



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

***SONOFORESIS: UNA ALTERNATIVA MÁS
EN LA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS A
TRAVÉS DE LA PIEL
(REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA)***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

HERNÁNDEZ CRUZ IRAIS

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
 ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: TESIS

Sonoforesis: Una alternativa más en la administración de fármacos a través de la piel.
(Revisión bibliográfica)

Que presenta la pasante: Irais Hernández Cruz

Con número de cuenta: 30023420-6 para obtener el Título de: Química Farmacéutica Bióloga

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

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Octubre de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	QFB. Dalia Bonilla Martínez	
VOCAL	Dr. José Escobar Chávez	
SECRETARIO	M. en C. Miriam Aidé Castillo Rodríguez	
1er SUPLENTE	QFB. Adriana Gil García	
2do SUPLENTE	M. en C. Clara Luisa Domínguez Delgado	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
 HHA/pm

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis representa el termino de un ciclo importante en mi vida y me gustaría agradecer a todas aquellas personas que estuvieron presentes durante este periodo porque sin su valiosa aportación no hubiera sido posible la culminación de esta fase, así como también agradecer a todas aquellas personas que dejaron su huella en mi camino y que sin lugar a duda sé, que permanecerán conmigo siempre...

A Dios, por permitirme llegar a este punto de mi vida.

Muy especialmente:

A mi Mamá Cielo Cruz † y mi hermano Erwin Fernando †

Quiero darles las gracias por ser esos guerreros incansables, luchadores persistentes; por enseñarme a luchar y a dar una buena cara ante la adversidad, por enseñarme a ser perseverante, a seguir de pie...gracias por demostrarme que hay que aceptar las derrotas y seguir adelante con lo que nos ha tocado vivir. No habrá palabras en esta vida que expresen mis más profundos sentimientos hacia ustedes y sé muy bien que ya lo saben! Gracias por enseñarme a creer y sobre todo por enseñarme a tener fe y esperanza. Los amo profundamente y aguardaré tranquilamente hasta que llegue el día en que podamos estar juntos otra vez. *“Como hoja que vuela el viento por cada valle y cada rincón, así llevaré su recuerdo y enseñanzas en mi mente y mi corazón”*. Los amo.

A mi Papá Luis Hernández:

Viejito, muchas gracias por todo tu apoyo, no sabes lo mucho que te admiró y aprecio, te agradezco infinitamente tu comprensión y compañía, pero sobre todo que hayas creído y sigas creyendo en mí. Todo el entusiasmo y motivación que has proyectado a lo largo de mi vida, me han ayudado a ser la persona que hoy soy. Te amo papirru.

A mis hermanos Cielo y Luis:

Gracias por acompañarme en este capítulo de mi vida. Los quiero mucho.

Mimi, eres como una hermana más para mí, llegaste a nuestras vidas en el mejor momento y te agradezco el apoyo compartido y tu amistad. Te quiero mucho y estoy feliz de que estés con nosotros.

Tía Monica, muchas gracias por tu compañía y todo tu apoyo. Hemos pasado por momentos muy complicados, sin embargo siempre has estado ahí con las palabras exactas para poder seguir dando esos pasos hacia adelante. No tengo palabras para agradecerte todo lo que me has ayudado. Te admiro mucho por ser una buena madre, una excelente amiga. Te quiero mucho.

Marcos Ortiz, gracias por este tiempo compartido, en verdad aprecio muchísimo tu compañía en mi vida, eres muy especial para mí. Gracias por tu comprensión y apoyo y también por enseñarme lo positivo de esta vida, pero sobre todo gracias por tu amor. Para adelante siempre, el show debe continuar.

Dr. José Juan Escobar, por todo el apoyo brindado durante la realización de este proyecto y por su amistad.

Profesora Miriam; gracias por su amistad y porque sin usted no habría llegado al Dr. José, gracias por su apoyo.

A la generación QFB 30.

A mis amigos, especialmente a:

Emerson: Msaurio de mi corazón, muchas gracias por todo, eres un maravilloso ser humano y excelente Perfumista, muchas gracias por todos los momentos compartidos y por enseñarme que los sueños si se pueden hacer realidad. Eres un gran amigo, te quiero mucho.

Alma Delia: mujer hermosa, muchas gracias por todo tu apoyo, tu cariño, tus palabras y por infundir fuerza y motivación en mi persona, gracias por aceptarme como una hija más y estar conmigo en todo momento. Aprecio

mucho tu amistad y te admiró mucho por ser una gran mujer y excelente madre, te quiero mucho.

Martha Ugalde: PQ linda, ha sido todo un verdadero placer conocerte y fortuna compartir contigo momentos profesionales, he aprendido mucho de ti. Gracias por tu amistad única y verdadera, serás siempre mi hermanita mayor.

Nataly: Nat amiga ñoñita, muchas gracias por brindarme tu amistad y ser tan linda persona conmigo, eres la mejor amiga ñoñita!

A mis compañeros y amigos de la empresa Daiichi Sankyo México, S. A. de C. V., Michel, Mariana, Alberto, Dr. Martín, Citlaltzin, Armando, les agradezco su amistad y gratos momentos de diversión.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por brindarme la oportunidad de crecer y hacer de mi una profesionista de excelencia.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme la oportunidad de pertenecer a su legado y por hacer de mi a una persona preparada, que puede contribuir a la sociedad con profesionalismo y responsabilidad.

“Por mi raza hablará el espíritu”...

Se agradece al proyecto PAPIIT TA 200312: "Iontoforesis, microagujas, sonoforesis y promotores químicos para eficientar el paso de activos de interés terapéutico a través de la piel" y a la Cátedra de Investigación PACIVE NCONS-17: "Diseño, preparación y caracterización de sistemas nanoparticulados de sustancias de interés terapéutico y/o cosmecéutico administrados vía transdérmica utilizando iontoforesis y microagujas".

