OH:THF (65.7:19.1:9.5:5.7, tiempo de retención de 7.4 minutos, con un detector UV a una longitud de onda de 245 NM, con inyector manual, Velocidad de flujo de 1 mL/min

16.2 Linealidad del método.

Se obtuvieron los resultados de linealidad del sistema reportado en la Tabla No.10 en las concentraciones de 0.048 µg/mL a 1.92 µg/mL con sus respectivos coeficientes de variación (ver Fig. No.13).

Tabla No. 10 Linealidad del método

Conc.	DIA1				DIA 2		X	DS	%CV
µg/ml	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP	AP
0.048	28	30	30	31	26	27	26.716	5.3645	0.201
0.120	59	65	71	69	50	42	56.15	11.553	0.1953
0.240	133	127	144	148	92.4	84.2	121.43	127.91	0.4082
0.480	256	240	242	267	226	166	236.07	240.161	0.1701
0.960	450	471	526	537	418	354	410.10	1264.1	1.3179
1.920	1072	1100	1084	1126	970	728	1013.3	149.62	0.1476

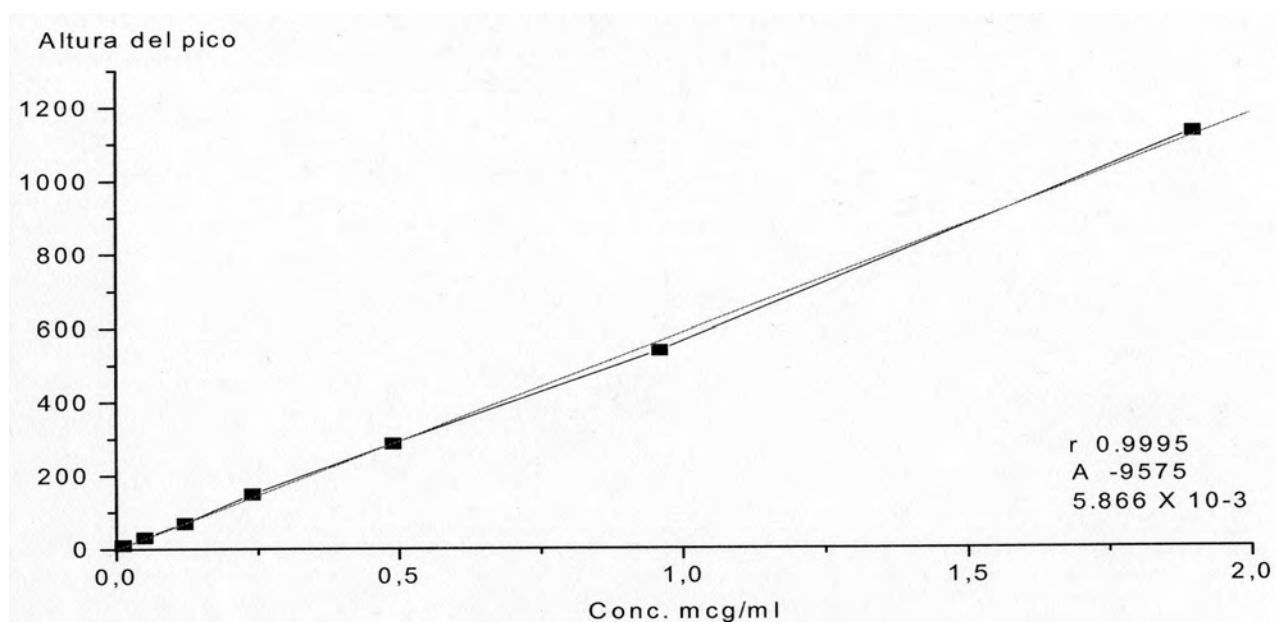


Figura No. 15 Linealidad del método para A.F.A.

16.3 Repetibilidad del método (Intradías).

Los resultados de repetibilidad se muestran en la Tabla No. 11 y 12, Figura No. 16

Tabla No. 11 Repetibilidad del método en el cromatógrafo modelo Gold System

Conc. $\mu\text{g}/\text{mL}$	Promedio de 3 curvas Altura del pico 1era curva	Altura del pico (HP) 2da curva	Altura del pico 3er.	%C.V.1 día	%C.V.2 Día	%C.V.3 Día
0.048	30.8	28.2	24.8	1.62	1.70	1.68
0.120	68.8	58.2	50.7	1.60	1.40	1.30
0.240	148	129.7	90.2	1.50	1.20	1.38
0.480	286.6	287	256	1.70	1.50	1.61
0.960	537	482	419.8	0.53	1.50	.50
1.920	1126	996	997	0.58	0.55	0.54

Se aplicó una prueba de **ANOVA**, encontrando que no existen diferencias estadísticamente significativas entre días, dado que la $F_{\text{exp}} = 0.625$, y $F_t(0.05) = 3.153$ por lo que $F_{\text{exp}} < F_t(0.05)$.

Tabla No.12 Repetibilidad del método.

CONC mcg/mL	Altura del pico (HP)	HP x 10 + 15 Datos graficados
0.0120	9.78×10^{-5}	9.78
0.049	3.08×10^{-4}	30.8
0.120	6.88×10^{-4}	68.8
0.240	1.48×10^{-3}	1480
0.490	2.87×10^{-3}	2870
0.960	5.37×10^{-3}	5370
1.900	0.01126	11260

$$r = 0.999$$

$$A = 1.295 \times 10^{-5}$$

$$B = 5.866 \times 10^{-3}$$

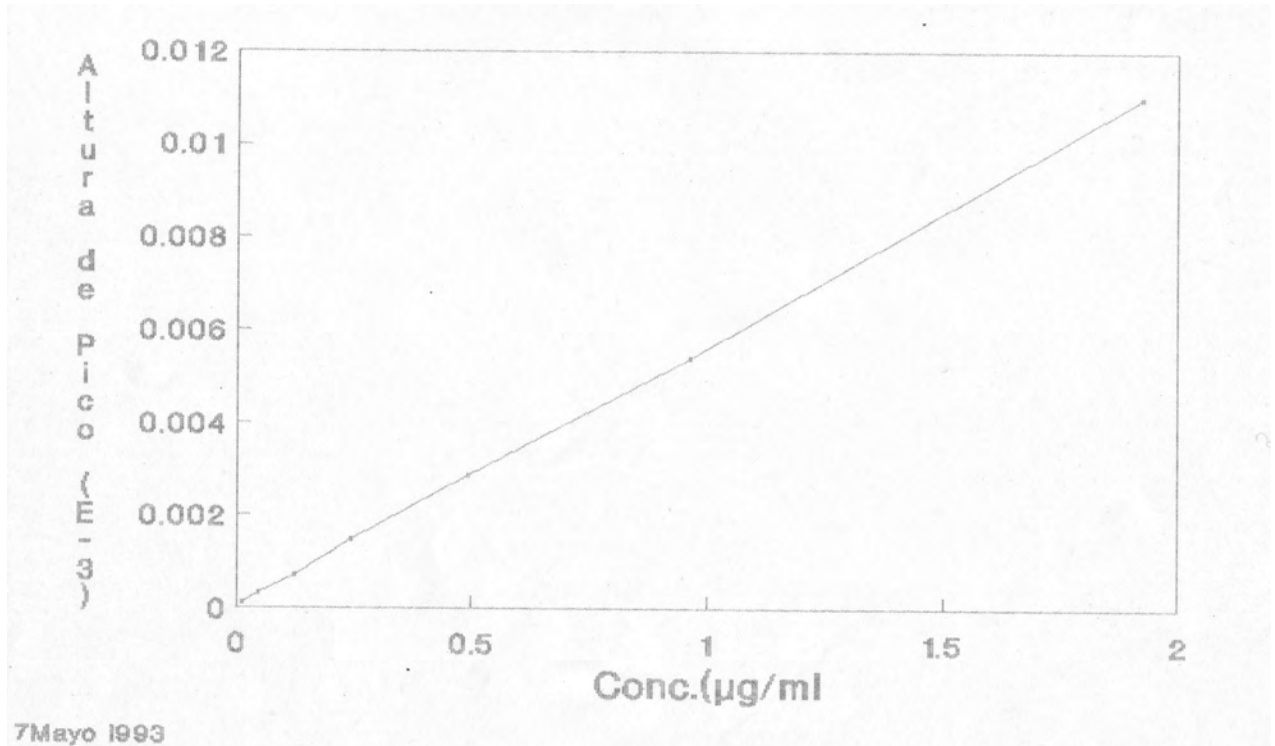


Figura No. 16 Repetibilidad del método.

16.4 Reproducibilidad

Reproducibilidad obtenida de un valor de $t_{exp.} = 0.925$ menor al $tT(\alpha 0.05) = 2.447$. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la prueba de t . La primera curva fue analizado por el Químico Manuel M.H. se muestra en la Tabla No. 13 y Figura No. 15

Tabla No. 13 Reproducibilidad del método

Conc. µg/ml	Curva 1	Curva 2	Curva 3
	Altura del Pico	Altura del pico	Altura del Pico
0.048	28	17.4	33.3
0.120	59	43.10	55.6
0.240	100	87.10	100
0.480	300	200	200
0.960	500	400	400
1.920	1100	800	800

Altura de pico

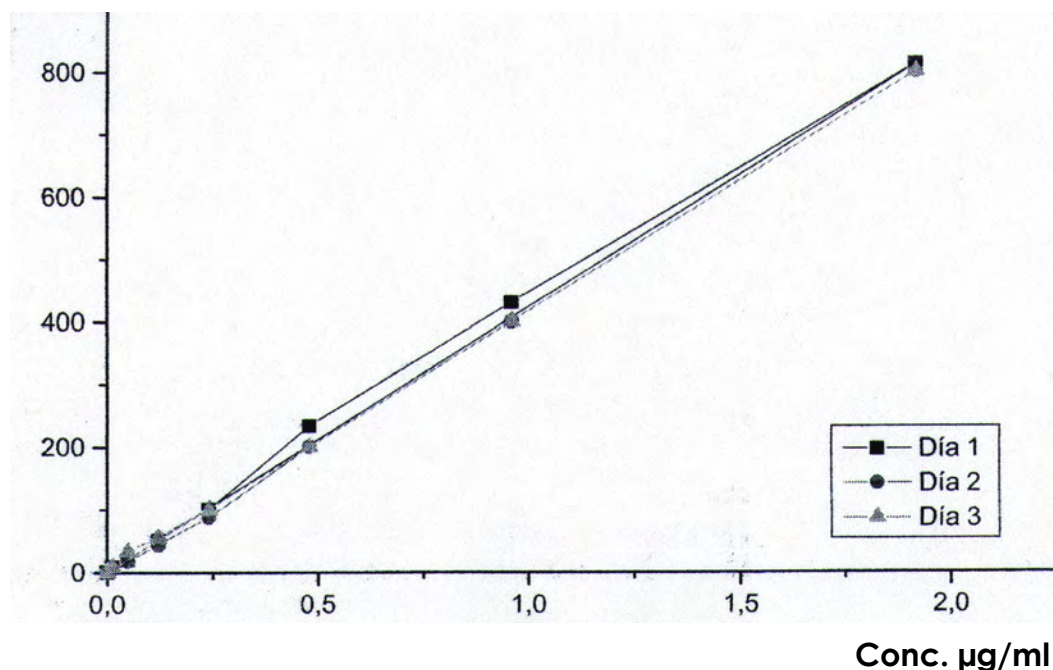


Figura No. 17 Reproducibilidad del método AFA.

16.5 Cantidad mínima cuantificable

Uno de los puntos característicos de la recta de calibración es la señal para la concentración cero, que puede tener diferente significado si corresponde a la medida realizada sobre los reactivos sin la muestra, prueba en blanco de los reactivos. O bien se realiza sobre la muestra sin alguno de los reactivos esenciales, prueba en blanco de la matriz de la muestra.

En el método de cromatografía de líquidos empleado para la determinación de AFA en las membranas naturales y artificiales, se puede cuantificar una concentración mínima de 0.048 µg/ml, ya que cumple con los requerimientos de validación para el análisis cromatográfico.

16.6 Cantidad mínima detectable

Fue de 0.0112 µg/ml tomando como referencia el ruido de la línea base, siendo la concentración mínima detectable tres veces mayor al ruido de la línea base.

16.7 Estabilidad de la muestra a -15°C y a Temperatura ambiente

Tabla No. 14 Estabilidad de muestras a -15°C Acetonido de Fluocinolona Porciento de AFA no degradada.

Día	Conc. 0.062	Conc. 0.082	Conc. 0.135	Conc. 0.227	Comc. 0.421	Conc. 0.798	Conc 1.93
1	100	100	100	100	100	100	100
2	91.22	98.53	99.03	97.18	100	100	80.45
3	89.11	81.03	70.26	67.39	44.82	47.28	51.13

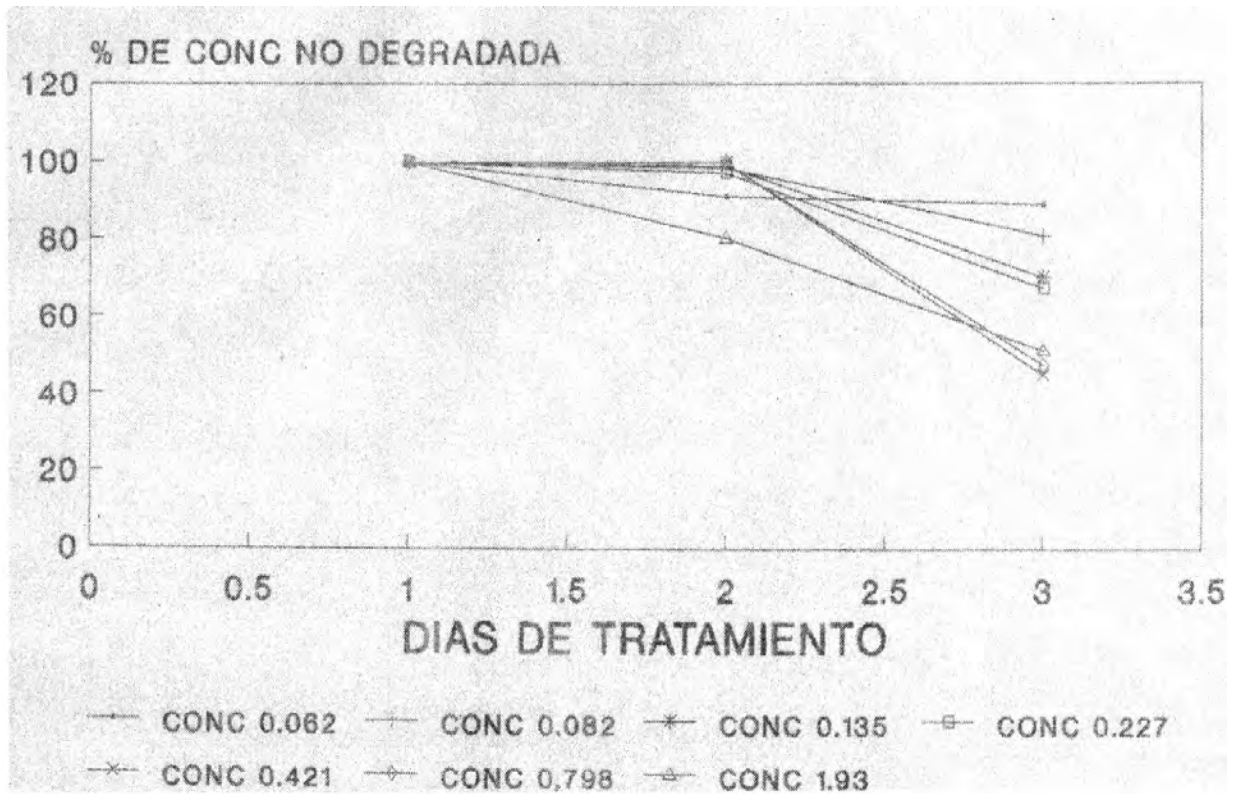


Figura No. 18 Estabilidad de muestras a una temperatura de -15°C Porciento de A.F.A. no degradada.

Tabla No. 15 Estabilidad de muestras a temperatura ambiente Acetonido de Fluocinolona anhidra Porciento de A.F.A. no degradada.

Día	Conc. 0.062	Conc. 0.082	Conc. 0.135	Conc. 0.227	Comc. 0.421	Conc. 0.798	Conc. 1.93
1	100	100	100	100	100	100	100
2	96.58	97.13	90.525	96.41	98.84	96.42	83.34
3	99.82	91.88	89.811	74.81	59.78	67.91	70.54

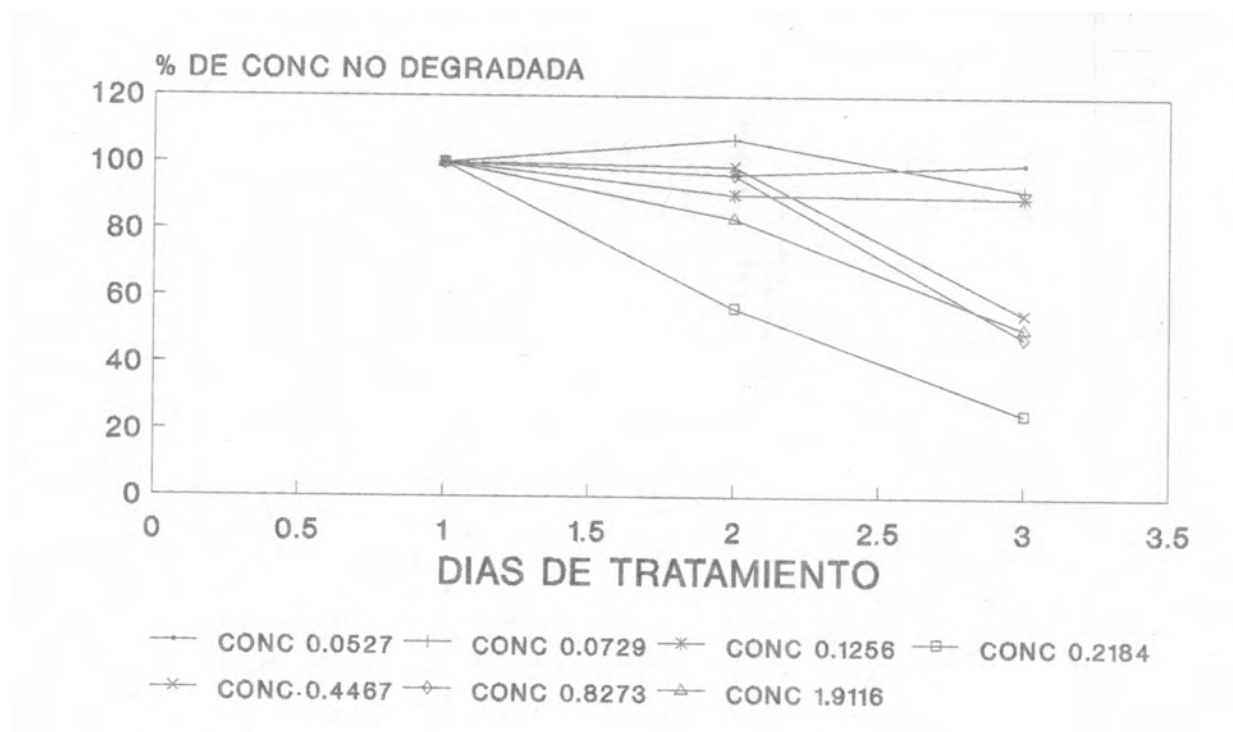


Figura No. 19 Estabilidad de muestras a temperatura ambiente Acetonido de Fluocinolona Porciento de AFA no degradada

17 Especificidad

17.1 Especificidad del método del blanco.

Se muestran las Figuras No 20, 21 y 22 donde se observa el paso de la solución blanco sin AFA. a través de cada una de las membranas.

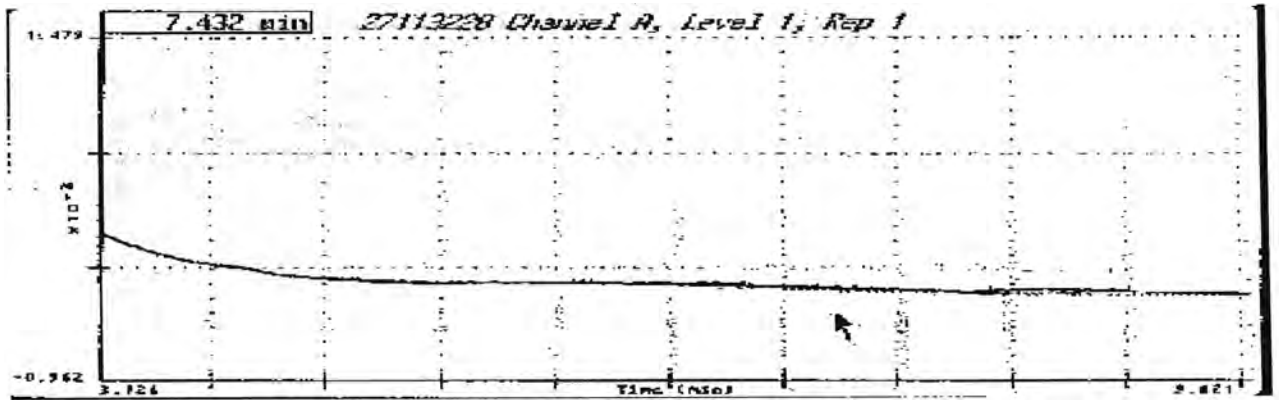


Figura No. 20 Especificidad utilizando la celda de Franz, Fase móvil con paso a través de membrana artificial (Blanco)

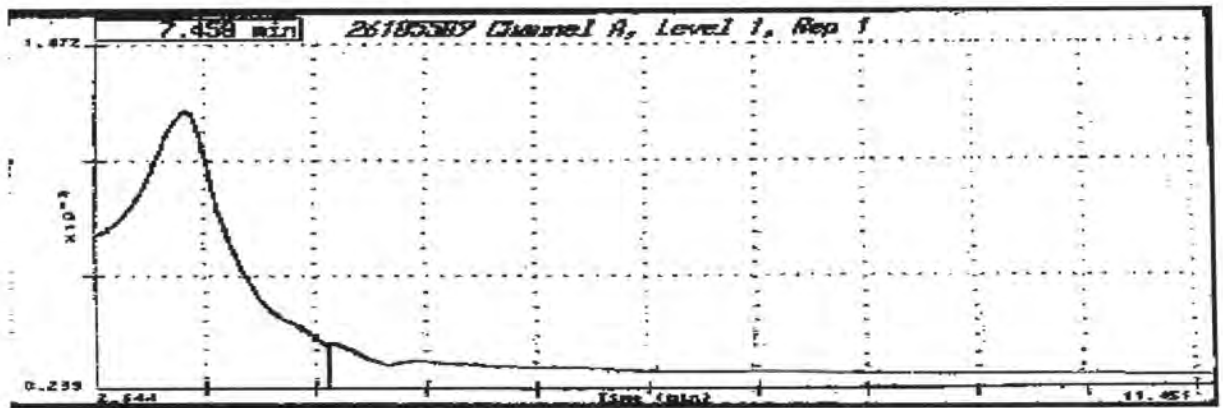


Figura No. 21 Especificidad utilizando la celda de Franz, ase móvil con paso a través de membrana de piel de cerdo (blanco)

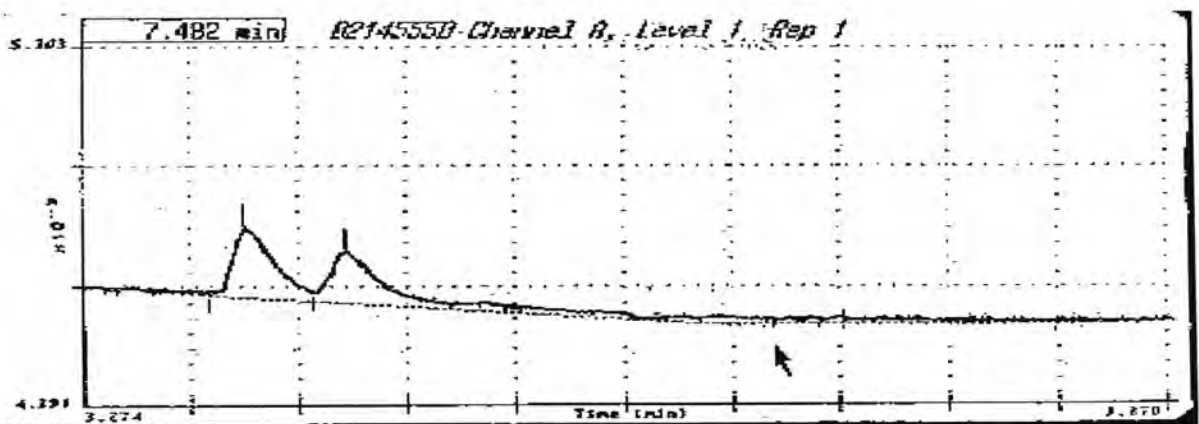


Figura No.22 Especificidad utilizando la celda de Franz, ase móvil con paso a través de membrana de piel humana (blanco)

17.2 Especificidad del método A.F.A. en crema.

Resultado ser específico el método empleando la crema de acetónido de fluocinolona anhidra con paso a través de membrana artificial, piel de cerdo y de piel humana, mostrada en las Figuras. 23, 24 y 25.