I. INDICE

1.	Introducción	1
2.	Objetivos	3
3.	La piel	4
3.1	Estructura	5
3.1.1	Epidermis	6
3.1.2	Dermis	10
3.1.3	Hipodermis	11
3.2	Funciones de la Piel	12
3.3	Inmunología	15
4.	Absorción Percutánea	17
4.1	Bases teóricas de la Absorción percutánea	18
4.2	Vías que sigue un fármaco para penetrar a través de la piel	19
4.2.1	Factores que influyen en la Absorción percutánea	20
4.3	Sistemas de transporte transdérmicos	24
5.	Sonoforesis (Ultrasonidos)	29
5.1	Generalidades	30
5.2	El Ultrasonido	31
5.3	Mecanismo de Acción	35
5.3.1	Efectos de Cavitación	36
5.3.2	Efectos Térmicos	38
5.3.3	Transporte convectivo	38
5.3.4	Los efectos mecánicos	38
5.4	Ventajas y desventajas de la sonoforesis	40
5.5	Usos y aplicaciones de los ultrasonidos	41
5.5.1	Anestésicos	52
5.5.2	Fármacos analgésicos y antiinflamatorios	54
5.5.3	Antibióticos	60
5.5.4	Fármacos inmunosupresores	60
5.5.5	Agentes contra el cáncer	62
5.5.6	Insulina	63
5.5.7	Corticosteroides	66
5.5.8	Cardiotónicos	70
5.5.9	Vasodilatadores	70
5.5.10	Hormonas	71
5.5.11	Cicatrizantes	72
5.5.12	Calceína	72
5.5.13	Oligonucleótidos	73
5.5.14	Estimulantes	74
5.5.15	Calcio	74
5.5.16	Panax notoginseng	75
5.5.17	Otros usos	75
5.5.17.1	Para estudiar los mecanismos de penetración debido a los ultrasonidos a través de la piel	75

5.5.17.2	Queloides	81
5.5.17.3	Tumores	81
5.5.17.4	Heridas supurativas	83
6.	Conclusiones y Comentarios finales	84
7.	Referencias	89

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Estructura de la piel donde se muestran las capas bien diferenciadas.	6
Figura 2	Representación esquemática de las capas de la epidermis.	9
Figura 3	Principales acciones relacionadas con la inmunidad cutánea.	16
Figura 4	Representación esquemática del modelo de ladrillos y cemento del EC.	19
Figura 5	Procesos de absorción percutánea y transdérmica.	20
Figura 6	Sistemas de transporte transdérmicos activos.	28
Figura 7	El uso de ULTS favorece la penetración del medicamento.	32
Figura 8	Imagen de cómo el ultrasonido rompe la capa córnea: permeabilidad de la barrera de la piel.	33
Figura 9	Efecto pizoeléctrico aplicando una fuerza.	34
Figura 10	Constitución de una unidad de ULTS.	35
Figura 11	El principio básico de la sonoforesis. Pulsos ultrasónicos pasan a través de la piel fluidizando la bicapa lipídica por la formación de burbujas causadas por cavitación.	36
Figura 12	Penetración de moléculas grandes mediante sonoforesis.	37
Figura 13	Ultrasonidos continuos y pulsátiles.	39

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Comparación de las diferentes células que componen a la epidermis.	7
Tabla 2	Comparación de los estratos epidérmicos.	10
Tabla 3	Funciones de la piel.	14
Tabla 4	Proporciones en que participan los distintos componentes de la piel en la difusión de los preparados farmacológicos.	23
Tabla 5	Resistencia a la penetración de los preparados tópicos en las distintas regiones anatómicas en orden creciente.	24
Tabla 6	Potenciadores de penetración química	25
Tabla 7	Sistemas activos de transporte transdérmico	26
Tabla 8	Sistemas de liberación transdérmicos disponibles en el mercado farmacéutico.	27
Tabla 9	Clasificación de ULTS como una función de la frecuencia utilizada.	30
Tabla 10	Aplicaciones médicas de ULTS.	31
Tabla 11	Ventajas y desventajas del uso de sonoforesis como un potenciador de penetración física.	40
Tabla 12	Investigación sobre los usos de sonoforesis para administrar distintos fármacos a través de la piel.	41
Tabla 13	Las condiciones experimentales para el estudio del paso de fármacos a través de la piel por sonoforesis.	50
Tabla 14	Dispositivos sonoforéticos	85

IV. TABLA DE ABREVIATURAS

EC	Estrato córneo
UV	Ultra violeta
ULTS	Ultrasonidos
TL	Tiempo límite
MDCK	Madin Darby Canine Kidney
AINE	Fármacos antiinflamatorios no esteroideos
KT	Ketorolaco trometamina
SBF	Sonoforesis de baja frecuencia
SON	Sonoforesis
F-DEX	Fosfato de dexametasona
WOMAC	Western Ontario y la Universidad de McMaster
AT	Acetónido de triamcinolona
UBF	Ultrasonido de baja frecuencia
UAF	Ultrasonido de alta frecuencia
PT	Penetración transdérmica
MSL	Micropartículas sólidas lipídicas
DA	Dodecilamina
HA	Hialuronato de alto peso molecular
OA	Osteoartritis
RLT	Regiones localizadas de transporte

LSS	Lauril sulfato de sodio
MET	Microscopía electrónica de transmisión
AIU	Alta intensidad ultrasónica
RFN	Reflejo flexor nociceptivo
EAV	Escala analógica visual
NBs	Nano/microburbujas
HSVtk	Herpes simple timidina kinasa
GCV	Ganciclovir
PTFEe	Politetrafluoroetileno
HC	Hidrocortisona
DX	Dexametasona
ION	Iontoforesis
RMR	Rango de movimiento de la rodilla
SAF	Sonoforesis de alta frecuencia
OGN	Oligonucleótido
VTL	Vías de transporte localizadas
PN	Panax notoginseng
LCM	Ligamento colateral medial
PNULTS	ULTS con acoplamiento de PN gel

V. RESUMEN

La piel es el órgano más grande de nuestro organismo; es el órgano de la sensibilidad, a través de ella percibimos los diferentes grados de temperatura manteniendo la temperatura constante de nuestro organismo, lo que constituye un aviso que permite proteger a nuestro cuerpo del calor o el frío que pudiera dañarlo, además, interviene en importantes funciones metabólicas. La piel es uno de los cinco órganos de los sentidos, el tacto. El tacto permite percibir, no solamente el calor o el frío, sino también la presión que los objetos ejercen sobre el organismo y multitud de sensaciones más, tanto placenteras como dolorosas, esta información añade una ayuda indirecta a la defensa del organismo, sin la piel nuestro organismo se encontraría desprotegido. [1]

La piel es ante todo la primera línea de defensa contra las agresiones medioambientales. Sin embargo, no representa una barrera infranqueable. La piel impide la entrada de microorganismos, evita el contacto directo de los objetos con otros tejidos u órganos internos y previene que los productos químicos accedan a los mismos, aunque no todos los productos químicos tienen la misma capacidad para atravesarla se han realizado estudios para comprender y pronosticar la penetración de esos materiales al interior de la piel que logran alcanzar la circulación general [2].