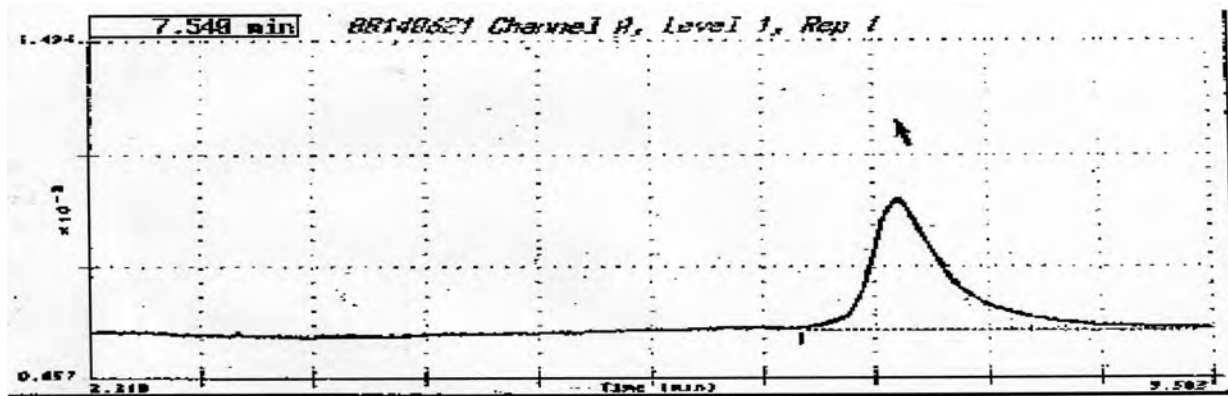


Figura No.23 Especificidad utilizando la celda de Franz, crema de A.F.A. con paso a través de membrana artificial.

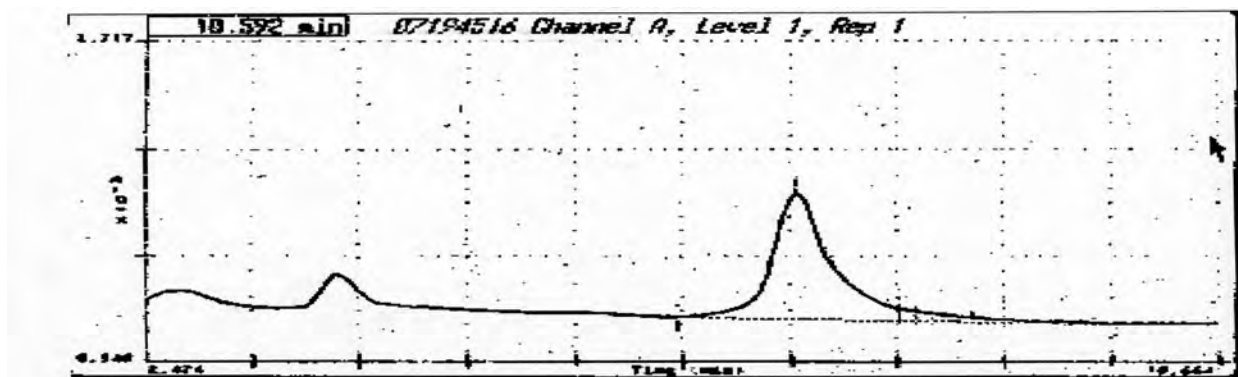


Figura No.24 Especificidad utilizando la celda de Franz, crema de A.F.A. con paso a través de piel de cerdo.

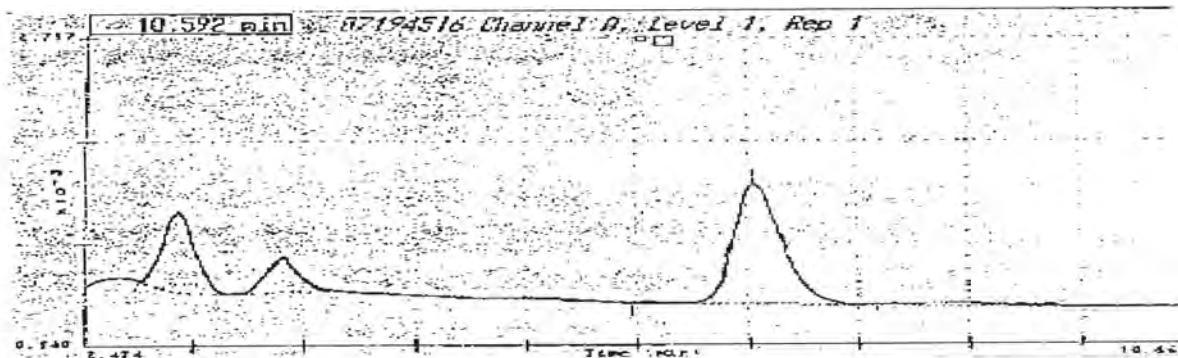


Figura No.25 Especificidad utilizando la celda de Franz, crema de A.F.A. con paso a través de piel de humano.

18 Difusión de A.F.A.

El estudio de la difusión de AFA se ha aplicado en las membranas de diferente especie.^{76, 77,78}

Naturales	<	Piel humana pacientes de Ontología de Centro Médico siglo XXI
	<	Piel de cerdo de la zona de abdomen.

Artificial	<	Membrana sintética
	<	Membrana Gelman de nylon 25 mm.
	<	Tipo: hidrofílica
	<	Diámetro: 2.5 cm, tamaño de poro 0.45 µm. Marca 3M

TABLA No. 16 Resultados del porcentaje difundido de AFA en los diferentes intervalos de tiempo con la membrana artificial (n = 6) en la celda de Franz, Temp. 37°C ± 0.5°C.

TIEMPO (h)	A1	A2	A3	A4	A5	A6
0	0	0	0	0	0	0
0.017	5.7	6.3	6	5.8	6.7	5.3
0.033	6.1	6.5	6.2	6.96	7.3	5.9
0.05	7.7	7.8	7.2	8.21	7.8	6.61
0.066	9.8	8.5	9.8	10	8.5	7.8
0.0833	13.9	9.1	10.3	11.12	9.1	8.5
0.166	24.5	11.2	14.5	23.11	11.2	9.1
0.333	27.2	24.69	24.9	26.25	24.69	11.2
0.5	35.7	25.2	26	29.81	25.2	20.37
1	36.4	28	28	38.7	28	25.2
1.5	42.9	34.4	38	44	34.4	28
2	44.1	62	38.3	54.06	62	34.4
2.5	55.2	63.39	44.3	57.9	63.39	62
3	58.9	73.27	46.8	62.8	73.27	63.39
3.5	60.6	83.78	57.4	65.8	83.78	73.27
4	68.2	91.512	67	71.2	85.17	83.78
4.5	76.7	93.82	63.2	75.3	86.978	85.17
5	78.9	94.02	69.2	88.5	87.04	86.978
5.5	81.3	94.48	71.8	91	90.61	91.25
r	0.9591	0.9759	0.9701	0.9697	0.9689	0.9861
r ²	0.9793	0.9879	0.9849	0.9847	0.9843	0.9930
Ft(0.05,18)	3.55		3.55		3.55	
Fcal	0.182		0.720		0.176	
p	0.672		0.402		0.681	

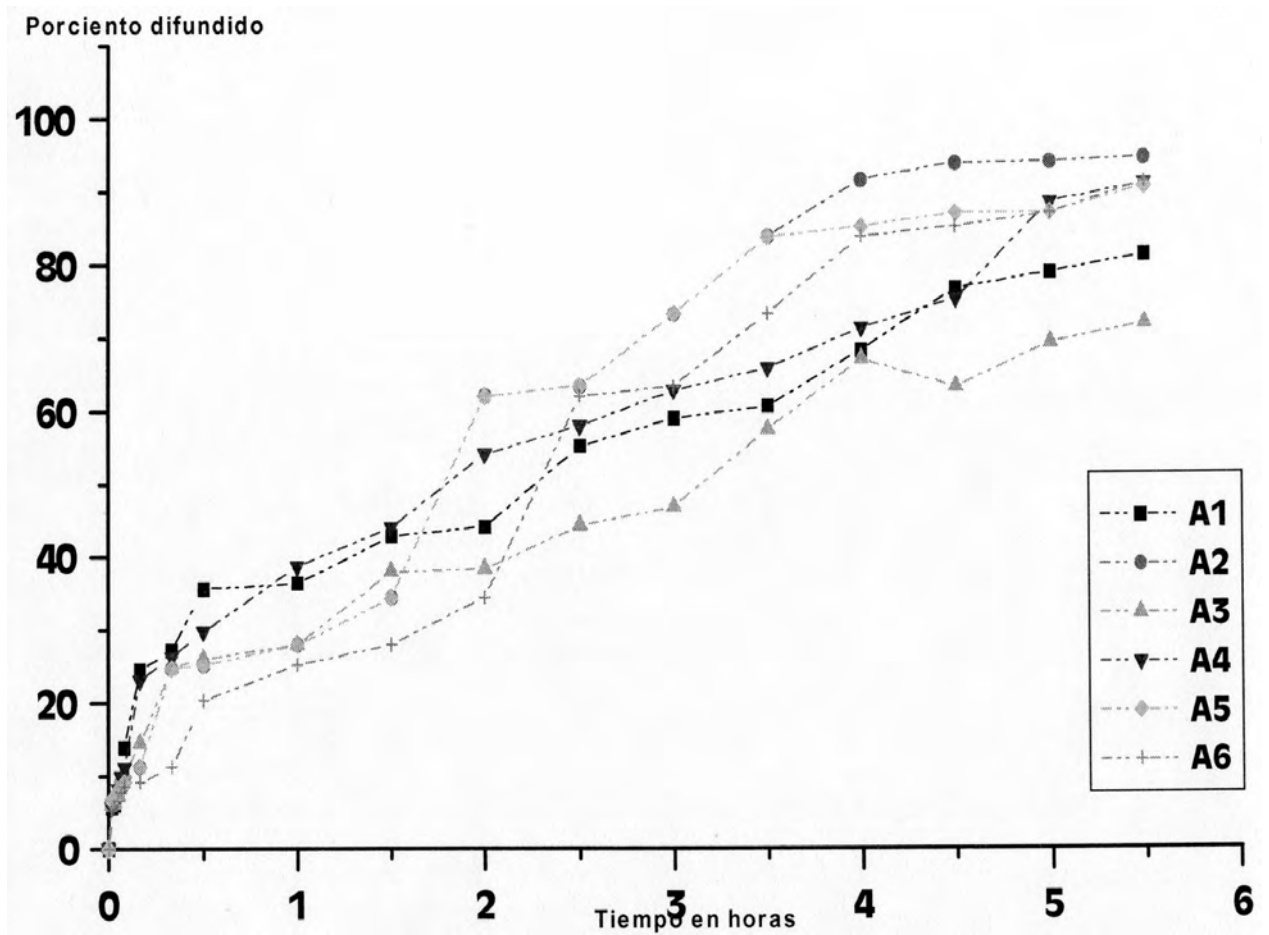


Figura No. 26 Resultados del porcentaje difundido de AFA n los diferentes intervalos de tiempo con la membrana artificial (n = 6) en celda de Franz, Temp. 37°C ± 0.5°C.

TABLA No. 17 Cantidad acumulada de AFA en los diferentes Intervalos de tiempo con la Membrana Artificial (n = 6) en celda de Franz, Temp. 37°C ± 0.5°C

TIEMPO(h)	A1	A2	A3	A4	A5	A6
0	0	0	0	0	0	0
0.017	57	63	60	58	67	53
0.033	61	65	62	69.6	73	59
0.05	77	78	72	82.1	78	66.1
0.066	98	85	98	100	85	78
0.0833	139	91	103	111.2	91	85
0.166	245	112	145	231.1	112	91
0.333	272	246.9	249	262.5	246.9	112
0.5	357	252	260	298.1	252	203.7
1	364	280	280	387	280	252
1.5	429	344	380	440	344	280
2	441	620	383	540.6	620	344
2.5	552	633.9	443	579	633.9	620
3	589	732.7	468	628	732.7	633.9
3.5	606	837.8	574	658	837.8	732.7
4	682	915.12	670	712	851.7	837.8
4.5	767	938.2	632	753	869.78	851.7
5	789	940.2	692	885	870.4	869.78
5.5	813	944.8	718	910	906.1	912.5
r	0.954	0.9758	0.971	0.969	0.976	0.954
Ft (05,18)	3.55		3.55		3.55	
Fcal	0.326		0.0277		1.773	
P	0.578		0.868		0.190	

Cantidad acumulada

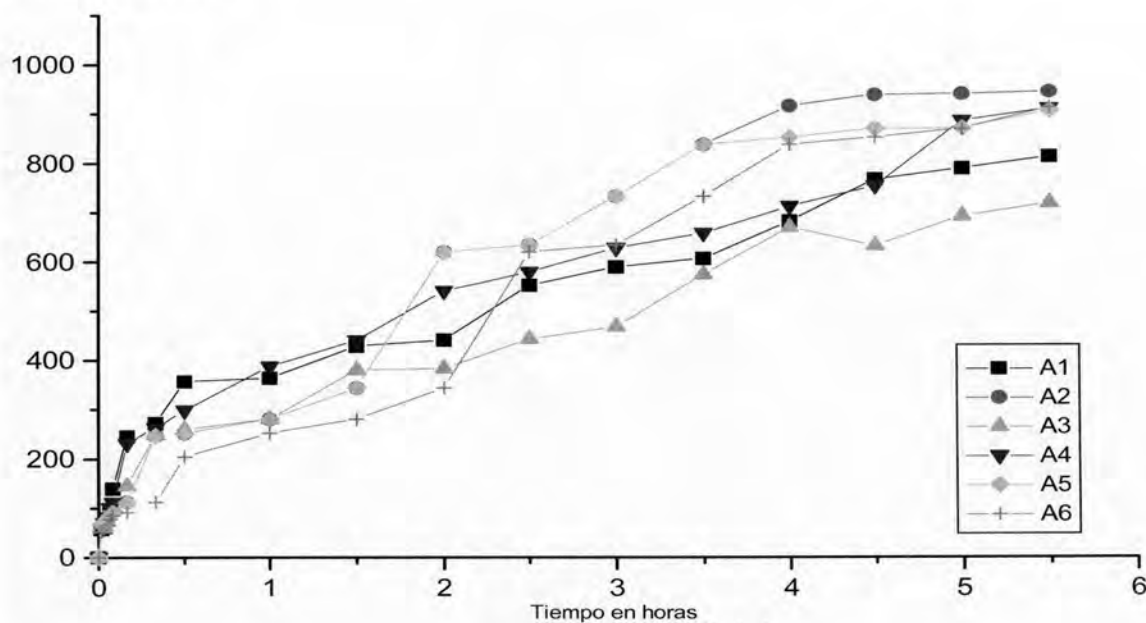


Figura No. 27 Cantidad acumulada de AFA en los diferentes Intervalos de tiempo con la Membrana Artificial (n = 6) en celda de Franz, Temp. 37°C ± 0.5°C.

TABLA No. 18 Resultados del Porciento de difusión de AFA en los diferentes Intervalos de tiempo con la Piel de Cerdo (n = 6) en celda de Franz, Temp.. 37°C ± 0.5°C

Tiempo (h)	Mc2	MdC2	MC2	Mdc3	MDC3	MAc2
0	0	0	0	0	0	0
0.017	0.11923	0.998	0.12947	0.10371	0.232	0.068177
0.033	0.43928	0.41916	0.48421	0.43559	0.40358	0.36817
0.05	1.02709	0.8982	1.06	1.03713	0.80033	0.59233
0.066	1.75086	1.57989	1.82737	1.74238	0.89258	0.94567
0.0833	2.59492	2.56088	2.70105	2.55134	8.446	1.5015
0.333	3.63874	4.36826	3.89263	3.51172	8.69983	2.78733
0.5	5.58833	6.95709	5.95579	5.38798	16.41483	5.4915
0.666	8.08807	11.13074	8.20632	8.08027	16.88467	8.67067
1	12.29369	16.93613	12.38526	12.41444	25.0065	14.4165
1.5	17.6174	23.37226	17.65895	17.7878	27.04467	20.78733
2	23.75693	30.73952	23.74316	24.98548	38.97567	29.794
2.5	31.45487	38.74651	31.21684	32.71209	42.20333	36.68733
3	39.91633	47.29641	39.70105	41.13358	55.08733	48.21067
3.5	49.92679	56.07585	50.00211	50.06638	58.96092	56.01233
4	60.3598	65.06687	60.62947	59.31757	72.92317	68.07733
4.5	70.93609	75.25649	71.41368	69.8548	78.25592	75.529
5	81.52181	87.23253	82.66737	80.60983	82.65817	87.97733
5.5	92.29683	98.61178	94.30316	91.46857	98.23175	95.964
r	0.99364	0.99491	0.99169	0.99278	0.98583	0.99388
r ²	0.9968	0.9974	0.9958	0.9964	0.9929	0.9969
Ft (0.05,18)	3.55		3.53		3.55	
Fcal	0.00251		0.03477		0.02497	
p	0.96031		0.85314		0.87531	

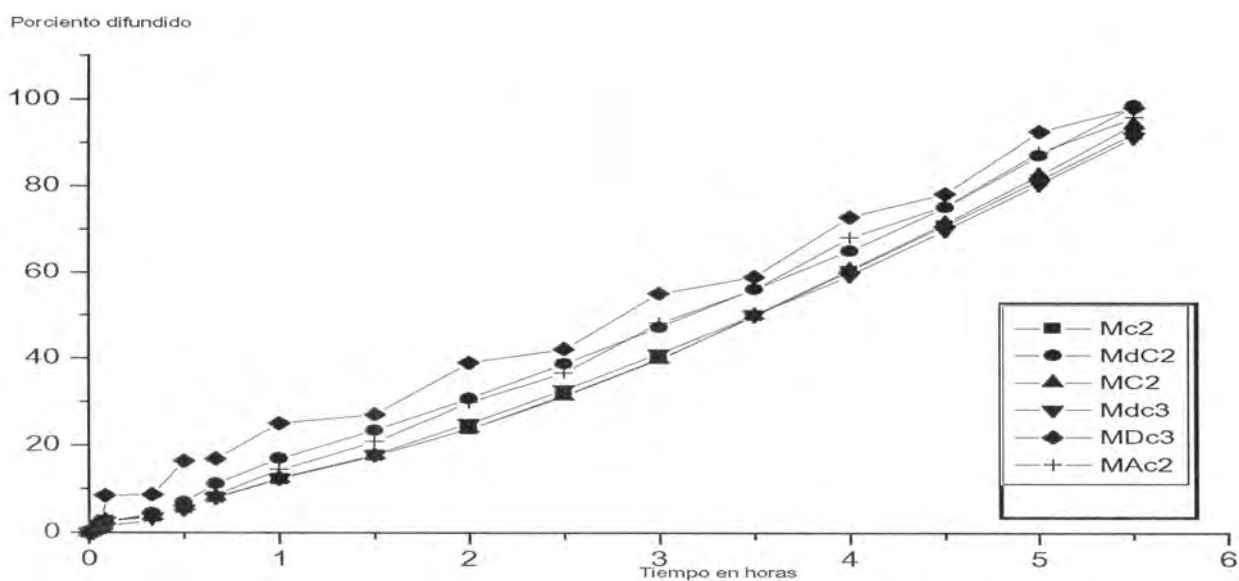


Figura No. 28 Resultados del Porciento de difusión de AFA en los diferentes Intervalos de tiempo con la Piel de Cerdo (n = 6) en celda de Franz, Temp.. 37°C ± 0.5°C

TABLA No. 19 Cantidad acumulada de AFA en los diferentes Intervalos de tiempo en Piel de Cerdo (n = 6) en celda de Franz, Temp.. 37°C ± 0.5°C

Tiempo (h)	Mc2	MdC2	MC2	Mdc3	MDc3	MAc2
0	0	0	0	0	0	0
0.17	11.4	10	12.3	10.0	27.84	8.18
0.033	42.0	42.0	46.0	42	48.43	44.18
0.05	98.2	90.0	100.7	100.0	96.04	71.08
0.066	167.4	158.3	173.6	168.0	107.23	113.48
0.0833	248.1	256.6	256.6	246.0	1013.52	180.18
0.333	347.9	437.7	369.8	338.6	1043.98	334.48
0.5	534.3	697.1	565.8	519.5	1969.78	658.98
0.666	773.3	1115.5	779.6	779.1	2026.16	1040.48
1	1175.4	1697	1176.6	1197.1	3000.78	1729.98
1.5	1684.4	2341.9	1677.6	1715.1	3245.36	2494.48
2	2271.4	3080.1	2255.6	2409.1	4673.08	3575.28
2.5	3007.4	3882.4	2965.6	3154.1	5064.46	4402.48
3	3816.4	4739.1	3771.6	3966.1	6610.48	5785.28
3.5	4773.5	5618.8	4750.2	4827.4	7075.31	6721.48
4	5771.0	6519.7	5759.8	5719.4	8750.78	8169.28
4.5	6782.2	7540.7	6784.3	6735.4	9390.71	90963.48
5	7794.3	8740.7	7853.4	7772.4	11118.98	10557.28
5.5	8824.5	9880.9	8958.8	8819.4	11787.81	11515.68
r	0.9922	0.9972	0.991	0.994	0.993	0.993
r ²	0.9961	0.9986	0.9954	0.9969	0.9964	0.9964
Ft (0.05,18)	3.55		3.55		3.55	
Fcal	0.03942		0.33837		1.2583	
p	084358		0.5389		0.2683	

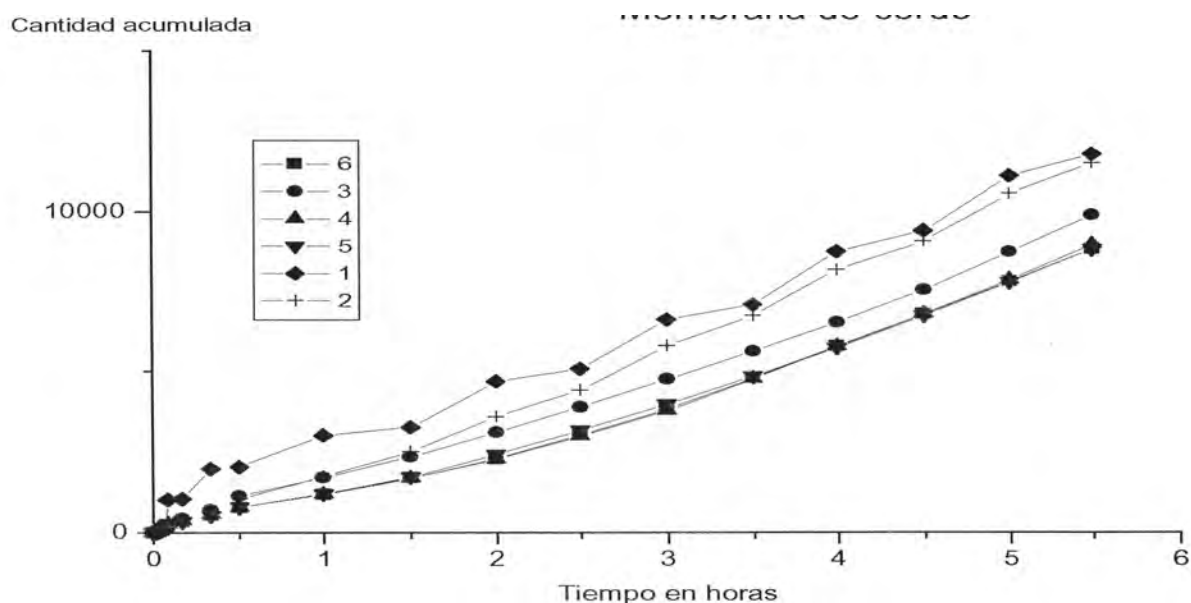


Figura No. 29 Cantidad acumulada de AFA en los diferentes Intervalos de tiempo en Piel de Cerdo (n = 6) en celda de Franz, Temp.. 37°C ± 0.5°C

TABLA No. 20 Resultados del porcentaje difundido de AFA en los diferentes intervalos de tiempo en Piel Humana (n = 6) en la celda de Franz, Temp. 37° C ± 0.5° C.

Tiempo (h)	DH2	Me2	DH3	PH3	Me3	PH2
0	0	0	0	0	0	0
0.17	04833	0.1967	0.4927	0.2917	0.385	0.182
0.033	1.12	0.3992	1.013	06418	0.784	0.3695
0.05	1.935	0.6142	1.613	1.125	1.526	0.5753
0.066	2.768	0.8467	2.26	1.65175	2.32075	0.8078
0.0833	3.752	1.1758	2.92	2.482	3.123	1.056
0.333	5.003	1.763	3.607	3.335	4.083	1.592
0.5	6.453	2.903	4.73	4.424	5.21	2.72
0.666	8.03	4.389	5.996	5.955	6.746	4.203
1	10.03	7.178	8.011	8.775	9.275	6.934
1.5	12.869	11.01	11.329	12.194	12.863	10.79
2	16.439	15.467	16.0389	17.214	17.1825	15.138
2.5	20.713	20.839	21.712	22.613	22.268	20.512
3	25.548	26.683	28.305	28.282	27.959	26.267
3.5	30.573	32.804	35.786	34.395	33.837	32.32
4	36141	39.728	43.508	41.155	40.385	39.23
4.5	41.92	46.848	52.106	48.543	47.021	46.2
5	47.91	54.268	60.794	55.995	53.696	53.45
5.5	54.01	61.813	69.567	63.538	60.543	60.645
r	0.9936	0.9917	0.9858	0.9928	0.9939	0.9918
r ²	0.9968	0.9958	0.9929	0.9969	0.9969	0.9959
Ft (0.05,18)	3.55		3.55		3.55	
Fcal	0.03478		0.03478		0.025	
p	0853		0.8531		0.8752	

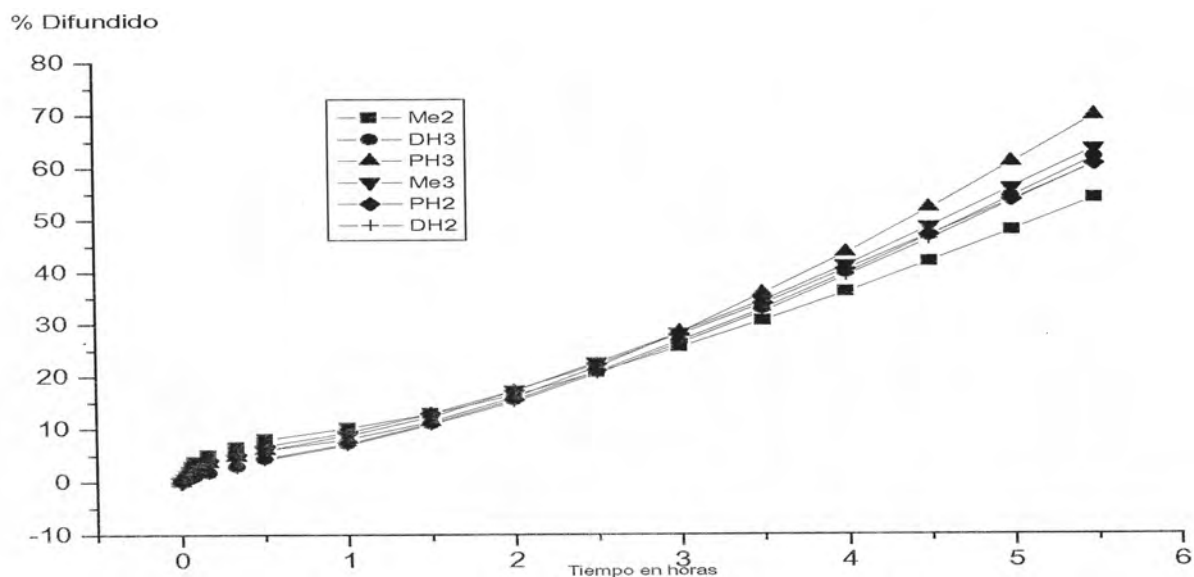


Figura No. 30 Resultados del porcentaje difundido de AFA en los diferentes intervalos de tiempo en Piel Humana (n = 6) en la celda de Franz, Temp. 37° C ± 0.5° C.

TABLA No. 21 Cantidad acumulada de AFA en los diferentes intervalos de tiempo en Piel Humana (n = 6) EN Celda de Franz, TEMP 37° C ± 0.5° C

Tiempo (h)	DH2	Me2	DH3	PH3	Me3	PH2
0	0	0	0	0	0	0
0.17	21.84	58	23.6	35.0	59.6	46.2
0.033	44.34	134.2	47.9	77.01	121.6	94.1
0.05	69.04	232.2	73.7	135.01	193.9	182.6
0.066	96.94	332.2	101.6	158.21	271.2	278.49
0.0833	126.73	450.2	141.1	297.81	350.7	374.75
0.333	191.04	600.4	211.6	400.21	432.82	489.95
0.5	326.43	774.4	348.1	530.91	568.02	625.2
0.666	504.39	963.3	526.7	714.61	719.62	809.5
1	832.06	1203.7	861.3	1052.95	961.35	1113.0
1.5	1295.03	1544.2	1321.1	1463.22	1359.55	1543.6
2	1816.67	1972.3	1856.0	2065.72	1924.65	2061.9
2.5	2416.43	2485.3	2500.7	2713.62	2605.44	2672.1
3	3152.1	3065.7	3201.9	3393.82	3396.66	3355.1
3.5	3878.08	3668.8	3936.5	4127.4	4294.36	4060.1
4	4707.85	4336.9	4767.34	4938.6	5220.99	4846.1
4.5	5544.1	5030.54	5621.74	5824.95	6252.79	5642.5
5	6414.3	5749.14	6512.24	6719.42	7295.29	6443.5
5.5	7277.40	6480.64	7417.54	7624.76	8348.09	7265.1
r	0.99184	0.99362	0.99169	0.9928	0.98583	0.99388
r ²						
Ft (0.05, 18)	3.55		3.55		3.55	
Fcal	0.03478		0.03478		0.025	
p	0853		0.8531		0.8752	

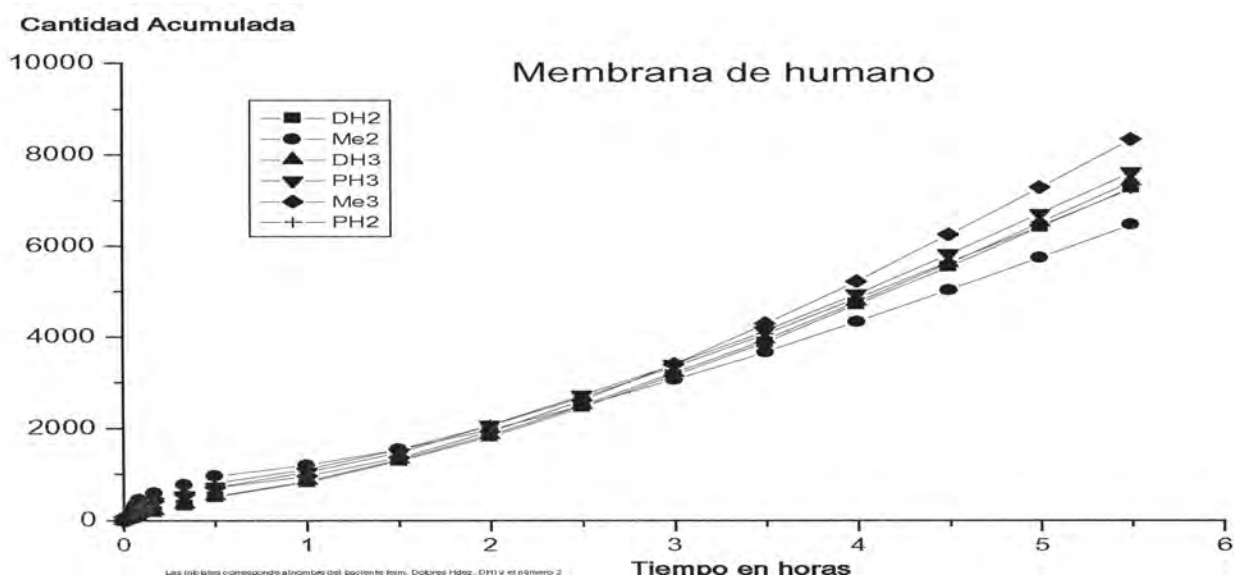


Figura No. 31 Cantidad acumulada de AFA en los diferentes intervalos de tiempo en Piel Humana (n = 6) en Celda de Franz, TEMP 37° C ± 0.5° C

TABLA No. 22 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana artificial contra tiempo en horas en Celda de Franz.

Tiempo (h)	A1	A2	A3	A4	A5	A6
0	0	0	0	0	0	0
0.17	0.756	0.799	0.778	0.763	0.826	0.724
0.033	0.785	-0.813	0.792	0.843	0.863	0.771
0.05	0.887	-0.892	0.857	0.914	0.892	0.820
0.066	0.991	0.929	0.991	1	0.929	0.892
0.0833	1.143	0.959	1.012	1.046	0.959	0.929
0.333	1.389	1.049	1.161	1.364	1.049	0.959
0.5	1.434	1.393	1.396	1.419	1.393	1.049
0.666	1.553	1.401	1.415	1.474	1.401	1.309
1	1.561	1.447	1.447	1.588	1.447	1.401
1.5	1.633	1.537	1.580	1.643	1.537	1.447
2	1.645	1.792	1.583	1.733	1.792	1.537
2.5	1.742	1.802	1.646	1.763	1.802	1.792
3	1.770	1.865	1.670	1.798	1.864	1.802
3.5	1.783	1.923	1.759	1.818	1.923	1.865
4	1.834	1.961	1.826	1.852	1.930	1.923
4.5	1.885	1.972	1.801	1.877	1.939	1.930
5	1.897	1.973	1.840	1.947	1.940	1.939
5.5	1.910	1.975	1.856	1.959	1.957	1.960

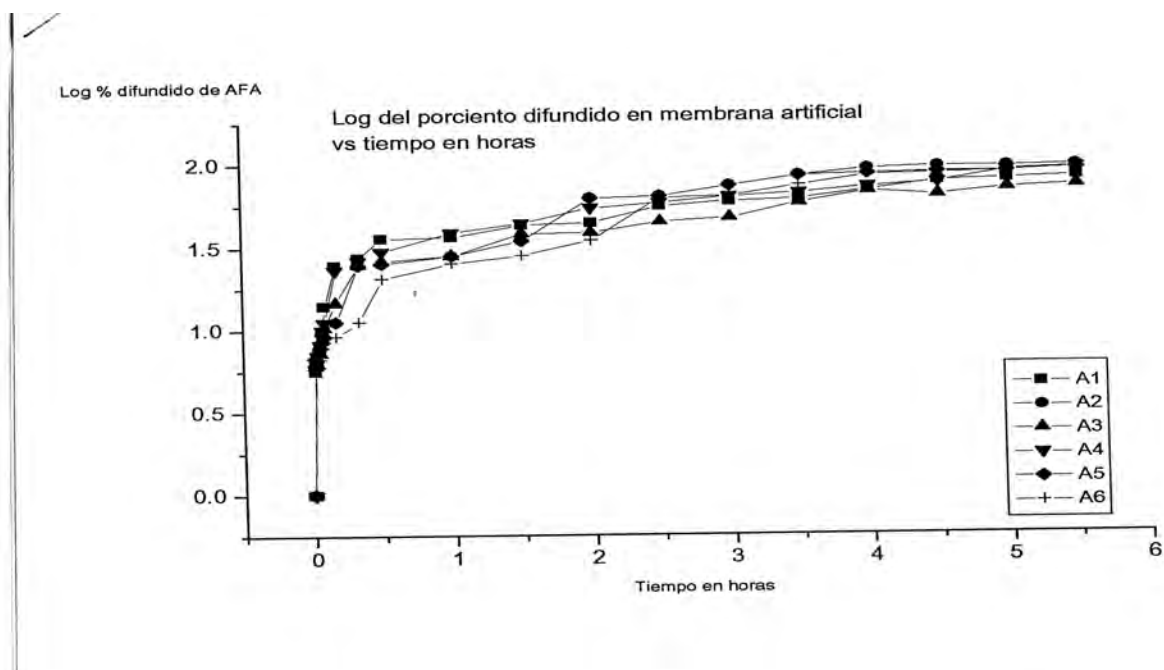


Figura No. 32 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana artificial contra tiempo en horas en Celda de Franz.

TABLA No. 23 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana de cerdo contra tiempo en horas en Celda de Franz.

Tiempo (h)	Mc2	MdC2	MC2	Mdc3	MDC3	MAc2
0	0	0	0	0	0	0
0.17	-0.924	-1.001	-0.888	-0.985	-0.635	-1.167
0.033	0.357	-0.378	-0.315	-0.361	-0.394	-0.434
0.05	0.012	-0.047	0.025	0.016	0.097	-0.227
0.066	0.243	0.199	0.262	0.241	0.049	-0.0243
0.0833	0.414	0.408	0.432	0.407	0.927	0.177
0.333	0.561	0.640	0.590	0.546	0.939	0.445
0.5	0.747	0.842	0.775	0.731	1.215	0.740
0.666	0.908	1.047	0.914	0.907	1.228	0.938
1	1.090	1.229	1.093	1.094	1.398	1.159
1.5	1.246	1.369	1.247	1.250	1.432	1.318
2	1.376	1.1488	1.376	1.398	1.591	1.474
2.5	1.498	1.588	1.495	1.515	1.625	1.564
3	1.601	1.675	1.599	1.614	1.741	1.683
3.5	1.698	1.749	1.699	1.700	1.771	1.748
4	1.781	1.813	1.782	1.773	1.863	1.833
4.5	1.851	1.877	1.854	1.844	1.894	1.878
5	1.911	1.941	1.917	1.906	1.967	1.944
5.5	1.965	1.994	1.975	1.962	1.992	1.982

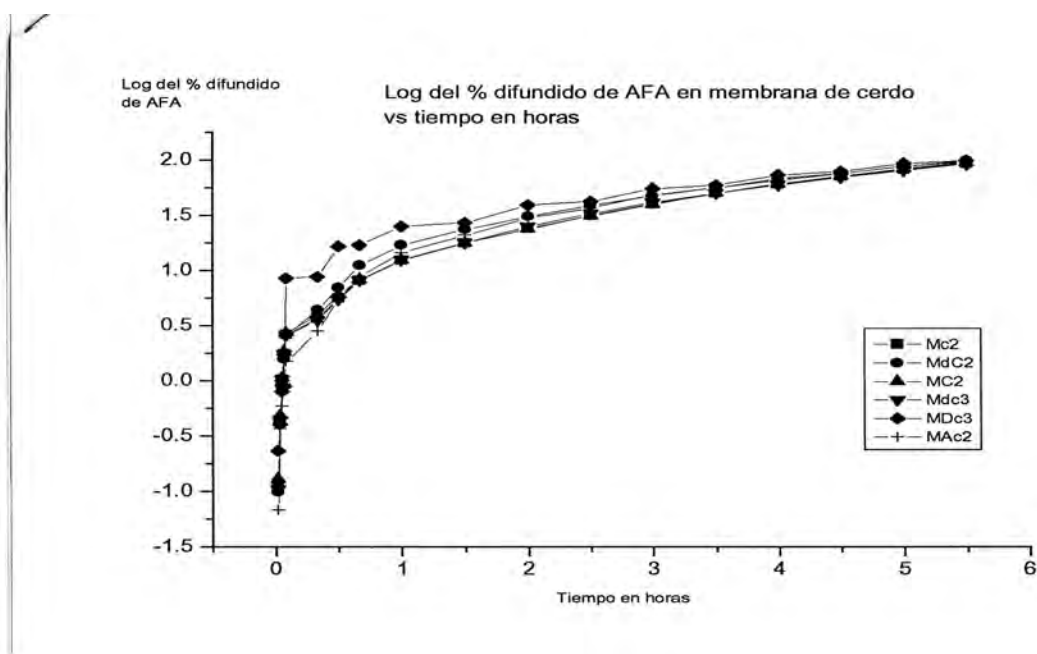


Figura No. 33 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana de cerdo contra tiempo en horas en Celda de Franz.

TABLA No. 24 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana de humano contra tiempo en horas en Celda de Franz.

Tiempo (h)	DH2 B	Me2 C	DH3 D	PH3 E	Me3 F	PH2 G
0	0	0	0	0	0	0
0.17	-0.316	-0.706	-0.304	-0.535	-0.415	-0.740
0.033	0.049	-0.399	0.006	-0.193	-0.106	-0.432
0.05	0.287	-0.212	1.208	0.051	0.184	-0.240
0.066	0.442	-0.072	0.354	0.218	0.366	-0.093
0.0833	0.574	0.070	0.465	0.395	0.495	0.024
0.333	0.699	0.246	0.557	0.523	0.611	0.202
0.5	0.809	0.463	0.675	0.646	0.717	0.435
0.666	0.905	1.642	0.778	0.775	0.829	0.624
1	1.001	0.826	0.904	0.943	0.967	0.841
1.5	1.109	1.042	1.054	1.086	1.109	1.033
2	1.216	1.189	1.205	1.236	1.235	1.180
2.5	1.316	1.319	1.337	1.354	1.348	1.312
3	1.407	1.426	1.452	1.452	1.447	1.419
3.5	1.485	1.516	1.554	1.537	1.529	1.509
4	1.558	1.599	1.639	1.612	1.606	1.594
4.5	1.622	1.671	1.717	1.686	1.673	1.665
5	1.6804	1.734	1.784	1.748	1.730	1.728
5.5	1.733	1.791	1.842	1.803	1.782	1.783

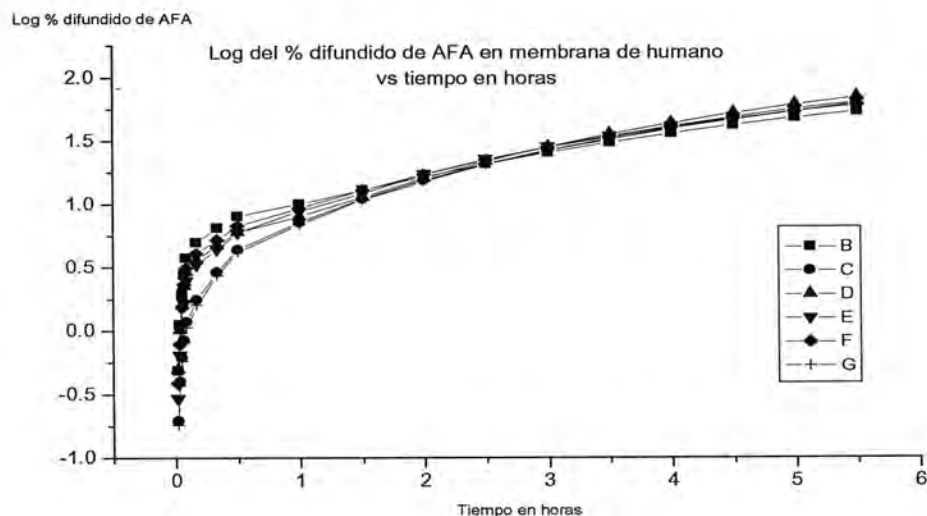


Figura No. 34 Logaritmo del porciento difundido de AFA en membrana de humano contra tiempo en horas en Celda de Franz.