El descubrimiento de nuevos fármacos y su desarrollo en productos comerciales ocupa un lugar muy importante en el amplio campo de la industria farmacéutica. Este esfuerzo es la acumulación de la información científica y biomédica derivada de las aportaciones de químicos, biólogos, farmacólogos, toxicólogos, ingenieros y otros, basándose en los fundamentos de las ciencias físicas que permitan la penetración de estos fármacos a través de la piel. [1]

El propósito de esta investigación bibliográfica es dar una visión general y actual sobre el mecanismo físico denominado sonoforesis empleado como una herramienta más para la administración de diversos medicamentos a través de la piel, dando un panorama general sobre la importancia de su uso, ventajas y desventajas e información de las aplicaciones realizadas hasta el momento en

el área farmacéutica, más específicamente en la administración tópica/transdérmica de fármacos.

1. INTRODUCCIÓN

La piel es la envoltura del organismo y cumple dos misiones fundamentales, en principio contradictorias, pero realmente complementarias, por un lado la de protegernos del exterior, ya que es capaz de seleccionar lo que es beneficioso y rechazar lo que resulta dañino, impidiendo la entrada de sustancias nocivas, bacterias, cuerpos extraños y, en parte, radiaciones solares perjudiciales, y por otro la de relacionarnos con el exterior, ya que en ella se encuentra uno de los sentidos que tenemos más desarrollados, el tacto. [3]

Además de la función de protegernos y relacionarnos, la piel actúa como reguladora del metabolismo impidiendo la salida de sustancias imprescindibles para nuestro organismo, así como reguladora de la temperatura corporal protegiéndonos de los cambios de temperatura ambiental (tanto del frío como del calor), y transformando los rayos del sol en vitamina D (vitamina necesaria para el buen estado de nuestros huesos).

La piel es el mayor órgano del cuerpo humano, o animal. Ocupa aproximadamente dos metros cuadrados, y su espesor varía según las distintas partes del cuerpo entre los 0,5 mm (en los párpados) a los 4 mm (en el talón). Su peso aproximado es de 5 kg.

Anatómicamente, la piel humana puede ser descrita como un órgano estratificado con tres capas de tejido diferentes: la epidermis, la dermis y la hipodermis ó capa de grasa subcutánea, cada una de las capas tienen funciones y componentes diferentes que se interrelacionan [4, 5].

Está constituida por dos millones de células que se renuevan de forma continua. La piel es el órgano más accesible del cuerpo humano y recibe cerca de un tercio de la circulación sanguínea del cuerpo [6], por esto también se hace necesario conocer los mecanismos de absorción percutánea y aquellos métodos que se pueden utilizar para cuantificar esos fármacos que penetran.

La sonoforesis es un mecanismo físico de transporte transdérmico que utiliza el uso de ultrasonido para facilitar la penetración de los medicamentos aplicados

tópicamente [7]. Se trata de un procedimiento por el cual se introducen en el organismo moléculas completas, estas moléculas se desdoblán en el interior de los tejidos en elementos y radicales mediante procedimientos químicos naturales y deben recombinarse con los radicales existentes en el organismo.

Los autores sugieren que las ondas ultrasónicas empleadas, causan cambios estructurales en el Estrato Córneo (EC) induciendo el transporte convectivo a través de los folículos pilosos y los conductos sudoríparos de la piel aumentando la difusión de los medicamentos aplicados tópicamente permitiendo su paso a través de la piel [8].

Este trabajo de investigación bibliográfica tiene la finalidad de describir el mecanismo de acción de la sonoforesis como método físico empleado como herramienta para la administración de diversos medicamentos a través de la piel [9, 10], la importancia del uso del ultrasonido; así como mencionar las ventajas y las desventajas de este mecanismo físico y las recomendaciones y precauciones necesarias que se deben tener para su uso, además esta tesis tiene el propósito de familiarizarnos con un tema que ha ido tomando relevancia dentro del ramo farmacéutico y que seguirá teniendo gran auge en el medio científico como se comprueba en la literatura por el creciente número de artículos publicados al respecto.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL: Realizar la investigación bibliográfica correspondiente al mecanismo físico llamado sonoforesis, para conocer e informar sobre una alternativa más en la administración de fármacos a través de la piel.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Describir las características de la piel humana así como los mecanismos mediante los cuales los fármacos son absorbidos a través de ella.
- Realizar una descripción detallada del método de sonoforesis utilizado para facilitar el paso de fármacos y otras sustancias a través de la piel, incluyendo las ventajas y limitaciones del mismo, enfatizando su aplicación en la administración de fármacos por vía tópica y transdérmica.

LA PIEL

3. LA PIEL

La piel se forma en los primeros estadios de la vida del feto. Se origina a partir del ectodermo, una de las tres hojas embrionarias (endodermo y mesodermo son las otras dos), a partir de la cual también se forma el sistema nervioso.

Aunque los inicios de su formación son muy tempranos, la madurez de este órgano no se alcanza hasta el nacimiento, aunque se sigue perfeccionando después, pues una de las características más espectaculares de la misma es que tiene un alto poder de regeneración [11].

La piel no es una simple envoltura protectora del cuerpo, es la encargada de recibir los estímulos del exterior a través de las terminaciones nerviosas que se sitúan en ella, por eso es la primera responsable de que sintamos una caricia o de que notemos el calor producido por el fuego o el frío de la nieve, resultando en muchos casos el espejo de los sentimientos y emociones interiores. Ponernos rojos porque algo nos da vergüenza, “tener la piel de gallina” o sudar por algo que nos produce miedo, son algunas de las muchas respuestas emocionales que se ponen de manifiesto a través de la piel. Por ese motivo, no es de extrañar que este órgano constituya una pieza clave en la imagen exterior de una persona [3].

3.1 Estructura

La piel es una frontera activa que se interpone entre el organismo y el ambiente, no sólo controla la pérdida de fluidos valiosos, evita la penetración de sustancias extrañas, nocivas, radiaciones y actúa como cojín frente a golpes mecánicos, sino que también regula la pérdida de calor y transmite los estímulos que le llegan [6, 12].

La superficie total de la piel oscila entre los 2500 cm² en el recién nacido hasta los 18 000 cm² en el adulto, en tanto que pesa aproximadamente 4,8 kg en el hombre y 3,2 kg en la mujer [13].

La piel posee una arquitectura compleja, siendo un auténtico órgano, como el hígado o el corazón, con múltiples y muy precisas funciones.

La piel se estructura en tres capas, tal y como se muestra en la Fig. 1:

1. La capa más superficial es la **epidermis**.
2. La capa intermedia, la **dermis**, es un tejido de sostén, atravesado por numerosos vasos y nervios. En la dermis se implantan los anejos cutáneos: glándulas sudoríparas ecrinas y apocrinas, pelos, glándulas sebáceas y uñas.
3. La capa más profunda, la **hipodermis**, constituyen un “cojín” graso que se adapta sobre los músculos subyacentes.

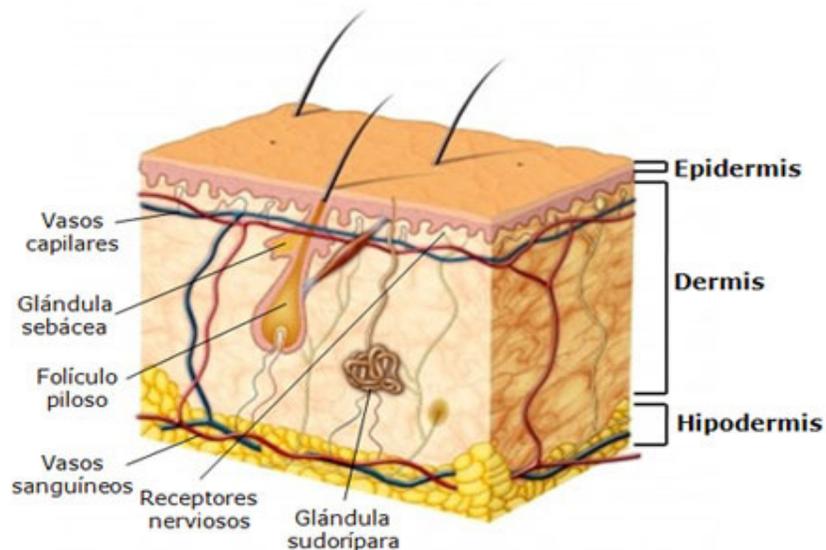


Figura 1. Estructura de la piel donde se muestran las capas bien diferenciadas. [14]

3.1.1 Epidermis

La epidermis es muy delgada, tiene un espesor de una hoja de papel. Su espesor varía en función de la localización; la capa cornea determina las variaciones de espesor. Su espesor mínimo va de 0.04 mm en los párpados,

pasando por su espesor medio de 0.06 mm a 1.0 mm y su espesor máximo de 1 a 1.5 mm en las palmas de las manos y las plantas de los pies. [15]

La epidermis es un epitelio de revestimiento estratificado. Existen en la epidermis muchos tipos de células que viven en simbiosis y que son enunciadas a continuación y de manera resumida se muestran en la Tabla 1:

- *Queratinocitos*; son las células que constituyen el epitelio estratificado pavimentoso tal como ha sido definido. Son los elementos celulares que predominan en la epidermis, representando el 80% del total de las células epidérmicas. Se denominan queratinocitos ya que fabrican queratina que llena las células más superficiales de la epidermis para formar la capa córnea.
- *Melanocitos*; constituyen el 13% de la población celular total de la epidermis. Producen unos pigmentos, las melaninas, que dan color a la piel.
- *Células de Langerhans*; representan alrededor del 4% de las células epidérmicas. Desempeñan un papel determinante en la inmunidad y se describen como los “centinelas periféricos” del sistema inmunitario al detectar los antígenos.
- *Células de Merkel*; en la epidermis se localizan estas células que son los receptores del sentido del tacto.

Tabla 1. Comparación de las diferentes células que componen a la epidermis.

CÉLULA	DESCRIPCIÓN
Queratinocitos	Son los responsables de la fabricación de queratina, que confiere resistencia a las distintas agresiones recibidas por el medio.
Melanocitos	Son los responsables de la pigmentación de la piel. Los melanocitos extienden sus dendritas entre los queratinosomas y les transmiten unos orgánulos específicos (melanosomas), donde se efectúa la síntesis de melanina.

	Generalmente hay 1 melanocito por cada 36 queratinocitos.
Células de Langerhans	Son las encargadas de captar los alérgenos para presentarlos a los linfocitos T, asegurando la defensa inmunológica de la piel, desencadenando una respuesta inmunitaria de tipo celular. Representan entre el 2 y el 4% de la población celular total.
Células de Merkel	Sólo representan el 1% de las células epidérmicas. Son los receptores sensitivos. Son más numerosas en los labios, las palmas y las extremidades de los dedos. Captan los estímulos vibratorios que transmiten a la terminación nerviosa con las que están relacionadas.

Así, del exterior al interior la epidermis se compone de 4 ó 5 capas (Fig. 2), dependiendo de la región de la piel. En orden, se denominan: capa córnea (*stratum corneum*), capa translúcida (*stratum lucidum*), capa granular (*stratum granulosum*), capa espinosa (*stratum spinosum*) y capa basal o germinal (*stratum basale/germinativum*) (Tabla 2). [5]

1. Capa córnea o *stratum corneum*: es la capa más superficial de la epidermis. Formada por células muy aplanadas, auténticas escamas microscópicas. Las células no tienen núcleo (anucleadas), se organizan en varias capas según la región anatómica. Está formado por tres capas:

- *stratum lucidum* (presente solamente en la palma de las manos y en las plantas de los pies);
- *stratum compactum*, que constituye la capa córnea propiamente dicha;
- *stratum disjonctum* (capa más externa, descamante).

El conjunto de estas tres capas tiene un espesor de 10 µm.

2. Capa granular o *stratum granulosum*: en este nivel se produce la elaboración de moléculas fundamentales responsables de las características fisicoquímicas de las capas superiores, con la formación de los gránulos de queratohialina y la aparición de los cuerpos de Odland. En la capa granular se encontrarán células vivas con núcleo, que en el

transcurso de la queratinización se aplanarán y perderán su núcleo para transformarse en corneocitos, que forman el *stratum corneum*.