Los resultados obtenidos muestran que la membrana de piel de cerdo presente el mayor porcentaje de difusión, siendo de un 98.61% en la membrana artificial fue en una 94.48% siendo la más baja la membrana de piel de humano con 69.57. En la prueba de ANOVA comparando el porcentaje máximo de difusión entre las diferentes membranas; se obtuvo en la membrana de cerdo y humano un valor de $F_{cal}=2.431$ siendo el valor de $F_{t(0.05,18)}=3.55$ por lo que no presente diferencias estadísticamente significativas entre ellas. De igual manera, se realizó una prueba de ANOVA entre las 3 diferentes membranas dando un valor de $F_{total} = 2.76$ por lo que no presente diferencias estadísticamente significativas (Tabla 20).

La prueba de ANOVA presenta diferencias estadísticamente significativas entre la membrana humana y la membrana artificial con un valor de $F = 5.828$ con un valor de $p = 1.21$ (Tabla 14, 15 y 21).

TABLA No. 25 Promedios del porcentaje de difusión en piel de humano, cerdo y membrana artificial, como también el análisis de varianza presenta diferencias estadísticamente significativas entre membrana artificial y la piel de cerdo.

TIEMPO EN HRS	HUMANO	CERDO	ARTIFICIAL
0	0	0	0
0.017	0.497	0.232	6.3
0.033	1.013	0.404	6.5
0.05	1.613	0.8	7.8
0.066	2.26	0.894	8.5
0.833	2.92	8.446	9.1
0.166	3.607	8.699	11.2
0.333	4.73	16.415	24.69
0.5	5.996	16.847	25.2
1	8.011	25.01	28
1.5	11.329	27.044	34.4
2	16.039	38.976	62
2.5	21.71	42.203	63.39
3	28.305	55.087	73.27
3.5	35.786	58.96	83.78
4	43.508	72.92	91.51
4.5	52.106	78.26	93.82
5	60.794	92.658	94.02
5.5	69.567	98.232	94.48
$F_{t(0.05,18)}$		3.55	3.55
F_{cal}		2.431	0.674
p		0.128	0.417
No presenta diferencias estadísticamente significativas entre las membranas			
$F_{cal\ total}^*$	2.760		
p	0.0722		

* $F_{cal\ total}$ es la diferencia de las tres membranas entre si

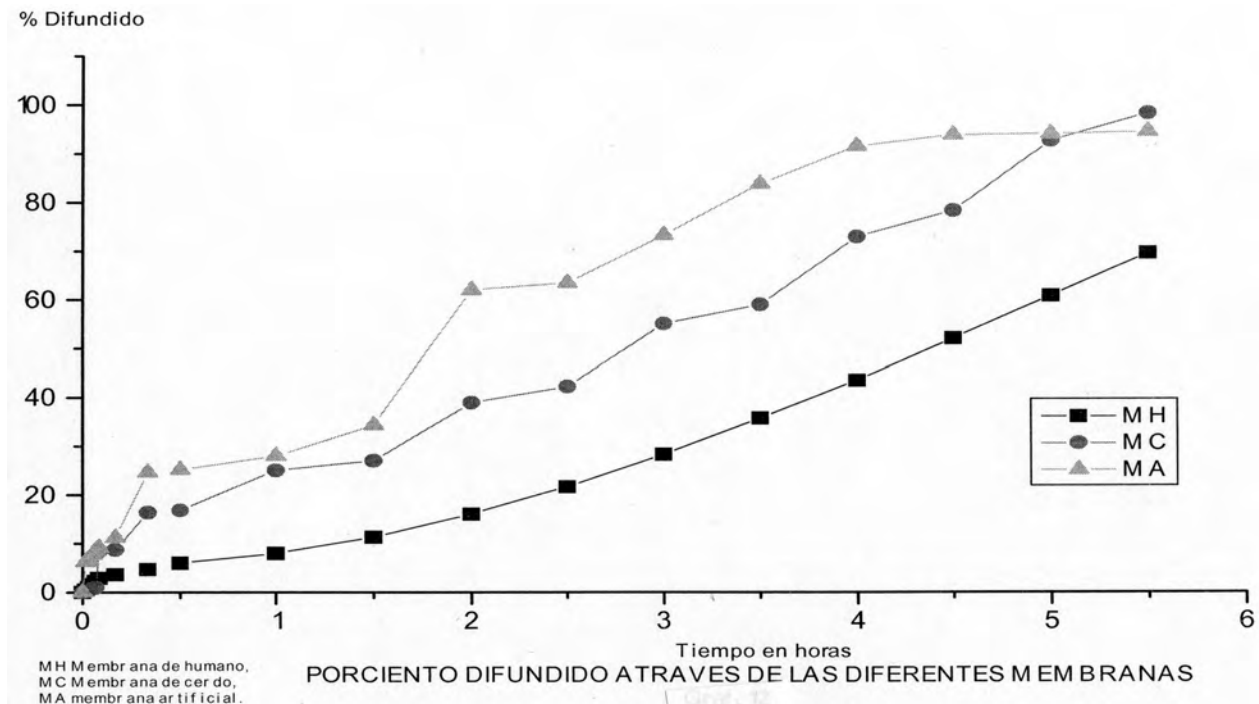


Figura No. 35 Promedios del porcentaje de difusión en piel humana, piel de cerdo y membrana artificial.

TABLA No. 26 El análisis de varianza presenta diferencias estadísticamente significativas entre membrana artificial y la piel humana.

TIEMPO EN HRS	Membrana de humano	Membrana Artificial
0	0	0
0.017	0.497	6.3
0.033	1.013	6.5
0.05	1.613	7.8
0.066	2.26	8.5
0.0833	2.92	9.1
0.166	3.607	11.2
0.333	4.73	24.69
0.5	5.996	25.2
1	8.011	28
1.5	11.329	34.4
2	16.039	62
2.5	21.71	63.39
3	28.305	73.27
3.5	35.786	83.78
4	43.508	91.51
4.5	52.106	93.82
5	60.794	94.02
5.5	69.567	94.48
F t(0.05,18)	3.55	
F cal	5.8276	
p	0.021	

Tabla No. 27 Resultados de la prueba de ANOVA para las tres membranas empleadas, aplicada a los resultados obtenidos en el promedio del porcentaje de difusión de las muestras.

Prueba de ANOVA Para el % difundido	F cal.	F tab. ($\alpha = 0.05$, y G L = 18)
A-B	2.431	3.55
B-C	0.674	3.55
C-A	5.828	3.55

En donde A = Membrana de Piel de Humano
 B = Membrana de Piel de Cerdo
 C = Membrana Artificial

$$2.431 < 3.55$$

$$0.674 < 3.55$$

$$5.828 > 3.55$$

Tabla No. 28 Máximos y mínimos del por ciento de difusión de A.F.A. en las diferentes membranas.

Tipos de Membrana	% Mínimo Difundido	% Máximo Difundido
Piel de Humano	54.01	69.57
Piel de Cerdo	91.47	98.61
Artificial	71.80	94.48

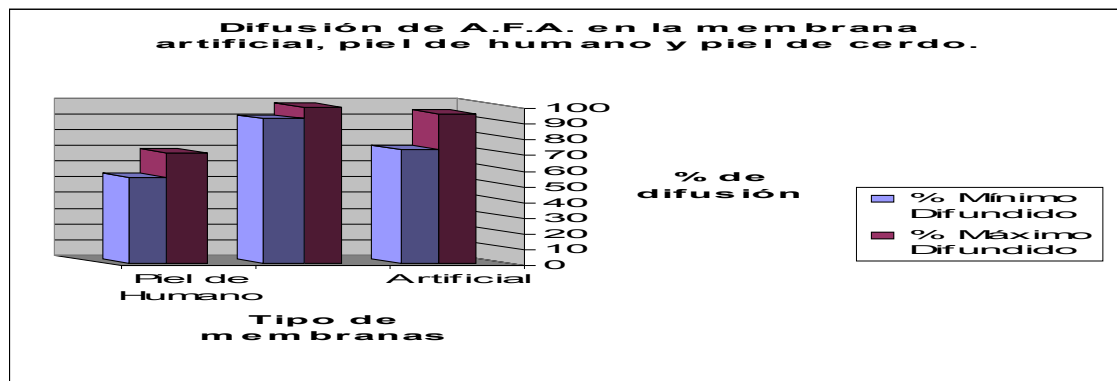


Figura No. 36 Máximos y mínimos del porcentaje de difusión de A.F.A. en las diferentes membranas.

Tabla No. 29 Resultados del Logaritmo promedio del porcentaje de difusión en piel humana, de cerdo y membrana artificial.

TIEMPO (h)	Logaritmo A	Logaritmo H	Logaritmo C
0			-
0.017	0.77573178	-0.4703558	0.56051283
0.033	0.8124677	0.14191417	0.37161277
0.05	0.87813865	0.09040503	0.04454637
0.066	0.95744765	0.2494022	0.16329806
0.0833	1.01438051	0.38348024	0.53053458
0.166	1.19317099	0.50926975	0.65157697
0.333	1.36464479	0.6441102	0.88267174
0.5	1.43211375	0.76985715	1.00761081
1	1.48737408	0.92257842	1.19243977
1.5	1.56761444	1.07344339	1.31620949
2	1.69146461	1.2107616	1.45736397
2.5	1.76115072	1.33128217	1.55027111
3	1.79983431	1.43415357	1.65537117
3.5	1.84985942	1.52225943	1.72841382
4	1.89103728	1.60232592	1.80885688
4.5	1.90414549	1.6730793	1.86652951
5	1.9248287	1.73521686	1.92312916
5.5	1.93821942	1.79018661	1.9783906

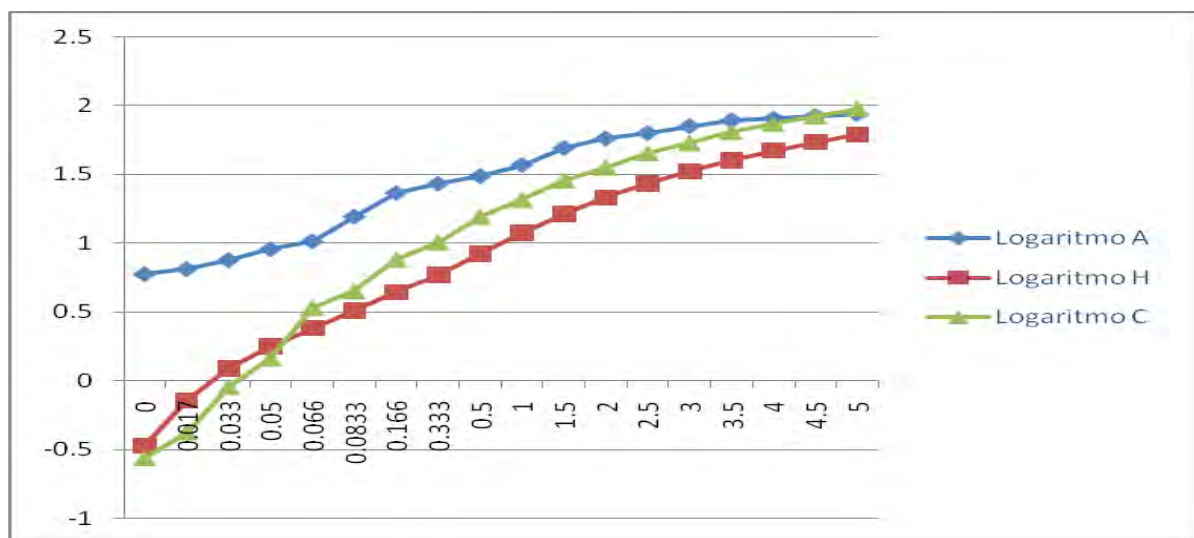
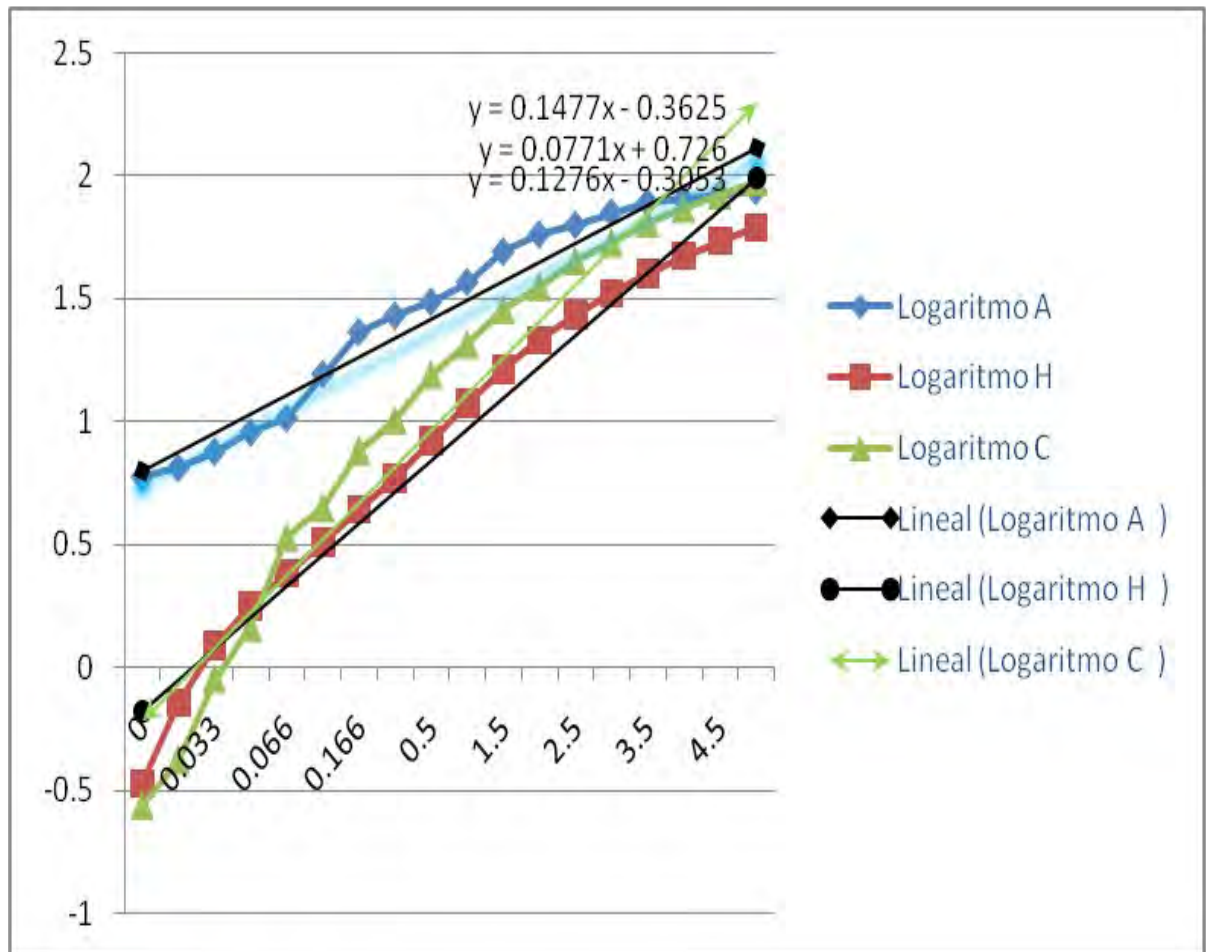


Figura No. 37 Logaritmo promedios del porcentaje de difusión en las diferentes membranas.

Figura No. 38 Valor de “ y ”

Se puede observar el valor de “y” para la membrana artificial que fue



de $0.0771x + 0.726$, siendo un valor mucho menor que el valor de “Y” para piel de cerdo fue de $y = 0.1477x - 0.3625$ y para piel humana fue $y = 0.1276x - 0.3053$, de cerdo y membrana artificial.

19 Cinética de las membranas.

La membrana artificial presentó una cinética de primer orden y la piel humana y de piel de cerdo, presentaron una cinética de orden cero. Figuras 40, 41 y 42.

Como se puede observar en las Figuras No. 38, 23, 24, en donde la membrana artificial se ajusta a la cinética de primer orden, sin embargo los datos de la piel humana y piel de cerdo, no se ajustaron a la cinética de primer orden.

	K12	K13	K23
Membrana	13.1	2.27	0.293
Cerdo	0.99	0.152	0.143
Humano	0.08		35.9

Tabla No.30
Valor de K12, K13, K23. en las diferentes muestras, artificial
y naturales

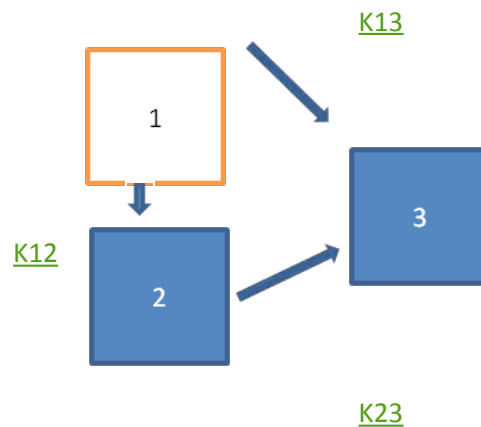


Figura 39 Representa las posibles interfaces que penetra AFA, en las diferentes muestra artificial y naturales

19.1 Cinética de la membrana artificial

Tabla No.31 Muestra el análisis estadístico Nom Mem para poder estimar si los datos experimentales se ajustan a la cinética de 1er orden.

TIEMPO A1 (h)	C1	C2	C3	k31	k23	k21	C3k31	C2k23	C2k21
				0.02	0.1	0.01	k31	k23	k21
				d31	dC2d23	d21			
0.017	0	1000	0	0	127.5	4.1			
0.033	4.1	868.4	127.5	0.0	110.7	3.5			
0.05	7.6	754.2	238.2	0.0	90.5	2.9			
0.066	10.6	660.8	328.7	0.1	84.2	2.7			
0.0833	13.3	573.8	412.8	0.1	68.9	2.2			
0.166	15.6	502.8	481.6	0.1	65.2	2.1			
0.333	17.8	435.4	546.8	0.5	270.1	8.6			
0.5	26.9	156.7	816.3	1.5	196.3	6.3			
0.5 1	34.7	0.0	1011.1	1.9	0.0	0.0			
0.5 1.5	36.6	0.0	1009.3	5.6	0.0	0.0			
0.5 2	42.1	0.0	1003.7	5.5	0.0	0.0			
0.5 2.5	47.6	0.0	998.2	5.5	0.0	0.0			
0.5 3	53.1	0.0	992.7	5.5	0.0	0.0			
0.5 3.5	58.6	0.0	987.3	5.4	0.0	0.0			
0.5 4	64.0	0.0	981.8	5.4	0.0	0.0			
0.5 4.5	69.4	0.0	976.4	5.4	0.0	0.0			
0.5 5	74.8	0.0	971.1	5.3	0.0	0.0			
0.5 5.5	80.1	0.0	965.7	5.3	0.0	0.0			
0.5 5.5	86.74	0.0	960.4	5.2	0.0	0.0			

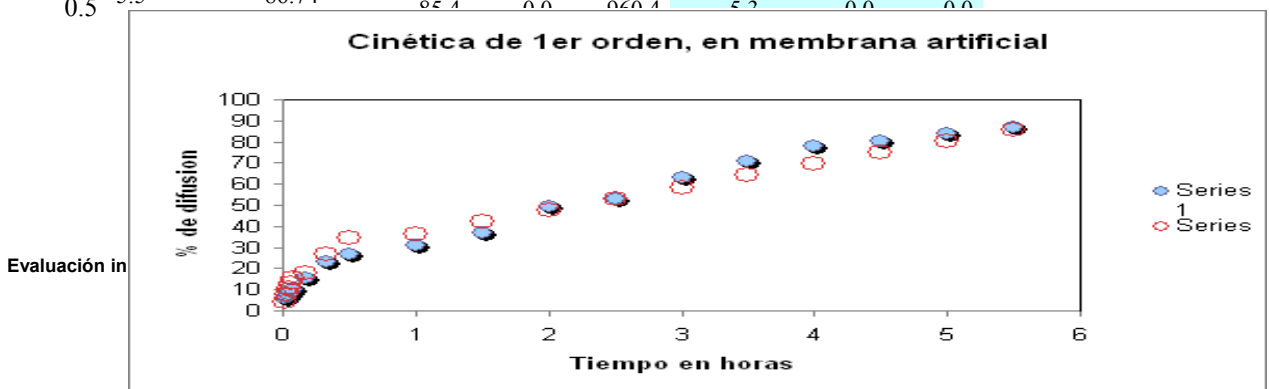
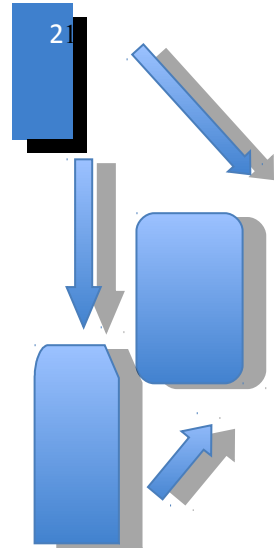


Figura No. 40 Cinética de membrana artificial.

El modelo que refleja una cinética de 1er orden se ajusta a los datos obtenidos en la membrana artificial.