- 3. Capa espinosa o *stratum spinosum*:** también conocido como “cuerpo mucoso de Malpighi” está compuesto por 5 o 6 capas de células que se van aplanando a medida que ascienden a capas superficiales. En la periferia de las células existen prolongaciones citoplasmáticas por lo que reciben el nombre de células espinosas, su citoplasma contiene tonofilamentos, también de naturaleza proteica, que se agrupan en paquetes “las tonofibrillas”.
- 4. Capa basal/germinal o *stratum basale/germinativum*:** es la capa más profunda constituida por una fila única de las células cúbicas o cilíndricas de las cuales cerca del 50% se encuentran en mitosis y producen las células de la capa inmediatamente superior, el *stratum spinosum*.

Se encuentra implantada sobre la membrana basal, capa extracelular muy delgada que se adhiere a las papilas dérmicas.

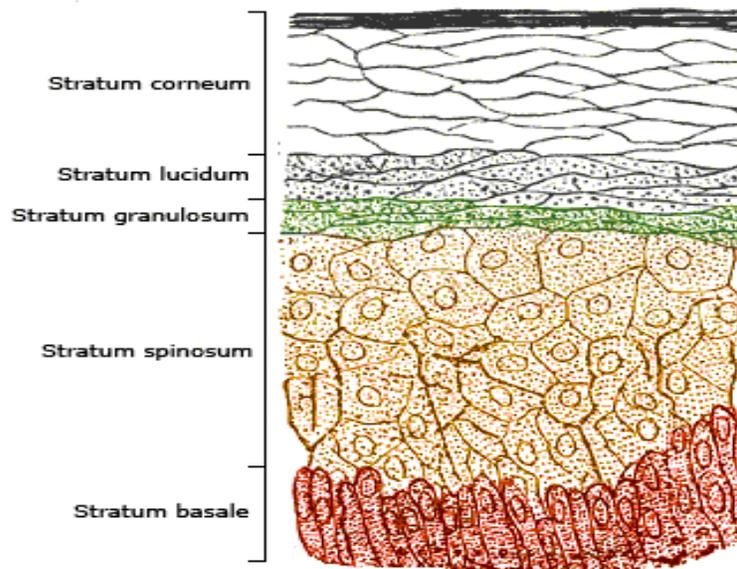


Figura 2. Representación esquemática de las capas de la epidermis [5].

Tabla 2. Comparación de los estratos epidérmicos.

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

3.1.2 Dermis

La dermis, es un tejido resistente y elástico que actúa de almohadilla del cuerpo frente a lesiones mecánicas, y proporciona nutrientes a la epidermis y apéndices cutáneos. [13]. Tiene un espesor variable de 500 µm a 1 mm [15].

En la dermis, circulan los vasos sanguíneos y linfáticos. La dermis es un tejido nutritivo para la epidermis, no irrigada, pero cuyos elementos nutritivos le llegan por trasudación de los capilares de la dermis; la dermis se encuentra asimismo atravesada por numerosos nervios de la vía vegetativa y de la vía de relación.

Las propiedades de la dermis hacen de ella un auténtico tejido de sostén de la epidermis. Asimismo, la dermis es responsable de la consistencia y del tono de la piel. Arrugas, estrías, elastosis, etc., son alteraciones que ponen en manifiesto defectos en su estructura. [3]

Se distingue la dermis papilar, la más próxima a la unión dermoepidérmica, y la dermis reticular, más profunda, que representa cerca del 80% del espesor total de la dermis. Están formados por proteínas sintetizadas por los fibroblastos o fibrocitos. En particular el colágeno que confiere a la piel su resistencia, y la elastina, localizada principalmente en las capas superficiales de la dermis (capa papilar), la elastina es la responsable de la elasticidad de la piel. [5]

La dermis reticular contiene principalmente las fibras de colágeno y proteoglicanos. Los proteoglicanos captan las moléculas de agua y constituyen un gel, reserva de agua para la piel.

Las funciones de la dermis son: asegurar el mantenimiento de las propiedades mecánicas de la piel y servir de reservorio de agua gracias al gel de proteoglicanos.

3.1.3 Hipodermis

La hipodermis está constituida por tejido adiposo. El tejido adiposo se distribuye envolviendo todos los órganos, pero se acumula especialmente en la hipodermis, en la que forma el panículo adiposo, material graso de espesor variable según la localización, que se acopla sobre los músculos y huesos subyacentes.

El panículo adiposo se distribuye de modo distinto en el hombre (predominante en las partes altas del cuerpo, en el abdomen) denominada distribución androide y en la mujer (predominante en la región inferior, nalgas, muslos y región pelviana) se denomina distribución ginecoide.

La hipodermis está constituida por lóbulos grasos limitados por un entramado de fibras colágenas procedentes de la dermis y que van a fijarse en las aponeurosis de los músculos o en el periostio de los huesos, limitando de este modo la movilidad de la piel. Estas separaciones sirven de paso a los vasos y a los nervios que se dirigen a la dermis. Los lóbulos grasos se dividen a su vez en pequeños lobulillos adiposos, espacios limitados por tramas de tejido conjuntivo llenas de células grasas, los adipocitos.

Los adipocitos son células redondeadas que tienen un diámetro variable, comprendido entre 50 y 150 μ . Pueden cambiar de forma por presión de las células colaterales, contienen una vacuola lipídica única que no deja espacio más que para un mínimo anillo citoplasmático periférico, en el cual se encuentran el núcleo y los orgánulos citoplasmáticos.

3.2 Funciones de la Piel

Se le atribuyen cinco grandes funciones:

1. Función Protectora

Una función protectora del medio interno frente a las agresiones externas.

La función esencial de la piel es la protección del organismo contra las agresiones externas. La piel es una barrera física, bioquímica e inmunológica que se opone a las agresiones mecánicas, a las diversas poluciones, a los rayos solares, a la penetración de sustancias extrañas, de microorganismos y de otros antígenos al organismo. En la Tabla 3, se detallan las diversas funciones que desempeña la piel.

2. Función de Intercambio

Una función de intercambio con el medio externo, ya que revestimiento cutáneo no es una barrera totalmente impermeable.

La piel y el extracto córneo no se consideran como un límite infranqueable, sino que representa una zona de intercambio que se comporta como un filtro. La piel se opone a la pérdida de agua hacia la atmósfera. La piel es impermeable a las proteínas y se opone a la pérdida de electrolitos. La piel guarda un intercambio gaseoso, sin embargo, parte de los intercambios respiratorios de las células epidérmicas se efectúa directamente a través de la capa cornea: El CO₂ procedente del metabolismo celular se elimina a través de la capa cornea.

La absorción de una sustancia aplicada sobre la piel es el proceso de difusión de esta sustancia a través de la epidermis hasta los vasos dérmicos.

3. Función Termorreguladora

Una función termorreguladora, la piel es la placa decisiva del mecanismo que mantiene constante la temperatura corporal.

Esta función asegura la lucha contra el calor y el frío. Se denomina dermorregulación el conjunto de mecanismos que permite mantener constante la temperatura corporal (Homeotermia).

La agresión calórica se compensa con la sudoración único medio del que disponemos para eliminar el calor. Éste es responsable de la vasodilatación de los vasos dérmicos. Esta vasodilatación provoca una elevación de la temperatura cutánea que pone en marcha el mecanismo reflejo de la termorregulación. Nuestro organismo lucha contra el frío produciendo calor y aislándose. Se obtiene voluntariamente o no, por la contracción de los músculos. [16]

4. Función Sensorial

Una función sensorial, la piel, órgano táctil, capta todo tipo de datos sobre nuestro entorno, la presión, el frío, el calor, el dolor, etc.

El organismo dispone de “antenas” que nos permiten estar informados de las variaciones de nuestro entorno a través del tacto. Todo esto se realiza a través de estímulos mecánicos, estímulos térmicos y estímulos dolorosos. [13]

5. Funciones Metabólicas

Siendo la más importante la síntesis de la vitamina D.

La piel desempeña dos grandes funciones metabólicas:

1. La síntesis de la vitamina D: la cual se realiza en epidermis en lo que corresponde a la capa granulosa (corpúsculos de Odland) a partir de un precursor de origen alimentario, transportado por vía sanguínea hasta la piel, el 7-dehidrocolesterol. La radiación UVB es necesaria para esta transformación.
2. La hipodermis en el metabolismo lipídico desempeña un papel esencial. Constituye una reserva de nutrientes y energía, dado que el 85% de las necesidades energéticas del organismo son cubiertas por la utilización continua de nuestras reservas lipídicas. [16]

Tabla 3. Funciones de la Piel.

Función	Actividad o medio involucrado en la función:
Protección contra	
Agentes mecánicos	Elasticidad, tejido adiposo, callosidades
Agentes químicos	
Agentes físicos	Capacidad de neutralización, pH, barrera
Microorganismos	
Desecación	Callosidades actínicas, pigmentación Flora cutánea, pH, manto hidrolipídico Manto hidrolipídico, barrera
Órgano sensorial	Corpúsculos sensoriales
Calor	Irrigación sanguínea, glándulas sudoríparas
Respiración	
Absorción	Barrera de permeabilidad (EC)
Inmunológica	Linfocitos T
Olor corporal	(Individual)

3.3 Inmunología

La piel cumple una función de defensa compleja que puede ser descrito como "inmunológica".

Hay una serie de evidencias que respaldan la función inmunológica de la piel, como el hecho de que el brazo efector de la respuesta inmunitaria ocurre en los órganos linfoides secundarios y no en la sangre, además de que el sistema inmunitario periférico o difuso se distingue por una dinámica comunicación entre los epitelios y los órganos linfoides secundarios.

La inducción de la respuesta inmunitaria adaptativa se realiza por las células dendríticas (Langerhans) ubicadas en la epidermis y encargadas de la captación, el procesamiento y la presentación de los antígenos a los linfocitos en los ganglios linfáticos locales. Como resultado de este proceso, se sensibilizan los linfocitos T, los cuales expresan la molécula CLA (antígeno), que les permite unirse a la selectina E de los endotelios, penetrar hasta la epidermis y residir como linfocito T de memoria para desencadenar respuestas inflamatorias, una vez que son activados por las células presentadoras de antígeno. La inadecuada regulación de estos mecanismos se asocia con enfermedades inflamatorias de la piel como alergias, infecciones u otros padecimientos. [17]

La piel es un órgano dinámico formado por diferentes tipos celulares que desempeñan diversos procesos biosintéticos e inmunológicos, entre estos últimos se encuentran los mecanismos de resistencia innata y adaptativa, que se activan cuando existen agresiones al tejido.

El mecanismo de resistencia a infecciones puede dividirse en respuesta inmunitaria innata y adaptativa.

La inmunidad innata, también conocida como natural, es la protección con la que nacemos, se considera la primera línea de defensa y está compuesta por

células que reaccionan inespecíficamente contra ciertos agresores, e incluye barreras naturales como la piel y las mucosas.

Los componentes de la inmunidad adaptativa de la piel son una serie de mecanismos antígeno-específicos realizados por varios componentes celulares de la epidermis y la dermis, también utilizados por el sistema inmunitario en otros órganos y sistemas, y cuyas características clave son la especificidad y la memoria. Las principales funciones inmunitarias de la piel se presentan en la figura 3. [18]