19.2 Cinética de la membrana de cerdo

Tabla No. 32. Muestra el análisis estadístico Nom Mem, para poder estimar si los datos experimentales se ajustan a la cinética de 1er orden

			k31	k23	k21	C3k31 k31	C2k23 k23	C2k21 k21
			0.02	0.1	0.01	0.011	7.5	0.24
			C1	C2	C3	d31	dC2d23	d21
TIEMPO	A1							
(h)			0	1000	0	0	127.5	4.1
0.0170	0.017	0.12	4.1	868.4	127.5	0.0	110.7	3.5
0.0160	0.033	0.42	7.6	754.2	238.2	0.0	90.5	2.9
0.0170	0.05	0.9	10.6	660.8	328.7	0.1	84.2	2.7
0.0160	0.066	1.45	13.3	573.8	412.8	0.1	68.9	2.2
0.0173	0.0833	3.39	15.6	502.8	481.6	0.1	65.2	2.1
0.0827	0.166	4.48	17.8	435.4	546.8	0.5	270.1	8.6
0.1670	0.333	7.63	26.9	156.7	816.3	1.5	196.3	6.3
0.1670	0.5	10.17	34.7	0.0	1011.1	1.9	0.0	0.0
0.5	1	15.57	36.6	0.0	1009.3	5.6	0.0	0.0
0.5	1.5	21.87	42.1	0.0	1003.7	5.5	0.0	0.0
0.5	2	27.91	47.6	0.0	998.2	5.5	0.0	0.0
0.5	2.5	38.5	53.1	0.0	992.7	5.5	0.0	0.0
0.5	3	45.22	58.6	0.0	987.3	5.4	0.0	0.0
0.5	3.5	53.5	64.0	0.0	981.8	5.4	0.0	0.0
0.5	4	64.39	69.4	0.0	976.4	5.4	0.0	0.0
0.5	4.5	73.54	74.8	0.0	971.1	5.3	0.0	0.0
0.5	5	85.44	80.1	0.0	965.7	5.3	0.0	0.0
0.5	5.5	95.14	85.4	0.0	960.4	5.3	0.0	0.0

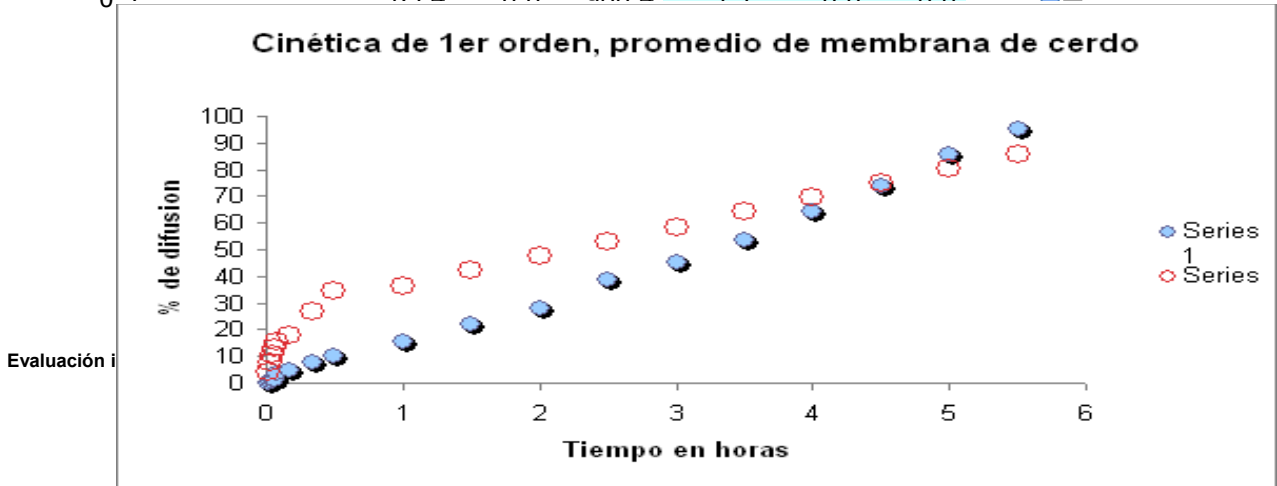


Figura No. 41 Cinética de piel de Cerdo
 El modelo que refleja una cinética de 1er orden, no se ajusta a los datos obtenidos en la piel de cerdo.

19.3 Cinética de la membrana de humano

Tabla No. 33. Muestra el análisis estadístico Nom Mem, para poder estimar si los datos experimentales se ajustan a la cinética de 1er orden.

			k31	k23	k21	C3k31 k31	C2k23 k23	C2k21 k21
			0.02	0.1	0.01	0.011	7.5	0.24
			C1	C2	C3	d31	dC2d23	d21
TIEMPO	A1	(h)	0	1000	0	0	127.5	4.1
0.0170	0.017	0.33	4.1	868.4	127.5	0.0	110.7	3.5
0.0160	0.033	0.7	7.6	754.2	238.2	0.0	90.5	2.9
0.0170	0.05	1.23	10.6	660.8	328.7	0.1	84.2	2.7
0.0160	0.066	1.77	13.3	573.8	412.8	0.1	68.9	2.2
0.0173	0.0833	2.9	15.6	502.8	481.6	0.1	65.2	2.1
	0	3.23						
0.0827	.166		17.8	435.4	546.8	0.5	270.1	8.6
0.1670	0.333	4.4	26.9	156.7	816.3	1.5	196.3	6.3
0.1670	0.5	5.88	34.7	0.0	1011.1	1.9	0.0	0.0
	0.5	1	36.6	0.0	1009.3	5.6	0.0	0.0
	0.5	1.5	11.84	42.1	0.0	1003.7	5.5	0.0
	0.5	2	16.24	47.6	0.0	998.2	5.5	0.0
	0.5	2.5	21.44	53.1	0.0	992.7	5.5	0.0
	0.5	3	27.17	58.6	0.0	987.3	5.4	0.0
	0.5	3.5	33.28	64.0	0.0	981.8	5.4	0.0
	0.5	4	40.02	69.4	0.0	976.4	5.4	0.0
	0.5	4.5	47.1	74.8	0.0	971.1	5.3	0.0
	0.5	5	54.35	80.1	0.0	965.7	5.3	0.0
	0.5	5.5	61.68	85.4	0.0	960.4	5.3	0.0

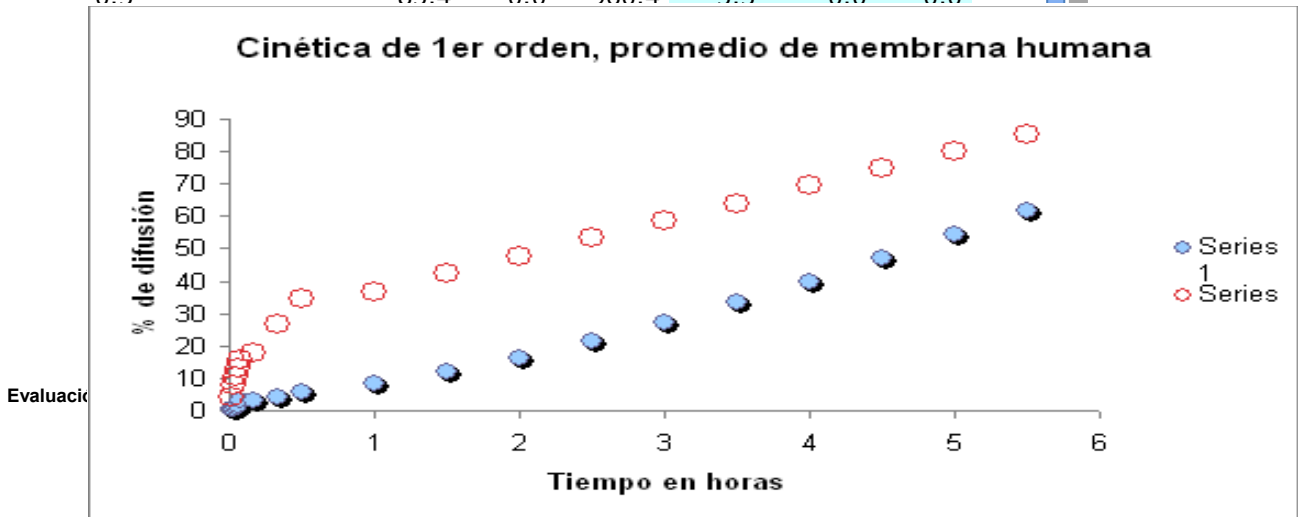
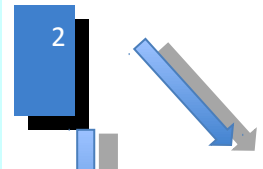


Figura No. 42 Cinética de piel humana

El modelo estadístico que refleja una cinética de 1er orden, no se ajusta a los datos obtenidos en la piel humana.

20 Discusión de Resultados

20.1 Validación de métodos analíticos para la cuantificación de A.F.A.

Condiciones cromatografías.

Las condiciones cromatografías establecidas se adaptaron al tipo de equipo que se contaba en la Facultad de Química ya que uno de nuestros problemas iniciales fue la camisa térmica ya que en el método propuesto en la literatura proponía 40 ° C para la columna por lo que se recurrió a el cambio de fase móvil ya que esta es otra alternativa para la solución de nuestro problema.

20.2 Validación de métodos analíticos para la cuantificación de A.F.A.

Condiciones cromatografías.

Las condiciones cromatografías establecidas se adaptaron al tipo de equipo que se contaba en la Facultad de Química ya que uno de nuestros problemas iniciales fue la camisa térmica ya que en el método propuesto en la literatura proponía 40 °C para la columna por lo que se recurrió a el cambio de fase móvil ya que esta es otra alternativa para la solución de nuestro problema.

20.3 Simplex

En un inicio se había planeado realizar por el método Simplex nuestra mezcla de la fase móvil pero por falta de solventes y disponibilidad del equipo se obtuvo por realizar

nuestra mezcla de fase móvil por ensayo y error, la cual se logro establecer en 3 días (ver Tabla No. 9).

20.4 Linealidad

En el análisis de muestras por cromatografía de líquidos se muestra que se presentó una linealidad satisfactoria en el intervalo de concentración de 0.048 a 1.920 µg/ml con un coeficiente de correlación de 0.999 (ver Fig. No 15 y tabla No.10).

20.5 Repetibilidad

Con el propósito de determinar la repetibilidad del método en intradía, se calcula el coeficiente de variación (%) para cada concentración en el método (tabla No. 11 y 12) en las cuales se obtuvo un valor máximo de 1.68% y un mínimo de 0.50%, respectivamente.

20.6 Especificidad del método.

Resulto ser específico el método del blanco con paso a través de membrana de piel de humano, piel de cerdo y membrana artificial.

De acuerdo a los cromatogramas obtenidos en el método de cromatografía de líquidos. (Figura No. 23, 24 y 25) se puede observar que no se registran señales de componentes de las membranas de humano, cerdo y artificial que interfieran en la determinación de acetónido de fluocinolona.

Presentando concentraciones mayores de difusión la membranas de piel de cerdo y la membrana sintética en comparación a la membrana de piel de humano.

20.7 Concentración mínima detectable

En el método de cromatografía de líquidos utilizado par ala determinación de Acetónido de fluocinolona en las membranas naturales y artificiales, se puede detectar una concentración

mínima de 0.012 µg/ml tomando como referencia el ruido de la línea base, siendo la concentración mínima detectable tres veces mayor a el ruido de la línea base.

20.8 Concentración mínima cuantificable

En el método de cromatografía de líquidos utilizado para la determinación de Acetónido de fluocinolona en las membranas naturales y artificial, se puede cuantificar una concentración mínima de 0.048 µg/ml tomando como referencia el ruido de la línea base, siendo la concentración mínima detectable tres veces mayor a el ruido de la línea base.

20.9 Estabilidad

Presenta un porcentaje de no degradación a los dos días del 98.84 hasta un 56.41 en las concentraciones empleadas por lo que se consideró conveniente preparar una curva de calibración cada día que se cuantificara acetónido de fluocinolona.

20.10 Difusión de AFA

Tabla No. 27 resultados de la prueba de ANOVA para las tres membranas empleadas, aplicada a los resultados obtenidos en el porcentaje de difusión de las muestras.

Prueba de ANOVA el % difundido	F _{cal}	F _{Tab} (alfa= 0.05 y GL=18)
A-B	2.431	3.55
B-C	0.674	3.55
C-A	5.828	3.55

En donde A= Piel Humana
 B= Piel de Cerdo
 C= Membrana Artificial

$$2.431 < 3.55$$

$$0.674 < 3.55$$

$$5.828 > 3.55$$

20.11 Máximos y mínimos en porcentaje de difusión de AFA.

Tabla No. 28 Máximos y mínimos del por ciento de difusión de A.F.A. en las diferentes membranas.

TIPO DE MEMBRANA	PORCIENTO DIFUNDIDO	MÍNIMO	PORCIENTO DIFUNDIDO	MÁXIMO
Piel de humano	54.01		69.57	
Piel de cerdo	91.47		98.61	
Membrana Artificial	71.80		94.48	

En donde A= Membrana de Piel de Humano
B= Membrana de Piel de Cerdo
C= Membrana Artificial

La membrana de piel de cerdo presente el mayor porcentaje de difusión, siendo de un 98.61%, en la membrana artificial fue de un 94.48% siendo la más baja de membrana de piel de humano con 69.57. En la prueba de ANOVA comparando el porcentaje máximo de difusión entre las diferentes membranas, se obtuvo en la membrana de cerdo y humano un valor de $F_{cal}=2.431$ siendo el valor de $F_t(0.05,18)=3.55$, por lo que no presente diferencias estadísticamente significativas entre ellas; en la prueba de ANOVA entre la membrana de cerdo y artificial se obtuvo el valor de 0.674 por lo que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

La prueba de ANOVA presenta diferencias estadísticamente significativas entre la membrana humana y la membrana

artificial con un valor de $F = 5.828$ con un valor de $p = 0.21$ ver tabla No. 27.

Tabla No. 30 Valor de K12, K13 y K 23 en las diferentes muestras.

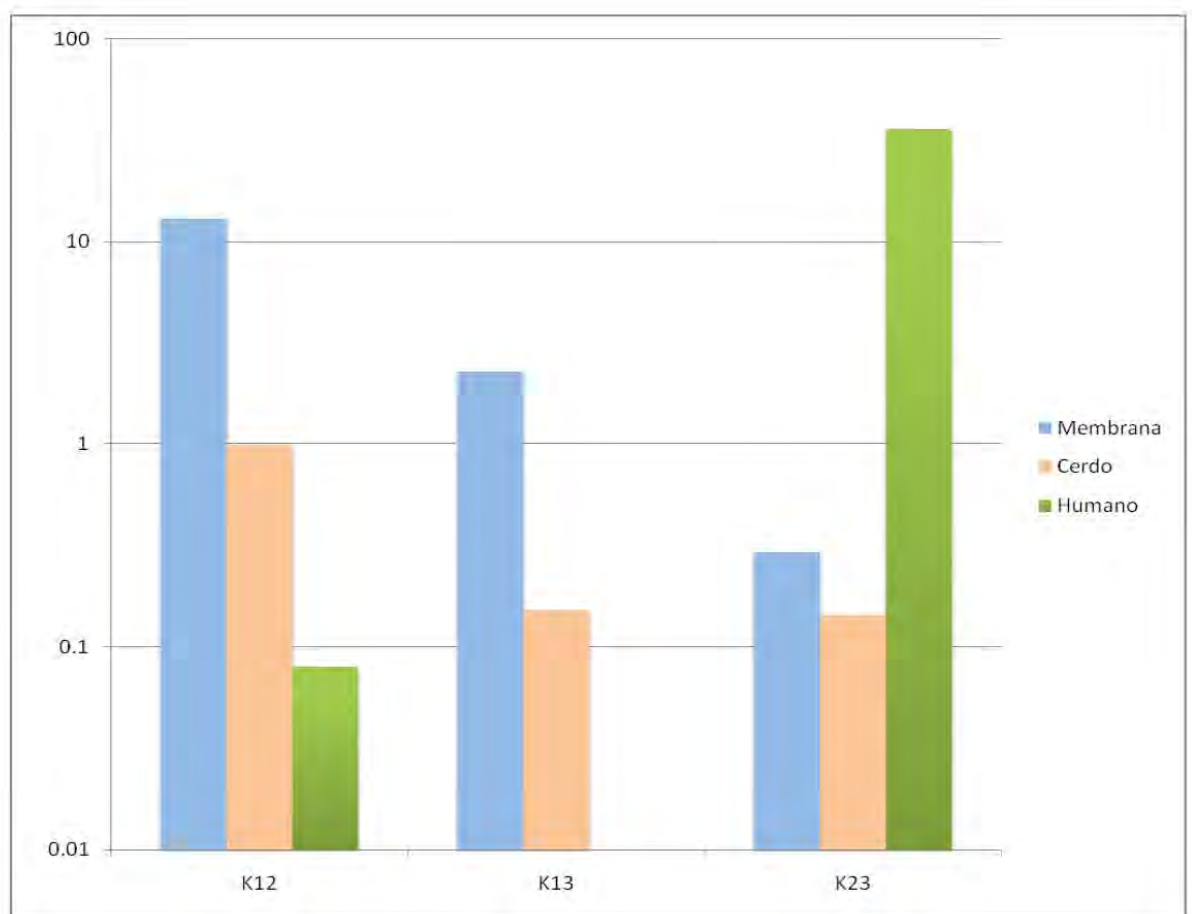


Tabla No. 23

	K12	K13	K23
Membrana	13.1	2.27	0.293
Cerdo	0.99	0.152	0.143
Humano	0.08		35.9

Tabla No. 30 Valor de K

21 Cinética de difusión de las membranas naturales y artificiales.

Por lo que se llega a la conclusión que la Cinética de difusión de la membrana artificial presentan una cinética de primer orden y la membrana de piel humana y la membrana de piel de cerdo no presentan una cinética de primer orden.

22 Conclusiones.

El método resulto ser lineal, repetible, reproducible, específico.

La concentración mínima detectable por el método desarrollado es de 0.012 µg/ml en comparación a valores de la literatura 1, 2, 3. de 32 µg/ml.

El método resulto ser lineal en un intervalo de 0.048-2.0 µg/ml con un coeficiente de correlación de 0.9998 con una pendiente de 0.00042 e intercepto de -6.2 E-05. Así como repetible con un valor de $F_{exp.} = 0.625$ y una $FT = 3.15$ (alfa 0.05), su reproducibilidad entre diferentes analistas, se obtuvo un valor de $TT = 2.447$ (alfa 0.05) > a la $T_{exp} = 0.925$

La estabilidad del A.F.A. a temperatura de -15°C y a T.A. y el recobro fue de 85-65%.

La prueba de ANOVA presenta diferencias estadísticamente significativas entre la piel humana contra la membrana artificial con un valor de $F = 5.828$, con un valor de $p = 0.21$

Las membranas de piel humana y piel de cerdo, presentan una cinética de primer orden y la membrana artificial presentan una cinética de primer orden.

Exhorto al gremio que se interese en el control de calidad de las Formas farmacéuticas semisólidas y se realicen más estudios relacionados a este tema.

23 BIBLIOGRAFIA

- 1.- Laboratorio de Biofarmacia Facultad de Farmacia, Universidad de Auvergne, Clermont- Ferrand, Francia.
- 2.- Evaluación biofarmacéutica de la vía cutánea. Laboratorio de biofarmacia Beyssac E. y BregniC, Universidad de Auvergne, Clermont-Ferrand, Francia.
- 3.- V.P. Shah, J. Elkins, J. Hanus, C. Noorizadeh and J.P. Shelly, Pharm. Res, Vol. 8 pp 55-59, (1991).
- 4.- Skin permeability **in vivo** :comparis rabbit, pig and man methodius J. Bartek, John A Labudde 1 and Howard I Maibach DEPARTMENT of pathology and toxicology, Mead Johnson research center, Evansville, Indiana, 4772. Department of dermatology, university of California school of medicine, San Francisco, California 94122.
- 5.- Wepierre, J., and Marty J.P. Percutaneous absorption of drugs. Trends Pharmacol. Sci., Vol. 1 pp 23-26, 1979
- 6.- RM Barr, F Lawlor, MR Judge, et al Platelet activating factor, Lyso-platelet activating factor and arachidonic acid release in normal human skin and the influence of Topical Steroid Treatment. British Journal of Clinical Pharmacology, Vol. 35 (Jun) 6. pp 637-641, 1993.

- 7.- Katz, M. Poulsen. B. J. Absorption of drugs through the skin. In Handbook of experimental Pharmacology. Vol. XXVII/1, ed. B.B: Brodie, J. Gollette, Berlin: Springer, pp 103-74, 1971.
- 8.- Flynn, G. L. Topical drug absorption and topical pharmaceutical systems. In Modern Pharmaceutics, ed. G. S. Banaker, C. T. Rhodes. New York: Dekker, 1979.
- 9.- Calnan. C.D. 1970. The significance of assay methods for the dermatologist. Br. J. Dermatol, Vol. 82: Suppl. 6, pp. 43-44.
- 10.- MDC Claramonte, AP Vialard, FG Vilchez. An Application of regular solution theory in the study of the solubility of Naproxen en some solvents used in topical preparations. International Journal of Pharmaceutics Vol. 94 (Jun) 21 pp 1, 2, 3 1993.
- 11.- Idson, B. Vehicle effects in percutaneous absorption. Drug Metab. Rev., Vol. 14, pp 207-222, 1983.
- 12.- Kenneth H. Burdick, MD, Boyd Poulsen, PHD, and Cols. Extemporaneous formulation of corticosteroids for topical usage, JAMA, Vol. 211, No. 3, (Ene) 19 pp 462-466 (1970).
- 13.- Poulsen BJ. Diffusion of drug topical vehicles: An analysis of vehicle effects. En drug editor. E.J. Ariens, Academic Press. New York, p. 495, 1973.
- 14.- Kligman, A.M. Skin permeability: dermatologic aspects of transdermal drug delivery. Am. Heart J., Vol. 108, pp 200-206, 1984.
- 15.- Poulsen BJ. Young E. Effect of topical vehicle composition on the in vitro release of fluocinolone acetonide and its acetate ester. J Pharm Sci. Vol. 51, p 928, 1968.
- 16.- Ostrenga, J.: Steinmets, C,: and Cols. Significance of vehicle composition. I. Relation ship between topical vehicle composition, skin penetrability, and clinical efficacy. Jurnal of Pharmaceutical Science (USA), V 60, (Aug), pp 1175-1179 (1971).

- 17.- Katz, M., Pulsen, B.J.: Absorption of drugs through the skin. En brodie, B. Guillette, J.: Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag. Berlin, p. 104, 1971.
- 18.- Polano, M.: Topical skin therapeutics. Curcill Livingstone. Londres, p 101, 1984.
- 19.- Storrs, F.: Use and abuse of systemic corticosteroid therapy J. Am. Acad. Dermatol, Vol. 1, p 95, 1979.
- 20.- Hasia, Si, Hao, Yu-Lee.: Transformación of cortisona to cortisol in human skin. Steroid. Vol. 10, p 489, 1967.
- 21.- Sulzberger, M.B., witten, B. H.: The effect of topically applied compound F in selected dermatoses J. Invest. Dermatol, Vol. 19, pp 101 1952.
- 22.- Franz, T.J. Kinetics of cutaneous drug penetration. Int. J. Dermatol, Vol. 22, pp 499-505, 1983.
- 23.- TSO MOM pathology of cystoid macular edema. Ophthalmology 1982;89:902-915
Rothova A., suttorp- van schulten MS, Frits Treffers W, Kijlstra A. Causes and frequency of blindness in patients with intraocular inflammatory disease .Br. J. Ophthalmol 1996;80:332-336.
- 24.- Tranos PG, Wickremasinghe SS, Estangos NT, Topouzis F, Tsinopoulos I, Pavesio CE. Macular edema. Surv. Ophthalmol 2004;49:470-490.
- 25.- Taylor HR. LXIII Eduard Jackson memorial lecture: eye care: dollars and sense. Am J. Ophthalmol 2007; 143:1-8
- 26.- Catier A, tadayoni R, Paques M, Et al characterization of macular edema from various etiologies bay optical coherence tomography. Am J Ophthalmol 2005; 140:200 -
- 27.- Saishin Y, Takashashi K, Melia M, Viores Sa, Campochiaro PA. Inhibition of protein kinase C decreases prostaglandin-induced breakdown of the blood-retinal barrier. J Cell physioll 2003;195:210-219.

- 28.- Journal of ocular Pharmacology and Therapeutics Volume 13, number 1, 1997 Mary Ann Liebert, Inc. Penetratio into the anterior chamber via the Conjuntival/ Scleral Pathway Ronald D. Schoenwald, 1 GANESH S. DESHPANDE,1
- 29.- General tests and Assays. "The United States Pharmacopeia XXII. The National Formulary XVII." Supplement 5. The United States Pharmacopeia. Convention, Inc., Rockville, Maryland, Mack Publishing Company, Eastosn, Pennsylvania, pp 2711-2715, 1991.
- 30.- W.A. Hanson, "Handbook of Dissolution Testing, " 2nd Edition, Aster Publishing corporation, Eugene, Oregon, pp. 59-66.1991.
- 31.- D.R. Friend, J. Controlled Rel., Vol. 18, pp 235-248, 1992 Art. 49.
- 32.- Pradeepkumar P. Sanghvi and Charles C. Collons. Comparison of diffusion studies of hydrocortisone between the frans cell and the enhancer cell. Drug development and industrial pharmacy, Vol. 19 (13), pp 1573-1585 (1993).
- 33.- W. A. Hanson, "Handbook of dissolution testing," 2nd Edition, Aster Publishing Corporation, Eugene, Oregon, p 56, (1991).
- 34.- V.P. Shah, N.W. Tymex, W. Mernt and J.P. Skelly, Pharm. Forum, Vol. 14, p 3458, 1988
- 35.- Analytical Research, Syntex research 3401 Hillview Avenue, Palo Alto, California 94304.
- 36.- USP XIX United States Pharmacopeia, p. 1457.
- 37.- Saül, A.: Aplicaciòn tòpica de corticosteroids en dermatologia: uso y abuso. Rev. Med. Hosp. Gral. Mèxico S. S., 1 (Supl), pp 22, 41, 1985.
- 38.- Ostrenga, J, Haleblan, J.: Vehicle desing for a new topical steroid, fluocinonide. J. Invest. Dermatol, pp 36-392,1971.
- 39.- W.Y. Higuchi, in transdermal Delivery of drugs, "proceeding of the Workshop on Current Status and Future Directions, " W.I. Higuchi and D.

Sharma, eds., U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication NO. 91-3075, Bethesda, Maryland, p 1, 1990.

40.- MF Hughes, SP Shrivastava, HL Fisher, LL Hall. Comparative In vitro Percutaneous Absorption of p-substituted phenols through rat skin using static and flow-through diffusion systems. *Toxicology in vitro*, Vol. 7, (May) 3, pp 221-227, 1993

41.- Poulsen, B. J., Chowhan, Z. T.: The use of mixtures of topical corticosteroids as a mechanism for improving topical drug bioavailability: A preliminary report. *Curr Probl. Dermatol.* Vol. 7, p 107, 1978.

42.- Callen, J.: Intralesional corticosteroids. *J. Am. Acad. Dermatol.* Vol. 4, p 149, 1981.

43.- PP Sanghvi, CC Collins. Comparison of diffusion studies of Hydrocortisone between the Franz Cell and Enhancer Cell. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, Vol. 19, No. 13. pp 1573-1585, 1993.

44.- Katz, M., Polsen, BJ.: Corticoid, vehicle, An skin interaction interaction in percutaneous absorption. *J. Soc. Cosmet. Chem.* Vol. 23, p 565, 1972.

45.- Lee mo; Sukumar L; Powell M. F. Syntex Research, Palo Alto, California 94304 Temperature and pH dependence of fluocinolone acetonide degradation in a topical cream formulation. *Pharm-Res*, Vol 4 (Aug) 4 pp 342-7, 1987.

46.- Mansbridge J; Hanawalt P, Comparative effects of growth inhibitor on DNA replication, DNA repair, and Protein Synthesis in human epidermal Keratinocytes. *Cancer-Res*; Vol. 46 (Jun) 6 pp 2929-2935, 1986.

47.- Smeenk, G., Rijnbeek, A.M. The water-binding properties of the water-binding properties of the water-soluble substances in the horny layer *Acta Derm. Venerol.* Vol. 49, p 476, 1969.

48.- Parish LC, Witkowski JA,: The topical steroid saga. *Int. J. Dermatol.* Vol. 24, p 435, 1985.

49.- Evaluation of efficacy and tolerability of K-FA fluocinolone acetonide tape. *Int-J. Clin-Pharmacol-Res*; Vol. 7, No. 4, pp 279-282-1987.

- 50.- Brogginì M; Benvenuti C; Botta V, Broccali G. Medical Department, Filippo del Ponte Hospital, Varese. Pharmacokinetics of fluocinolone acetonide in patch versus cream formulations. *Int.-J-Clin-Pharmacol-Res*, Vol. 11, No. 1, pp 17-21, 1991.
- 51.- *Jurnal of Pharmacokinetics and Biofarmaceutics*, Vol. 14, No. 2, pp 131, 175, 381, 1986.
- 52.- Penetration, distribution and kinetics of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in human skin in vitro. *Archtoxicol*, Vol. 65 No. 5, pp 421, 428, 1991.
- 53.- Influence of topical corticosteroids on hormones in urine and plasma. *Arzneimittelforschung*, Vol. 36, (Jun) 6, pp 993-996, 1986.
- 54.- Garden, JM, Freinkel, R. Systemic absorption of topical steroid. *Arch. Dermatol.* Vol. 122, p 1007, 1986.
- 55.- Syntex.: Monografía del sistema de triple corticoide integrado. Mèxico, p 15, 1986.
- 56.- Robertson D., Howard, I.M.: Topical corticosteroids. *Int. J. Dermatol.* Vol. 24, p 59, 1982.
- 57.- Management of psoriasis vulgaris with a hydrocolloid o celusive dressing. *Arch-Dermatol*, Vol. 123 (Aug) 8, pp 1046-52, 1987.
- 58.- Lee, S.: Topical Steroids. *Int. J. Dermatol.* Vol. 20, p 632 1981.
- 59.- Poulsen, B.: Design of topical drug products biopharmaceutics. *En drug design*. Editor E. J. Ariens, Academic Press. New York, p. 149, 1973.
- 60.- Fry, L, Fenella T.: *Illustrated encyclopaedia of dermatology*. Editorial. University Park press Saunders, p 443, 1981.
- 61.- Czerniecki B; Witz G; Reilly C; Gad S. C. The development of contact hypersensitivity in mouse skin is suppressed by tumor promoters. *J-appl-toxicol*, Vol. 8, (Feb)- 1, pp 1-8, 1988.

- 62.- F Yamashita, T Yoshioka, Y Koyama, H Okamoto, H Sezaki, M Hashida. Analysis of Skin Penetration enhancement Based on a 2-Layer Skin Corneum-Dose-Dependent Effect of 1 Geranylazacycloheptan-2-one on drugs with different lipophilicities. Biological & Pharmaceutical Bulletin vol. 16, (Jul) 7, pp 690-697, 1993
- 63.- Broto, A., Miranda, M.: Empléode corticoide tòpico oclusivo aplicaci3n ùnica diaria, en dermatosis eczematosas. An. Bras. Dermatol, Vol. 59 p 41, 1984.
- 64.- Microette, automated sampler used with steady-state diffusion cells, Hanson Research Corp., Charsworth, CA. (1990).
- 65.- Waters Division, Millipore Corporation, 712D Dissolution Power-Line System, Milford, MA. (1990).
- 66.- 9 Barret, C.W. et al: The effect of particle size and vehicle on the percutaneous absorption of fluocinolone acetonide. Brit J. Dermatol. Vol. 77, p 576, 1965.
- 67.- Weston W. Topical corticosteroids in dermatologic disorders. Hospital Practice. Vol. 1, 159, 1984.
- 68.- Official journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists, Pharmaceutical research, Plenum Press New York and London. Vol. 8, No. 10, p S-23.
- 69.- Steven T. Wu, Gerald K. Shiu, John E. Simmons and Cols. In vitro release of nitroglycerin from topical products by use of artificial membranes. Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 81, No. 12, Dic., pp 1153-1156 (1192).
- 70.- Pharmacopeial Forum The United States Pharmaceopeial Convention, Inc. Vol. 19, No. 2. pp 5048, 5052, 5053, 5059.
- 71.- JH Kou, SD Roy, J Fujiki. Effect of receiver fluid pH on invitro Skin Flux of weakly ionisable drugs. Pharmaceutical Research Vol. 10 (Jul) 7, pp 986-990. 1993.

72.- Journal of controlled release ISSN 0168-3659, CODEN JCREEC. SOURCE7 SOURCE 1994, VOL. 30 n.1, pp.1-15 (72 ref). INIST- CNRS, COTE INIST : 20704, 35400004629797.0010

73.- Shah, V. y collaborator, "In vitro release of hydrocortisone from topical preparations and Automated Procedure," Pharm Res. Vol. 8 No. 1, (1991).

74.- Percutaneous absorption of drugs used in atopic eczema: pimecrolimus permeates less trough skin than corticosteroids and tacrolimus. International Journal of Pharmaceutics volume 269, issue 1,9 January 2004,pag. 29-35.

75.- Departamento de Tecnologia Farmaceutica, Facultad de Farmacia y Bioquimica, Universidad de Buenos Aires , Argentina.

76.- Clínica Universidad de Navarra, Pamplona España, Servicio de Farmacia Hospitalaria, ultima revisión 30 de septiembre de 2010. Tel.948255400.

77.- In Vitro Release of Nitroglicerín from Topical Products by Use of Artificial Membranes. Steven T. Wu, Generald K. Shiu, John E. Simmons, Robert L. Bronaugh, and Jerome P. Skelly. Journal of Pharmaceutical Science/ Vol. 81, No. 12, December 1992, p. 1153.

78.- Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Veterinaria, departamentos de Toxicología y Farmacología, Estudios comparativos de diferentes técnicas cromatograficas en el análisis de residuos de corticoesteroides en muestras biológicas. Olga Huetos Hidalgo, Manuel Ignacio de San Andrés Larrea, José Juan Sánchez Sáez, Madrid, 2004. pp. 25-90

24 APENDICE A GLOSARIO

ACTH **Hormona adrenocotropa**

AFA **Acetonido de fluocinolona anhidra**

α- MSH **Alfa- melanocita**

ANOVA El análisis de la varianza (o Anova: Analysis of variance) es un método para comparar dos o más medias. Es necesario porque cuando se quiere comparar más de dos medias es incorrecto utilizar repetidamente el contraste basado en la t de Student.

En resumen, el análisis de varianza sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos. El método para comparar estos valores está basado en la varianza global observada en los grupos de datos numéricos a comparar. Típicamente, el análisis de varianza se utiliza para asociar una probabilidad a la conclusión de que la media de un grupo de puntuaciones es distinta de la media de otro grupo de puntuaciones.

Atrofia de la piel

Estrías atróficas Son lesiones en forma de bandas lineales, visibles en la superficie de la piel, que se produce como resultado de una rotura intradérmica limitada, por estiramiento.

Capa epidermal basal. Es una monocapa de células cilíndricas, siendo esta la capa germinativa.

CH₃CN Acetonitrilo

Células granulares Células responsables del desarrollo del gameto femenino en el [ovario](#). Derivan de las [células epiteliales](#) celómicas de la cresta gonadal. Las [células granulosas](#) forman una capa simple alrededor de los [ovocitos](#) en el [folículo ovárico](#) primordial e inician la formación de un disco prolífero de múltiples capas rodeando el [óvulo](#) en el folículo de Graaf. Las principales funciones de las [células granulosas](#) son la producción de [esteroides](#) y [receptores de hl](#).

CCF cromatografía de capa fina

Complejo penfigo Este complejo, es conocido hace milenios. En términos de prevalencia, se incluye dentro de él, el pénfigo foliáceo (PF/ enfermedad de Cazenave), o pénfigo eritematoso (PE/ Enfermedad de Senear – Usher) y pénfigo vulgaris (PV), dentro de las formas más frecuentes. Además de estas, hay formas de pénfigo pustular panepidérmico, pénfigo secundario a drogas y un pénfigo paraneoplásico, mucho menos frecuentes. Los pénfigos foliáceo y eritematoso fueron por mucho tiempo, clasificados como esenciales o superficiales frente al vulgaris denominado como pénfigo profundo.

Córneoocito Células cutáneas muertas en la capa cornea que se encuentran conectadas firmemente al fondo.

α -queratina (una proteína estructural)

Dermatopatías autoinmunes: Las patologías autoinmunes pueden ser definidas de una forma simple como aquellas enfermedades en que el sistema inmune del paciente se dirige de forma errónea o insólita contra si mismo 27. Esto puede ser mediados a través de anticuerpos dirigidos a un antígeno de un extracto proteico cutáneo determinado (complejo pénfigo, penfigoide), de autoanticuerpos que

se unen a los antígenos desencadenando el depósito de complejos antígenos-anticuerpos en una zona de la membrana basal (lupus eritematoso)

DNA Acido desoxirribonucleico

Enfermedad de Malpigi La **amebiasis** o **amebosis** es una enfermedad contagiosa, cuyo agente patógeno es una **ameba** parásita (por ello el nombre de la enfermedad), del phylum **Protozoarios**, del Orden **Sarcodino**, denominada científicamente, *Malpighamoeba mellificae* (Prell 1927) que parasita los **tubos de Malpighi**. Maassen en Alemania fue el primero en observar el parásito en 1916, Prell en 1926 describió y clasificó el **protozoo, flagelado**

Dermatitis perioral Se refiere a la zona **alrededor de la boca**, y la dermatitis incluye enrojecimiento y pequeños granitos rojos (pápulas) y/o granitos con pus (pústulas). Puede acompañarse también de una leve descamación así como sensación de picor o quemazón.

Dermatitis por contacto Se trata de un padecimiento reaccional agudo, subagudo o crónico de la piel, desencadenado **por el contacto** con alguna sustancia.

Eritema (gr. *έρύθημα* (*erýthema*) "rojez", "inflamación"¹) es un término médico dermatológico para un enrojecimiento de la piel condicionado por una inflamación debida a un exceso de riego sanguíneo mediante vasodilatación. El eritema es un síntoma de distintas enfermedades infecciosas y de la piel. Con estos últimos, figura en (dentro de) las **eflorescencias** primarias.



Eritema originado por la **enfermedad de Lyme**.

Estrato córneo La capa más superficial de la epidermis. Está formada por un conjunto de estrato (20 a 30) de células que constituyen las tres cuartas partes de la epidermis

EEG electroencefalograma

F.A. fluocinolona anhidra

Foliculitis La Foliculitis es la inflamación de uno o más folículos pilosos. La afección se puede dar en cualquier lugar de la piel.

Hipertrichosis También se le conoce como el Síndrome del Hombre Lobo. Es una enfermedad muy rara, un problema de exceso de cabello, en la que las personas que la padecen están cubiertas completamente, a excepción de las palmas de las manos y de los pies, por un vello lanugo largo, que puede llegar hasta los 25 centímetros. Sólo se han documentado 50 casos.

Hipo pigmentación Albinismo oculocutáneo

mcm micrómetro

Lupus Miliaria disseminatus faciei es una dermatosis inflamatoria crónica que predomina en adultos jóvenes. Se distingue por lesiones de aspecto papular.

Lupus eritematoso discoide (LED) Es un trastorno crónico de la piel. El LED localizado (la forma más común) afecta la piel de la cara, cuero cabelludo, orejas y cuello. El LED generalizado afecta la piel de los brazos y pecho. El LED es diferente del lupus eritematoso sistémico, él cual afecta muchos órganos internos. El LED puede afectar a todas las edades y a ambos sexos. Generalmente ocurre en las mujeres de 30 a 40 años.

MetOH Metanol

μ =microgramos

Neurodermatitis localizada Enfermedad eczematosa de la [Piel](#), extremadamente variable, que se presume que es una respuesta a acciones vigorosas de rascado, frotación o pinchado para aliviar el [Prurito](#) intenso. La misma varía en intensidad, severidad, curso y expresión morfológica en diferentes individuos. Algunos creen que la neurodermatitis es psicogénica. La forma circunscrita o localizada se le conoce a menudo como liquen simple crónico. Sinónimos: Liquen Simple Crónico, Neurodermatitis Circunscrita, Neurodermatitis Localizada

Otitis externa alérgica La definición de otitis externa sería como su propio nombre indica la inflamación de las porciones más externas del aparato auditivo, esto es principalmente conducto auditivo externo, y por extensión a las diferentes zonas del pabellón auricular.

Pendifoide Es un trastorno cutáneo, también llamado vesicular, caracterizado por la formación de [ampollas](#) grandes.

Preparación tópica: es una acción local sobre el estrato corneo.

Preparación endodérmica: la difusión de la sustancia es más importante, pero el fármaco no alcanza la circulación sistémica.

Preparaciones transdermicas: en este caso la piel es una ruta real de administración y el fármaco difundirá desde el estrato córneo hasta la hipodermis y alcanzara la circulación sistémica

Pénfigo Introducción. Es un padecimiento auto inmune de la piel y mucosas de origen desconocido en el que se forman ampollas flácidas debido a un defecto en la cohesión celular ...

Pitiriasis rosada Es un tipo común de erupción cutánea que se observa en los adultos jóvenes

Psoriasis La **psoriasis** (del [griego](#) ψώρα, [sarna](#)) es una enfermedad [inflamatoria](#) crónica de la [piel](#), no es contagiosa, que produce lesiones escamosas, engrosadas e inflamadas, con una amplia variabilidad clínica y evolutiva.

Psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica y recurrente de la piel caracterizada por placas eritematosas, descamativas (plateadas), secas, bien delimitadas y simétricas. Es una enfermedad no contagiosa que sufre el 2-3% de la población.

Proteína transmembranal

De Wikipedia, la enciclopedia libre
Saltar a [navegación](#), [búsqueda](#)

Una **proteína transmembranal** es aquella [proteína](#) integral de membrana que atraviesa la [bicapa lipídica](#) una vez (unipaso) o varias (multipaso). Se pueden distinguir tres dominios. En primer lugar una zona que pasa a través de la membrana, de características hidrofóbicas (que repele el agua) para interactuar con los lípidos de la bicapa lipídica (membrana celular). Además, un dominio citosólico y otro extracitosólico en contacto con el interior y exterior de la célula respectivamente, de carác

ter hidrofílicos ("les gusta el agua"). El resultado es una proteína [anfipática](#).

Como proteína integral que es, sólo se puede aislar de la bicapa mediante la aplicación de detergentes, como [SDS](#). Las principales funciones son servir como

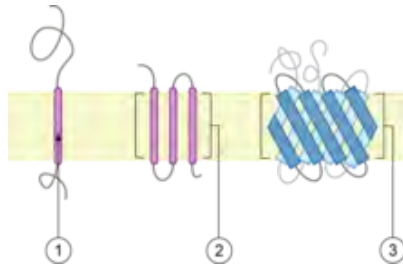
[canales transportadores de iones](#) o moléculas, como por ejemplo las [acuaporinas](#) que transportan agua a través de la membrana; recepción de señales celulares, anclaje al [citoesqueleto](#) o a la [matriz extracelular](#), etc.

24.1 Contenido

[ocultar]

- [1 Tipos de proteínas transmembranales según su estructura](#)
 - [1.1 Transmembranal unipaso](#)
 - [1.2 Transmembranal multipaso](#)
- [2 Referencias](#)
- [3 Véase también](#)

24.2 Tipos de proteínas transmembranales según su estructura



Distintos tipos de proteínas transmembrana: **1.-** unipaso **2.-** multipaso en α -hélice **3.-** multipaso en β -lámina

24.2.1 Transmembranal unipaso

Atraviesa la bicapa una sola vez. El extremo N-terminal de la proteína queda a un lado de la membrana, y el extremo C-terminal al otro. De este tipo son los Receptores-PTK (con actividad Proteintirosín kinasa), enzimas del Aparato de Golgi, etc. Un ejemplo muy estudiado es la [glucoforina](#) de la membrana del [eritrocito](#). Los dominios de estas proteínas se caracterizan por:

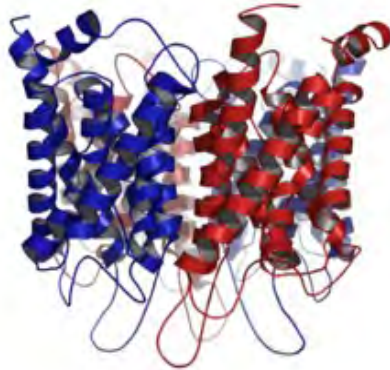
Dominio transmembrana

Presenta una estructura secundaria en [\$\alpha\$ -hélice](#), con una longitud de unos 20 a 30 aminoácidos. Los residuos laterales han de ser en su mayoría hidrofóbicos, como alanina, leucina, isoleucina, etc. para poder interactuar con el interior de la bicapa por fuerzas hidrofóbicas y de [Van der Waals](#). Es importante señalar que el interior de la hélice está ocupado, y no sirve como canal. En los extremos de la hélice, pueden estar residuos con carga, que interactúan con la cabeza polar de los [fosfolípidos](#) de la bicapa.

Dominios no transmembrana

Son generalmente hidrofílicos y globulares, de longitud variable, que se mantienen mediante [enlaces de hidrógeno](#) y fuerzas electrostáticas. En el dominio extracitosólico pueden presentarse [enlaces disulfuro](#) -S-S- y cadenas de oligosacáridos, cosa que no ocurre en el dominio citosólico.