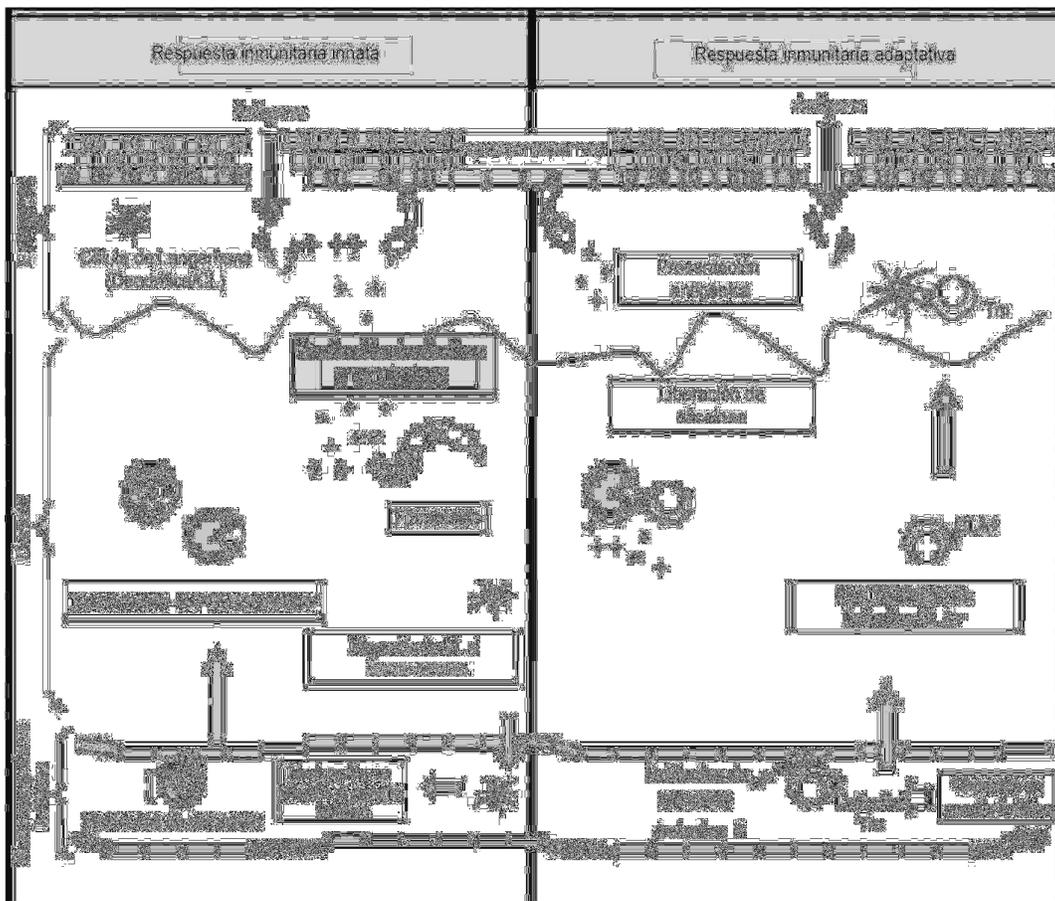


Figura 3. Principales acciones relacionadas con la inmunidad cutánea. [18]

ABSORCIÓN PERCUTANEA

4. ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

4.1 Bases teóricas de la Absorción percutánea

El término penetración cutánea o “penetración” describe el paso de una molécula a través de las diferentes capas de la piel, desde su fijación en las primeras capas de células del EC hasta su absorción transcutánea. Sin embargo, algunas moléculas activas utilizadas pueden sobrepasar este límite y aparecer en la circulación general, lo que explica la importancia de conocer la realidad y las proporciones de paso.

El EC es una barrera predominantemente lipofílica que minimiza la pérdida de agua trans-epidérmica. También es la barrera principal a la penetración de absorción percutánea. La administración transdérmica de moléculas pequeñas ha sido considerada como un proceso de partición de la interfase y la difusión molecular a través de esta barrera.

Un modelo típico trata el EC como una membrana de dos fases: proteína-lípidos esta membrana es heterogénea siendo la matriz de lípidos la fase continua. Varios investigadores involucrados en estudios de penetración de la piel han propuesto modelos que predicen el flujo transdérmico de un fármaco basado en una serie de propiedades físico-químicas del fármaco. [16]

Estos modelos suelen hacer algunas suposiciones sobre las propiedades de barrera de la piel y predicen el flujo transdérmico de un fármaco con soluciones acuosas saturadas, proporcionando información sobre su solubilidad en agua, peso molecular del fármaco y su coeficiente de partición lípido-proteínas. La mayoría de estos modelos teóricos asumen que el EC se comporta como un modelo de dos compartimentos, basado en un sistema de dos compartimentos heterogéneos de células ricas en proteínas embebidas en los lípidos intercelulares. Una analogía con ladrillos y cemento es una representación frecuentemente dada para este modelo (Figura 4).

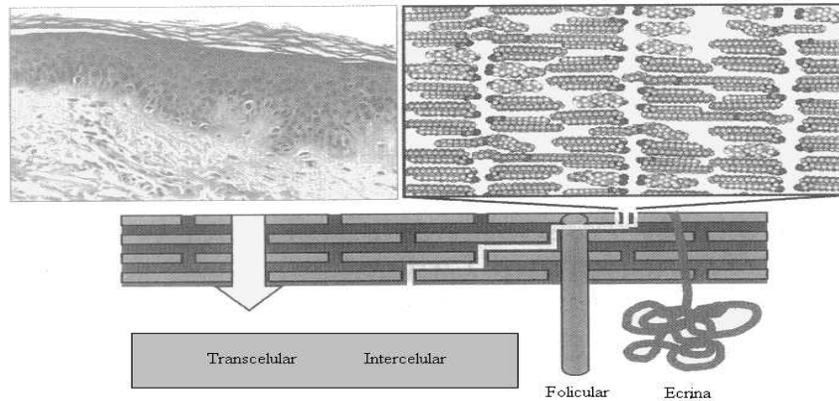


Figura 4. Representación esquemática del modelo de ladrillos y cemento del EC. [16]

4.2 Vías que sigue un fármaco para penetrar a través de la piel

Basado en este modelo, los fármacos pueden difundir a través del EC vía transepidermal o a través de los apéndices presentes en la piel (folículos pilosos y glándulas sudoríparas). La penetración transepidermal de fármacos a través del EC puede tener lugar por la matriz lipídica en la cual se encuentran embebidos los corneocitos (vía intercelular) o a través de los corneocitos (vía transcelular) (Figura 5). La contribución relativa de estas vías depende de la solubilidad, el coeficiente de partición y la difusividad del fármaco entre las proteínas y las fases lipídicas. La vía a través de los apéndices normalmente contribuye solamente con un porcentaje limitado del perfil cinético de liberación transdérmico de un fármaco. Recientemente, se mostró que la penetración de ácido retinóico fue más elevada a través de piel de cobayos rasurada, demostrando que la estructura y composición del EC es más importante que la densidad folicular para la difusión pasiva. Sin embargo, los folículos pilosos y los ductos sudoríparas pueden actuar como caminos para moléculas iónicas mediante un transporte iontoforético [19].

Teóricamente pueden considerarse dos vías fundamentales para explicar el paso de sustancias a través de la piel [9, 20, 21]:

- a) Transepidermica, es decir a través del EC, con sus dos vertientes: Intercelular e intracelular.
- b) Transpendicular, que a su vez puede desglosarse en:
 - Transfolicular, a través de los folículos pilosos y las glándulas sebáceas [22]
 - Transudorípara, a través de los conductos y glándulas sudoríparas.