24.2.2 Transmembranal multipaso



Vista lateral de Acuaporina 1, proteína multipaso en α -hélice, cuyo interior forma un canal que permite el paso de agua. La conformación tridimensional de estas hélices sólo permite que pasen moléculas de agua a través del canal, de una en una.

Atraviesan la bicapa lipídica en dos o más ocasiones, normalmente mediante varias α -hélice, aunque hay casos de inserciones a través de [\$\beta\$ -lámina](#). Hay muchos ejemplos: receptores asociados a [proteínas G triméricas](#), canales iónicos, [porinas](#) en bacterias, y de nuevo en el eritrocito la proteína [Banda 3](#), proteína transmembranal multipaso que atraviesa la membrana con 12 α -hélices, y con sus extremos hacia el citosol.

a) Multipaso en α -hélice

Estas proteínas tienen tantas α -hélices como veces atraviesan la membrana. Estas hélices se unen mediante [bucles](#) en sus dominios citosólico y extracitosólico. Las α -hélices pueden servir únicamente como mero medio de anclaje a la bicapa, o pueden formar un canal por el que puedan pasar diversas sustancias. En este último caso, las hélices tienen residuos hidrofóbicos que dan por fuera del canal, para interaccionar con la bicapa; mientras que los residuos que dan hacia el canal interno son hidrofílicos. De esta forma, muchas sustancias polares que en ausencia de proteínas no podían cruzar la membrana, ahora sí pueden hacerlo. Para poder formar un canal iónico, se necesita un mínimo de 5 α -hélices.

Las α -hélice pueden desplazarse, resbalando unas sobre otras, para producir un [cambio conformacional](#). Esto sirve para regular la abertura de canales, transportar compuestos por [permeasas](#) y para la [transducción de señales](#)

b) Multipaso en β -lámina

Mucho menos frecuentes son los casos de proteínas transmembrana multipaso en β -lámina. Ejemplos se dan en cloroplastos, mitocondrias y

bacterias. La β -lámina sólo requiere unos 10 aminoácidos para atravesar la bicapa. Existen proteínas con un número de β -lámina desde 8 a 22. Normalmente forman canales por los cuales atraviesan diferentes solutos. Es el caso de los poros de porina, una proteína presente en la membrana de algunas bacterias, así como en mitocondrias y cloroplastos, por los que pasan sustancias con un [peso molecular](#) inferior a 800 Da por [simple difusión](#). La porina cruza la membrana con 16 β -lámina antiparalelas, que simulan las duelas de un barril. Estas láminas alternan aminoácidos polares y apolares, los polares están orientados a la luz del canal, y los apolares contactan con la parte hidrófoba de la bicapa lipídica. Esto es una diferencia respecto a las α -hélice. Los bucles entre las β -lámina se proyectan hacia el lumen del canal, lo que les confiere especificidad. Además de porina, otros ejemplos son los poros también en forma de barril de [maltoporina](#), para maltosa, y poro de proteína [FepA](#), para iones de hierro, ambos en bacterias. No obstante, no todas las proteínas multipaso en β -lámina actúan como canales. Existen enzimas en β -lámina, como la [lipasa OMPLA](#), y algunos receptores de membrana. En estos casos, los residuos polares de las β -lámina obstruyen el canal, imposibilitando esta función. La única función del barril es el anclaje a la membrana. A diferencia de las α -hélice, las β -lámina se unen entre sí de una forma más rígida, impidiendo los cambios conformacionales, limitándose así su versatilidad.

24.3 Referencias

- Alberts *et al* (2004). *Biología molecular de la célula*. Barcelona: Omega. [ISBN 54-282-1351-8](#).
- Lodish *et al*. (2005). *Biología celular y molecular*. Buenos Aires: Médica Panamericana. [ISBN 950-06-1974-3](#).

24.4 Véase también

- [Acuaporina](#)
- [Proteína G](#)

Prurito es un hormigueo peculiar o irritación incómoda de la piel que conlleva un deseo de rascar la parte en cuestión. Comúnmente se llama picazón o comezón.

Queratinocitos Son las células predominantes 80 % de la epidermis es la capa más superficial, Son células muertas que se desprenden continuamente

q = Cuantificado por TLC (Syntex Research method 10,138^a)

Rash [Exantema](#), Erupción Enrojecimiento o prominencias de la piel o ambas cosas a la vez que pueden aparecer ante una sustancia (intoxicación, alergia). Pueden producirse con o sin fiebre.

RNA Ácido Ribonucleico

RNAm [ARN mensajero](#). El ARN mensajero (ARNm o RNAm) lleva la información sobre la secuencia de aminoácidos de la proteína desde el ADN, lugar en que está inscrita, hasta el ribosoma, lugar en que se sintetizan las proteínas de la célula. Es, por tanto, una molécula intermediaria entre el ADN y la proteína y el apelativo de "mensajero" es del todo descriptivo. En eucariotas, el ARNm se sintetiza en el [nucleoplasma](#) del [núcleo celular](#) y de allí accede al [citósol](#), donde se hallan los ribosomas, a través de los poros de la [envoltura nuclear](#).

rpm **Revolución por minuto.**

S= Semicuantificado (Syntex Research Method 10,172)

SNC Sistema Nervioso Central

Sistema de reservorio: el fármaco se mantiene dentro de un reservorio con una membrana de permeabilidad selectiva. La membrana controlará la liberación del fármaco y la difusión a través de la piel. El estrato córneo no es el factor limitante de la penetración, la membrana creará un sistema de liberación controlado con una liberación de orden cero.

Sistemas matriciales: estos sistemas monolíticos están constituidos por un disco polimérico de grosor y área definidas, en el cual está uniformemente dispersado el fármaco.

THF **Tetrahidrofurano**

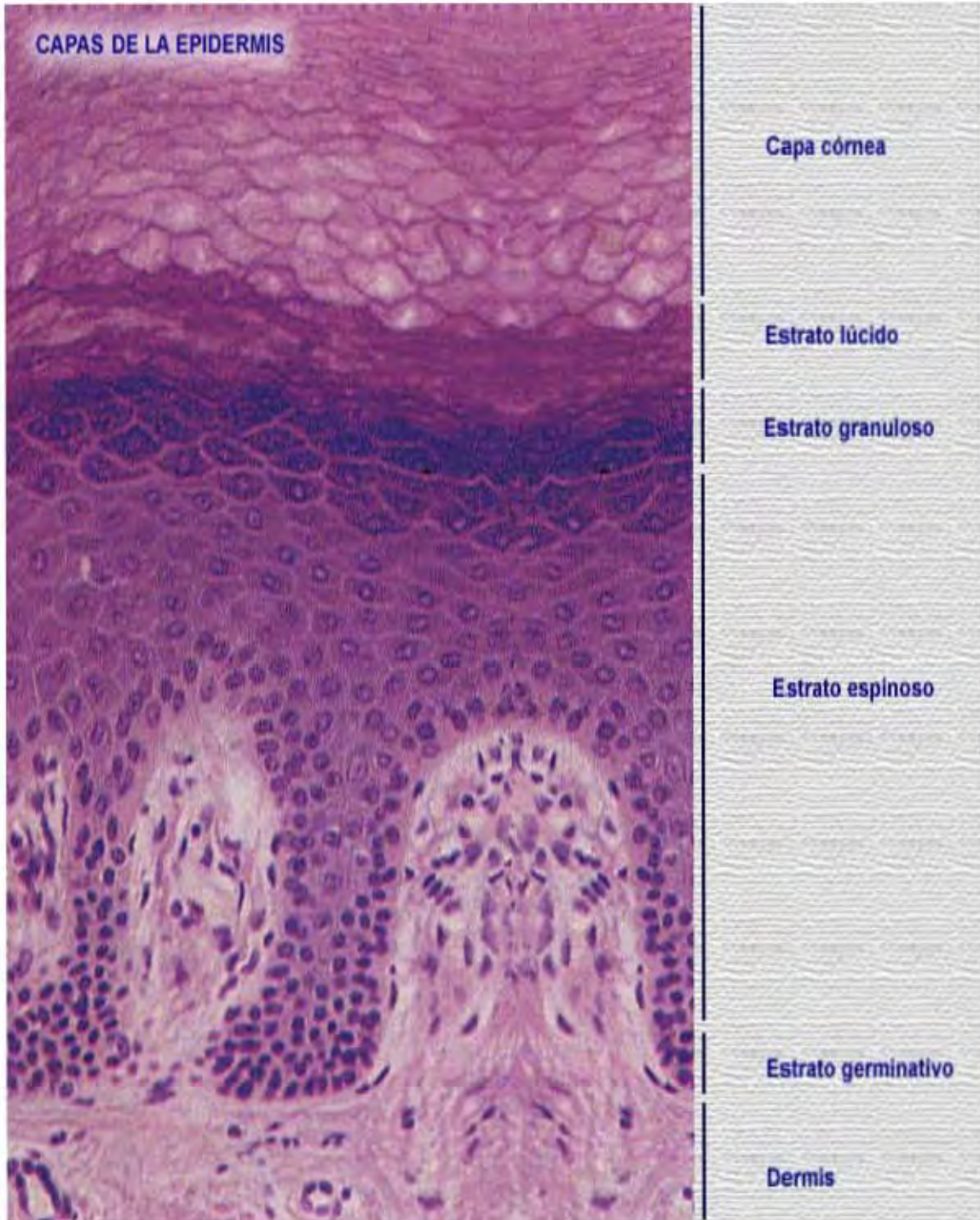
UV **Ultra violeta**

Maceración infección agregada

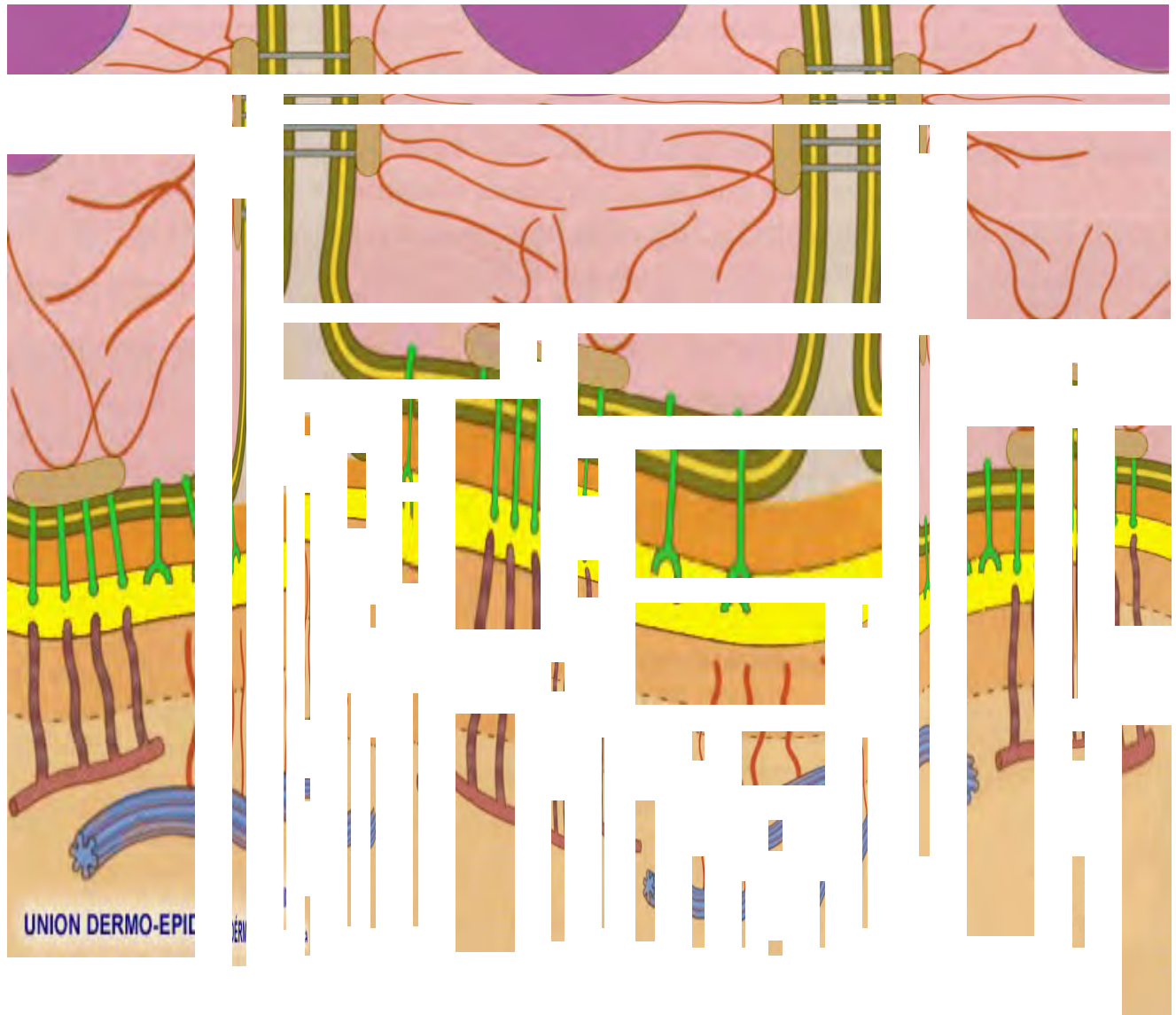
Xerosis en fase inflamatoria

Xerosis En [semiología clínica](#), se denomina **xerosis** a la sequedad de la [piel](#)¹ o de la [conjuntiva](#) y otras membranas [mucosas](#).² Las principales causas son la [desnutrición](#) y la [dermatitis atópica](#). La xerosis es un signo muy frecuente en niños escolares con el [Síndrome de Down](#).³ El alivio de la xerosis suele incluir humectantes y en casos de [eccema](#) muy pronunciado, esteroides. El tratamiento de la patología de base elimina la sintomatología

ANATOMIA DE LA PIEL



ANATOMIA DE LA PIEL



- Desmosoma
- Hemidesmosoma
- Lámina lúcida
- Lámina densa
- Lámina fibroreticular
- Fibrillas de anclaje
- Molécula de adhesión
- Proteínas de anclaje
- Fibras de colágeno
- Microfibrillas
- Fibras elásticas

La capa basal está formada por tres láminas: la **lámina lúcida** (así llamada por aparecer transparente en las

Disulfuro.

Involucrina, Es una proteína expresada por los queratinocitos maduros y puede ser empleado como marcador de diferencias. Este anticuerpo es de utilidad para demostrar la presencia de diferenciación escamosa. En tumores epidermicos indiferenciados la positividad para involucrina orienta hacia el diagnóstico de un carcinoma epidermoide.

25 Estructura y patología de la piel

La piel es el órgano más extenso del cuerpo, tiene una superficie media de 1,6 m² y un peso de aproximadamente 4 Kg. Está constituida por 3 niveles: la epidermis, la dermis (tejido conectivo) y el tejido graso (adiposo o subcutáneo). La piel tiene múltiples funciones (tabla 1) que son desarrolladas por las diferentes estructuras, células y anejos que la componen. Entre las funciones destaca la función inmunológica y la función barrera. La función inmune se realiza por la inmunidad natural y la adaptada. La función barrera impide la entrada de sustancias u organismos del exterior y la pérdida desde el interior así como también ejerce la función de filtro de la radiación ultravioleta. Entre otras funciones destacan la función reparadora de heridas, úlceras y del daño celular producido por la radiación ultravioleta, las funciones vasculares nutritivas y reguladoras de temperatura, las funciones sensitivas, de comunicación y las funciones de relación o atención.

Epidermis:

La epidermis es la parte más externa y está constituida por un epitelio escamoso que tiene un grosor de entre 0,03 mm (párpado superior) a 1,5 mm (palmas), con un grosor medio de 0,4 mm. Está formada por 4 capas y en ella podemos encontrar 4 tipos celulares: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel.

1. **Queratinocito:** Es la célula más presente en la epidermis (representa el 80% de las células epidérmicas). Los queratinocitos son las células que producen queratina y además producen citocinas que son moléculas solubles con funciones de regulación de las células epiteliales y células dérmicas. Los [queratinocitos](#) forman las 4 capas de la epidermis: capa basal, estrato espinoso, estrato granuloso y capa córnea. El paso desde las células de la capa basal hasta la queratina tiene una duración de unos 15 días.
 - a. La capa basal es la más profunda y está constituida por una sola capa de células cuboidales que se disponen por encima de la unión dermo-epidérmica. En la capa basal, los queratinocitos expresan las queratinas K5 y K14.
 - b. El estrato espinoso o de Malpighio está constituido por múltiples hileras de queratinocitos que expresan las queratinas K1/K10, de citoplasma eosinófilo, aplanados y unidos entre si por los desmosomas
 - c. La capa granulosa está por encima y está constituida por una o varias hileras de células que contienen los gránulos de queratina (queratinas K2/11)
 - d. Por encima de la capa granulosa se encuentra la capa córnea en la que las células han perdido el núcleo y conforman la [queratina blanda](#). En ciertas localizaciones (palmas y plantas) existe una capa

visible, amorfa, entre la capa granulosa y la capa córnea que se denomina estrato lúcido.

2. **Melanocito:** El melanocito es una célula dendrítica que deriva de la cresta neural y que migra hacia la epidermis y el folículo piloso durante la embriogénesis. Su principal función es la producción de melanina que tiene importancia cosmética y de protección solar. En situaciones normales los melanocitos se disponen a nivel de la capa basal epidérmica y contactan con los queratinocitos por medio de sus dendritas, existiendo un melanocito por cada 36-40 queratinocitos (unidad melánica epidérmica) o un melanocito por cada 9 células basales. La densidad de los melanocitos es variable dependiendo de la región anatómica (es más alta en la región genital), pero es muy constante entre los individuos de las diferentes razas. El color de la piel va a depender de la actividad de los melanocitos que está determinada por las características de los melanosomas y de la actividad de las enzimas que participan en la síntesis de melanina así como de la capacidad de los melanocitos de transferir el pigmento a los queratinocitos. La melanina puede tener básicamente dos formas, la eumelanina (color marrón parduzco) y la feomelanina (pigmento rojo amarillento), su síntesis está regulada por diversas enzimas entre las que destaca la tirosinasa que metaboliza el aminoácido tirosina para formar dihidroxifenilalanina (DOPA), la actividad de la enzima está estimulada por la unión de la MSH (*melanocyte stimulating hormone*) a un receptor en la membrana de los melanocitos. Este receptor MCR (melanocortin receptor) presenta hasta 5 variantes y dependiendo de la variante presente se va a determinar la respuesta en la producción de un tipo u otro de melanina (eumelanina o feomelanina) lo que va a determinar la respuesta del individuo a la luz solar.

3. **Célula de Merkel:** Es una célula que se localiza a nivel de la capa basal y tiene una función mecano-receptora, estando localizada en lugares con sensibilidad táctil muy intensa como son los pulpejos, mucosa y folículo piloso. A nivel epidérmico se asocia con las terminaciones nerviosas intraepidérmicas. La queratina 20 es el marcador más eficaz de la célula de Merkel.

4. **Célula de Langerhans:** fueron descritas en 1868 por el estudiante de medicina Paul Langerhans. Derivan de la médula ósea y tienen la función de presentación antigénica y están involucradas en una gran variedad de respuestas inmunes por medio de la activación de las células T. Las células de Langerhans tienen una distribución muy constante en toda la piel y pueden detectarse por medio de la localización de diversos antígenos como la ATPasa, CD1, CD4, S100, HLA-DR, y en el citoplasma las células

contienen un gránulo característico que se observa en microscopía electrónica y que tiene forma de gusano o raqueta conocido como gránulo de [Birbeck](#) . La célula de Langerhans es el principal efector de las reacciones inmunes epidérmicas ([siendo un ejemplo las dermatitis de contacto alérgicas](#)) . El contacto antigénico con la epidermis da lugar a una alteración de la homeostasis de las células de Langerhans, que se manifiesta por cambios fenotípicos y funcionales. Los antígenos captados por las células de Langerhans, se procesan en compartimentos especializados y un fragmento de los cuales se une a complejos de histocompatibilidad mayor. Tras unas horas las células de Langerhans -procesadoras de antígenos- [aumentan de tamaño, abandonan la epidermis](#), migran a través de la dermis y entran en los vasos linfáticos dérmicos y migran hacia las áreas paracorticales de los ganglios linfáticos de drenaje, en donde presentan el antígeno a las células T dando lugar a una respuesta específica y productiva en estas células. Para llevar a término su función, las células T deben acumularse en las zonas cutáneas que acumulan el antígeno. Tras estímulos antigénicos repetidos de las células de Langerhans, las células T sensibilizadas sufren una expansión clonal dando lugar a células o moléculas efectoras que eliminan el patógeno.

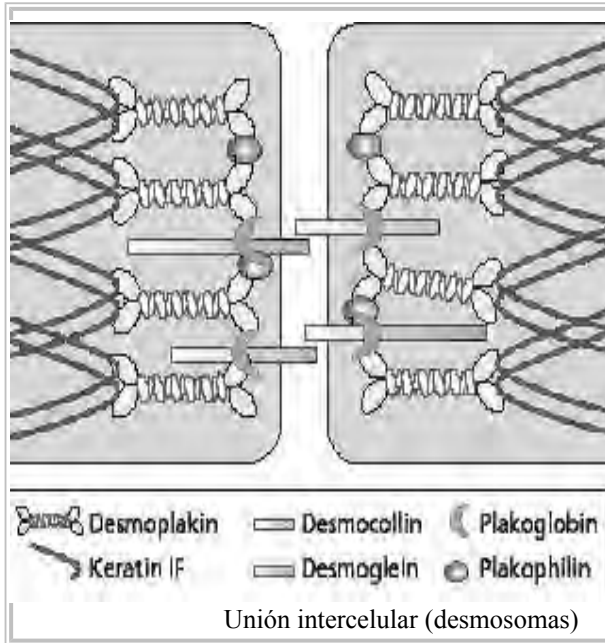
Unión intercelular y unión dermo-epidérmica

Las células epidérmicas están unidas entre sí por medio de los puentes de unión intercelular y están unidas a la dermis por medio de la membrana basal.

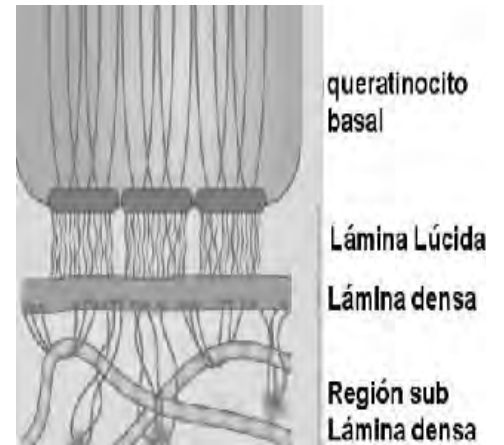
Los puentes de unión intercelular o [desmosomas](#) están constituidos por varias proteínas que se agrupan en 3: 1)filamentos de queratina, 2)plaquinas y 3)desmogleinas. Existe un grupo de enfermedades autoinmunes -los pénfigos-, que se caracterizan por el desarrollo de anticuerpos dirigidos contra las proteínas que constituyen los desmosomas alterando su función y dando lugar a la acantolisis.

La epidermis está separada de la dermis por la capa basal, constituyendo la unión dermo-epidérmica. La membrana basal que se identifica con facilidad como una membrana homogénea, eosinofílica, PAS+, es una estructura compleja formada por 4 espacios (Figura 1): 1) la membrana de las células basales, 2)la lámina lúcida (LL), 3)la lámina basal (LB) y 4)la zona fibrosa o sublámina densa. A nivel de las células basales se pueden observar los hemidesmosomas (HD) que unen la epidermis a la lámina densa a través de los filamentos de anclaje, constituidos principalmente por las proteínas [laminina 5](#) y BP180. La lámina densa está compuesta predominantemente por colágeno tipo IV y está unida a la dermis subyacente por medio de las fibras de anclaje constituidas por colágeno tipo VII.

Existen varios grupos de enfermedades autoinmunes (penfigoide, epidermolisis ampollosa adquirida) y congénitas (Epidermolisis ampollosas), que se caracterizan por la alteración de la función de las proteínas que conforman la unión dermo-epidérmica produciéndose la formación de ampollas a nivel de la membrana basal.



Unión dermo-epidérmica (hemidesmosomas)



La epidermis no es un sistema estable, existen en patología muchos procesos que cursan con alteraciones de la cinética celular epidérmica y en estas situaciones podemos observar alteraciones en el grosor de la epidermis (Acantosis, Queratosis, Paraqueratosis, Hipergranulosis), en la cohesión de las células epidérmicas ([Acantolisis](#), [Balonización](#), [Esgongiosis](#), Vesiculacion, Ampollas) y en la diferenciación de estas células (Disqueratosis)

Dermis:

La dermis representa un tejido fibro-elástico, formado por una red de colágeno y fibras elásticas. En la dermis podemos encontrar fibras (colágena, elásticas y reticular), células (fibroblastos, mastocitos, dendrocitos dérmicos y macrófagos), elementos vasculares, neurales y anejos (pelos, glándulas ecrinas, apocrinas y sebáceas). La dermis se puede dividir en dos partes: 1) Una zona fina que pasa por debajo de la epidermis (dermis papilar) y alrededor de los anejos (dermis perianexial) y 2) una zona gruesa que va desde la dermis papilar y el tejido subcutáneo (dermis reticular). La combinación de la dermis papilar y la dermis perianexial se ha denominado dermis adventicial. La dermis papilar localizada por debajo de las papilas dérmicas y a la región subpapilar tiene muchos vasos y fibras de reticulina. La dermis reticular es más rica en colágeno y fibras elásticas. El fibroblasto es la célula más presente y tiene como misión la fabricación de los elementos fibrosos de la dermis, especialmente colágena. El colágeno es una proteína sintetizada por el fibroblasto pudiendo ser producida por otras células como miofibroblasto, osteoclasto, etc. El colágeno no es homogéneo en todo el organismo, existiendo 13 tipos en relación con la morfología, composición de aminoácidos y propiedades físicas. La dermis contienen principalmente colágeno tipo I (85-90%), tipo III (8-11%) y tipo V (2-4%). Las fibras elásticas son esenciales para las propiedades retráctiles de la piel y solo representan un 2-4% de los constituyentes de la dermis.

Estructuras anexas:

Las estructuras anexas de la piel incluyen los pelos, las uñas, las glándulas sebáceas, las glándulas sudoríparas ecrinas y las glándulas sudoríparas apocrinas.

Los pelos cubren toda la superficie corporal excepto palmas, plantas y mucosas. Morfológicamente existen 3 tipos de pelo: el lanugo o vello fetal, el pelo veloso y el pelo terminal. Los pelos se forman a nivel del folículo piloso, estando constituidos por queratina dura, tienen 3 fases de crecimiento que se producen de forma cíclica: la fase anágena o fase de crecimiento, la fase catágena o fase intermedia que dura unas semanas y la fase telógena o fase de descanso que puede durar entre 2 y 4 meses tras lo cual el cabello cae y vuelve a iniciarse un nuevo ciclo de crecimiento. La duración de la fase anágena es variable en las diferentes zonas del [cuerpo](#) cuerpo y determina la longitud del cabello. En el cuero cabelludo un 90% de los cabellos están en fase anágena, un 1% en fase catágena y un 9% en fase telógena. El crecimiento medio del cabello es de entre 0,3 y 0,5 mm por día, . El crecimiento del cabello está regulado en zonas por las hormonas, especialmente los andrógenos, las zonas donde tiene más influencia la actividad androgénica son la barba, en torso, área genital y el cuero cabelludo. El color del cabello está determinado por la presencia de los melanocitos foliculares localizados en la zona matricial del cabello, la intensidad del color está en relación con la cantidad de melanina y el tipo (eumelanina en el pelo castaño y negro y feomelanina en pelo rubio y pelirrojo).

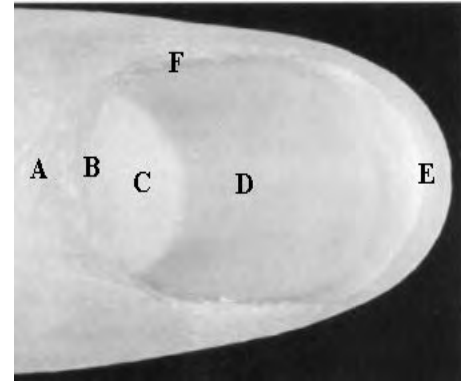
Las uñas también están formadas por queratina dura y están formadas por diversas partes que incluyen la matriz, la cutícula, la lúnula, la lámina ungueal y el hiponiquium.

Ciclo de crecimiento del pelo :

1. Anágena. fase de crecimiento
2. Catágena: fase intermedia
3. Telógena: fase de reposo y caída



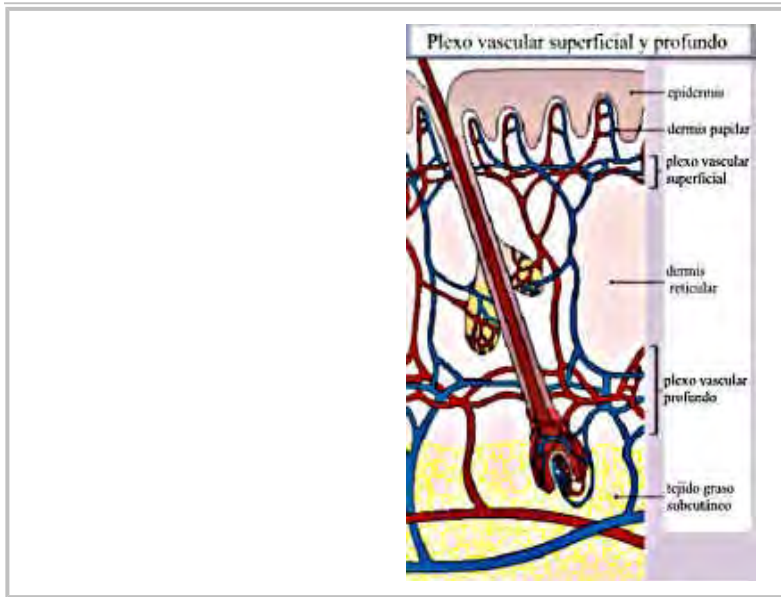
- A: Matriz
- B: Cutícula
- C: Lúnula
- D: Lamina ungueal
- E: Hiponiquio
- F: Pliegue ungueal lateral



Glándulas sebáceas: son glándulas holocrinas que drenan directamente al [folículo piloso](#) excepto en determinadas áreas como areola, pezón (en esta localización se denominan tubérculos de Montgomery) [labios \(manchas de fordyce\)](#), labios menores y glande (glándulas de Tyson) y párpados (glándulas de meibonian), en que no se relacionan con el folículo y drenan directamente a la superficie cutánea. Estas glándulas aumentan su actividad en la pubertad y su número y actividad son muy variables entre las diferentes personas. Las más numerosas están en el cuero cabelludo y la cara y están ausentes en las palmas y plantas. Las glándulas sebáceas producen los lípidos que están compuestos principalmente de triglicéridos.

Glándulas sudorales ecrinas: producen el sudor, que está compuesto mayoritariamente de agua. Las glándulas ecrinas tienen una porción secretora (porción intraepidérmica o acrosiringio y porción dérmica o ducto dérmico) y una porción excretora que drena directamente a la superficie cutánea. La función más importante es producir sudor para regular la temperatura y responden a estímulos tales como el calor, ciertos alimentos, situaciones de estrés, y estímulos simpáticos y para simpáticos.

Glándulas sudorales apocrinas: no tiene una presencia marcada en la piel del hombre. Se localizan mayoritariamente en la axila, área anogenital, periumbilical, párpados (glándulas de Moll), areola y pezón. Son glándulas profundas localizadas a nivel de dermis profunda o tejido graso subcutáneo y que drenan directamente al folículo piloso. El mecanismo de secreción [apocrina](#) o por decapitación, no está bien establecido, su producción se incrementa por estímulos adrenérgicos. El olor de su producción se debe a la degradación de la secreción por la flora bacteriana.



Vasos: La piel recibe el riego sanguíneo de los vasos perforantes del tejido graso subcutáneo y músculo, formándose 2 plexos vasculares intercomunicados entre sí. Un plexo vascular profundo localizado a nivel de la unión dermo-hipodérmica y un plexo vascular superficial localizado en la porción alta de la dermis reticular desde el cual salen las asas capilares que se distribuyen en la dermis papilar. El flujo sanguíneo cutáneo es de gran importancia en la

termoregulación.

Nervios: A nivel cutáneo existen múltiples terminaciones nerviosas que reciben los estímulos externos. Existe un sistema eferente que es responsable del funcionamiento del sistema vascular y aneural, derivado del sistema nervioso autónomo simpático y un sistema aferente responsable de la sensibilidad cutánea. El sistema aferente está constituido por terminaciones nerviosas libres (responsables de la sensibilidad a la temperatura, picor y dolor), terminaciones nerviosas relacionadas con el folículo piloso (función mecanoreceptora) y terminaciones capsuladas, entre las que destacan los corpúsculos de Meissner y de Pacini. Los corpúsculos de Pacini se localizan a nivel de las palmas y plantas y son responsables de la sensibilidad a la presión y vibración. Los corpúsculos de Meissner se localizan a nivel de la dermis papilar de manos, pies y labios y son responsables de la sensibilidad táctil.

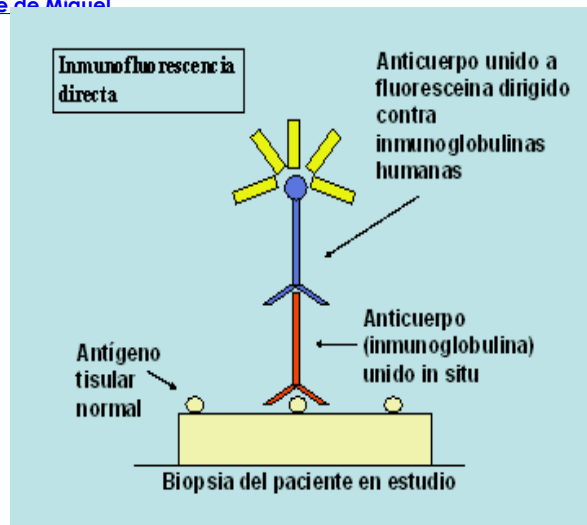
Tejido graso subcutáneo: El tejido subcutáneo está compuesto por lobulillos de células grasas separados por septos fibrosos y tienen como misión la conservación de la temperatura y de energía.

Biopsia cutánea:

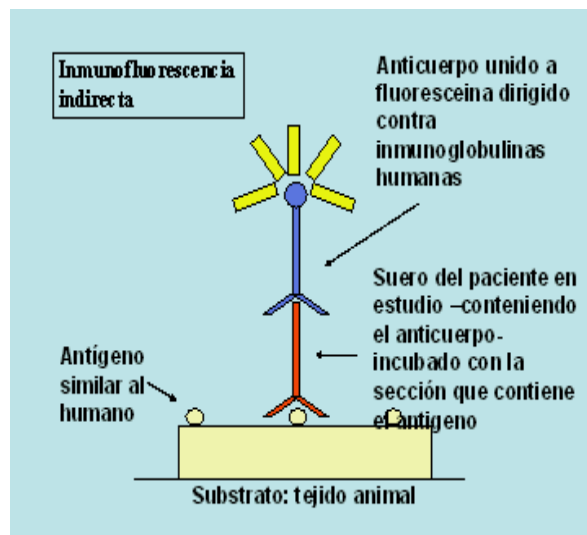
La biopsia cutánea es una técnica sencilla, pero que requiere una selección cuidadosa de la zona a biopsiar. Hay diferentes técnicas para realizar una biopsia que incluye la biopsia simple, la biopsia extirpación, la biopsia por rebanado (*shave biopsy*), la biopsia en sacabocados (*punch biopsy*). El conocimiento de la patología que se quiere confirmar mediante la realización de una biopsia nos hará decidir por un método u otro. Para el estudio dermatopatológico, las biopsias deben ser fijadas en formol al 10%. También son útiles en dermatología las

26 www.uv.es/derma Dr. Víctor Alegre de Miguel

La inmunofluorescencia directa (IFD) es un procedimiento de un solo paso que se utiliza para demostrar el depósito de inmunoglobulinas, complemento y fibrinógeno en la piel. Para ello se obtiene una biopsia del paciente y se incuba con anticuerpos marcados con fluoresceína y dirigidos contra las inmunoglobulinas. Si estos se han fijado podrán ser visualizados mediante un microscopio de inmunofluorescencia. La inmunofluorescencia directa nos permite observar depósitos de inmunoglobulinas en las diferentes estructuras epidérmicas, así tendremos depósitos a nivel del espacio intercelular (en las enfermedades contra anticuerpos constituyentes de los desmosomas, vgr pénfigo), nivel de la unión dermo-epidérmica (en enfermedades con anticuerpos contra proteínas de la unión dermo-epidérmica, vgr: pénfigoide ampolloso), anticuerpos depositados en los vasos dérmicos (se observan en las vasculitis) o en dermis papilar (dermatitis herpetiforme), o hallazgos combinados (ICS y MBZ, como en en pénfigo paraneoplásico)



La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es una técnica de dos pasos que tiene como objetivo la demostración de anticuerpos circulantes en el suero del paciente dirigidos contra estructuras epidérmicas. Para ello se incuba un sustrato (piel de conejo) con el suero del paciente a estudio y posteriormente se incuba con anticuerpos marcados con fluoresceína dirigidos contra las inmunoglobulinas.



La inmunofluorescencia indirecta en piel separada es una técnica que combina la inmunofluorescencia indirecta en suero con un sustrato animal como sustrato una piel separada tras incubación con cloruro sódico. La

Técnicas de inmunofluorescencia. Estas técnicas nos permitirán demostrar la presencia de anticuerpos fijados a antígenos epidérmicos. Son especialmente útiles en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, especialmente las ampollas. Las técnicas pueden ser realizadas en biopsias congeladas en nitrógeno líquido y conservadas en este medio hasta su procesamiento. Para establecer el diagnóstico diferencial de las enfermedades ampollas, se realizan 3 técnicas de inmunofluorescencia: directa, indirecta e indirecta en piel separada.

TABLA Nº 1. MODELOS DE DIFUSIÓN CON MEMBRANAS UTILIZADAS PARA SIMULAR LA TRANSFERENCIA CUTÁNEA					
AUTORES	REFERENCIA	SUSTANCIAS ESTUDIADAS	MEDIO	MEMBRANA	MEDIO DE DIFUSIÓN
Stoughton y Coll	137	Hidrocortisona	Soluciones acuosas de sulfóxido	Piel humana aislada	solución salina fisiológica
Colman y Coll.	34	Acetónido de Flucinolona, Fluocinomida	Solución de Propilen glicol. Miristato de isopropilo, isopropanol	Piel humana aislada	solución isotónica del sódico
Poulsen B.J.	110	Acetónido de Flucinolona, Fluocinomida	Pomada	Piel humana aislada	solución salina fisiológica
Polano M.K. Polnec M.	106	Acetónido de triamcinolona 17-butilato de hidrocortisona	Pomadas y cremas	Piel humana aislada	solución salina fisiológica
Polnec M. Polano M.K.	107	17-butilato de Hidrocortisona	Solución alcohólica cremas	Piel humana aislada	solución salina fisiológica
Polnec M.	108	17-butilato de Hidrocortisona	Cremas, geles alcohólicos, solución alcohólica, pomadas	Piel humana aislada	solución salina fisiológica

TABLA Nº 2. MODELOS DE DIFUSIÓN SIN MEMBRANA UTILIZADOS PARA SIMULAR TRANSFERENCIA CUTÁNEA				
AUTORES	REFERENCIA	SUSTANCIAS ESTUDIADAS	PREPARACIÓN GALÉNICA	MEDIO DE DIFUSIÓN
Dempski	38	Dexametasona	Pomada	Agua
Pouslen y Coll.	109	Acetónido de Flucinolona, Fluocinomida	Geles acuosos	Miristato de isopropilo
Pouslen B.J.	110	Acetónido de Flucinolona	Pomadas	Miristato de isopropilo
Coll J.	36	Fluocinomida	Geles	Miristato de isopropilo
Gillet-Vander Bruggen	56	Hidrocortisona	Gel alcohólico	Miristato de isopropilo
Moes.Henschel Jaminet	94	Dexametasona 17-valerato de Betametasona 21-acetato de fluprednilideno	Gel acuoso	Miristato de isopropilo
Hernández y Coll	64	Flupamesona fluprednilideno Formocortal	Pomadas	Miristato de isopropilo

TABLA Nº 3. PARALELISMO ENTRE LOS MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD LOCAL DE CORTICOSTEROIDES					
Corticoesteroides	In vitro		In vivo		Confirmación
	Fibroblastos	Efecto vasoconstrictor cutáneo	Efecto antigranulomatoso	Involución	Evaluación clínica tópica
Hidrocortisona	1	1	2	1	1
Prednisolona	1.7	3.4	2.7	4	2
Dexametasona	7.5	38	104	47 a 83	10
Parametasona	11.31	-	63.6	45.1	-
Acetónido de triamcinolona	56	-	48.5	37.7	40
Acetónido de Flucinolona	440	-	446	263	160

POR INTRODUCCIÓN DE NUEVOS GRUPOS EN EL ANILLO ESTIRENO			
CORTICOSTEROIDES	ACTIVIDAD TÓPICA	ACTIVIDAD GENERAL	NUEVOS GRUPOS
Hidrocortisona	1	1	
Prednisolona	1-2	4	Doble unión C1
Triamcinolona	1	5	= C1-C2-Fen9-OH en 16
Triamcinolona acetónido	10	-	Idem + Acetónido C16-C17
Fluormetolona	40	1-2	= C1-C2-CH3 en 6-F en 9- pérdida de OH en C21

TABLA Nº 5: GELES			
N.º	EXCIPIENTES	AGUA	pH
1	Polímero carboxivinílico de muy alto peso molecular (A)..... 1 g Glicerina..... 20 g Alcohol 95º 15 g Trietanolamina csp pH	62	6,5
2	Carbopol 934 1 g Trietanolamina csp pH	97 g	6,5
3	Carbopol 934..... 1 g Glicerina..... 20 g Alcohol 95º 15 g Trietanolamina csp 1 pH	62 g	7,8
4	Carbopol 1 g Trietanolamina csp pH	97 g	7,8
5	Carbopol 934 1 g Trietanolamina csp pH	97 g	4,1
6	Carboximetilcelulosa de Na (B)..... 2,5	97,5 g	7,4
(A) Carbopol 934 BF Goodrich Chemical Company (B) Dehydazol FS22 Dehydag			

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Coll-Colomer J., Cuartero F., Beaus R., y Vericat Cadesas F. Influencia de las variaciones en el excipiente sobre la liberación in vitro y la biodisponibilidad de un nuevo corticoesteroide formulado en gel tópico. Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinética Barcelona. Mayo de 1975.
2. Fernández M.J., Sánchez Morcillo J., y Selles E. Biodisponibilidad de corticoides fluorados en preparaciones semisólidas. Segundo Congreso Nacional de Biofarmacia y Farmacocinética. Madrid, mayo 1977.
3. Ritschel W. Deut Apoth. Ker, Ztg 108: 1029-1968.
4. Malkinson F.D. Permeability of Stratum Caornerim in the epidermis. Academic Press - London 1964.
5. Colman M.F., Bulsen B.J., and Higuchi T. Enhancement of the percutaneous absorption by the use of volatile systems as vehicles. P. Pharm. Sci. 1963-58 Lo 90-1102.
6. W.A. Ritschel. Kitzmiller and Serracino. Inclott. Rev. Can. Biol. Vol. 32, 1973.
7. Ponek M. Penetration of corticosteroid through the skin in relation to the vehicle. Dermatologics 1976, 152 suppl, 1-37-46.



“ENNOBLECE AL HOMBRE RECONOCER SUS ERORES”

**Lo envilece perseverar en ello.
Nos hemos habituado a la injusticia.
Nos hemos acostumbrado al desorden.**

**Y vuelto insensibles a la pena ajena, nos hemos hecho adictos a la violencia
Nos hemos conformado a que las cosas se hagan y no hacerlas.
Se han acomodado unos cuantos como verdugos.
Otros como pasivos espectadores y por lo mismo cómplices y los demás
como víctimas de los acontecimientos.**

**Nadie se propone la injusticia como fin, pero se da.
Porque no basta las intenciones aunque sean buenas.
De ellas se habla y se dice, está empedrado el infierno, ¡No!**

¡Basta Ya!

**Salgamos del círculo dantesco de atavismos y rencores, de egoísmos
venganzas.**

**Salgamos de todo este mundo efímero y material. Deja el salvajismo de la
violencia y , mira, mira a lo largo de tu camino cuanto y cuanto puedes
lograr con tan solo un objetivo, de vivir, de crecer, como un íntegro “Ser
Humano”, con todo tu “ser”, todo lo que a causa de ser , pudo y podrá vivir
en paz con el creador del universo, y consigo mismo.**

**Adiós, espero que aproveches cada instante del tiempo que tienes en tus
manos, desde este instante hasta que Dios lo disponga.**

**González M. G.
0804983
8:00PM**

Aviso de Propiedad Intelectual

Restricciones de uso y divulgación. Excepto con autorización expresa de la autora.