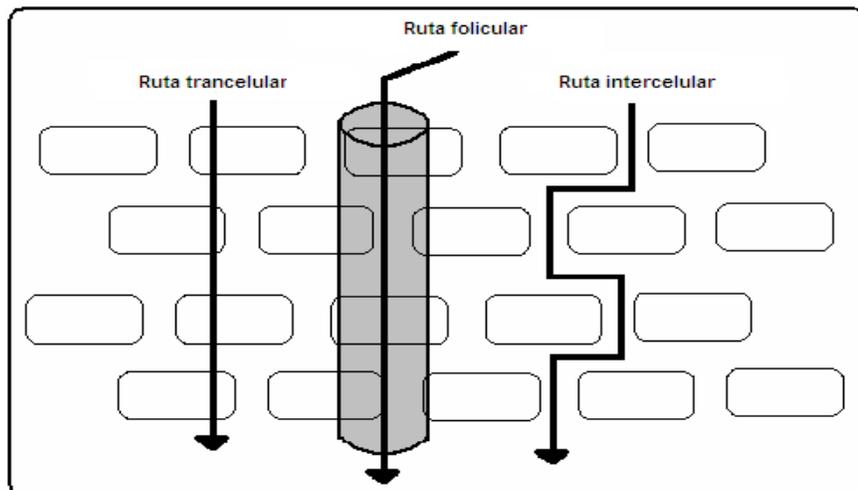


Figura 5. Procesos de absorción percutánea y transdérmica [2].

4.2.1 Factores que influyen en la absorción percutánea

Es necesario saber que la absorción percutánea está condicionada por:

- El estado de la piel;
- La naturaleza fisicoquímica de la molécula aplicada;
- El vehículo.

➤ **Estado de la piel**

Para facilitar la penetración hay que disminuir o anular la eficacia de la barrera cutánea:

- Eliminando la capa hidrolipídica por decapaje con ayuda de detergentes o disolventes.
- Hidratando la piel.
- Empleando promotores de la absorción, en particular los alcoholes o los glicerolos que aseguran una disociación de las células córneas y una cierta disolución del cemento lipídico intercelular. [15]
- Aumentando la circulación cutánea mediante el empleo de vasodilatadores (nicotinato de metilo, mentol, minoxidil, por ejemplo) [23]. Esta práctica tiende a aumentar la resorción por el sistema capilar de la dermis y, en consecuencia, tiene el riesgo de provocar más fácilmente una acción sistémica.

Además, la penetración cutánea puede estar involuntariamente aumentada en el caso de estados patológicos que incrementan la permeabilidad cutánea. En particular:

- Los fenómenos inflamatorios;
- La psoriasis;
- Las lesiones por raspaduras;
- La dermatosis en general.

➤ **Naturaleza fisicoquímica del principio activo**

El tamaño de la molécula es uno de los principales factores que influyen en la penetración percutánea, la penetración es tanto más complicada cuanto más elevado sea el peso molecular.

La forma de la molécula también influye. Las moléculas largas lineales ramificadas de mayor medida tienen menos facilidad para introducirse entre las células córneas que las moléculas de forma redondeada.

La naturaleza química de la molécula es muy importante, las sustancias lipofílicas se acumulan en el cemento intercelular y se separan con dificultad de un vehículo lipídico. Las sustancias hidrófilas tienen la tendencia a permanecer en los vehículos acuosos, de manera que las moléculas más aptas para penetrar son, las anfifílicas [15].

➤ Vehículo

Los vehículos por si mismos tienen pocas posibilidades de penetración, pero pueden facilitar o no la penetración de las sustancias activas. Por ello es difícil cuantificar de forma absoluta el porcentaje de absorción de una molécula, ya que dependerá inevitablemente de la naturaleza y de la forma del vehículo en el que está incluida.

La velocidad de absorción percutánea se relaciona con varios procesos que pueden ocurrir simultáneamente.

Tres variables principales explican la velocidad de absorción en los medicamentos por vía tópica o del mismo fármaco en diferentes vehículos: a) la concentración del principio activo en el vehículo; b) el coeficiente de partición entre el vehículo y el EC; y c) el coeficiente de difusión del medicamento y el EC [24].

- a) Concentración del fármaco en el vehículo: La velocidad de difusión es proporcional a dicha concentración. La relación es lineal a concentraciones bajas del fármaco y sólo cuando este es soluble en el vehículo. La curva de concentración respuesta a diferentes corticoides tópicos presenta una pendiente pronunciada hasta llegar a una meseta en que los aumentos de concentración no generan un incremento en la

respuesta. Este factor explica los efectos terapéuticos variables de diferentes formulaciones de un mismo compuesto [25].

- b) Coeficiente de partición del fármaco entre el EC y el vehículo: es una medida de la capacidad del fármaco para escapar del vehículo y se define como la relación entre la solubilidad del medicamento en el EC y en el vehículo. Teniendo presente que el EC es lipófilo, los fármacos liposolubles tendrán facilidad para atravesarlo [26]. En consecuencia, la penetración de los principios activos a través de la piel será óptima cuando se mantengan en solución dentro del vehículo, pero, además, tengan un coeficiente de partición favorable, es decir, que el principio activo sea más soluble en el EC que en el propio excipiente [27].
- c) Coeficiente de difusión del fármaco en el EC es la magnitud con que la piel se opone al paso del fármaco. Depende de dos factores:
- Tamaño molecular: las moléculas de tamaño grande tienen coeficiente de difusión pequeño [26, 28].
 - Capacidad de difusión de la capa de la piel: Como puede observarse en la Tabla 4, el menor coeficiente de difusión corresponde al EC, que como ya se ha comentado es el que se opone con mayor intensidad al paso de los fármacos, y, sin embargo, casi la totalidad del fármaco que atraviesa la piel lo hace a través del EC (99% del volumen de difusión total).

Tabla 4. Muestran la proporción en que participan los distintos componentes de la piel en la difusión de los preparados farmacológicos [2].

Vías de	Porcentaje del volumen de	Coeficiente de
Glándulas	0.04 – 0.1	8×10^{-6}
Folículos	0.15 – 1.2	4×10^{-7}
Estrato córneo	99 – 99.9	5×10^{-11}

Otro factor que interviene en el paso del fármaco a través de la piel es la región anatómica que sea tratada ya que el grosor de EC es variable en función de la

región anatómica; estos factores explican las diferencias regionales en cuanto a la absorción de los fármacos [3].

La absorción varía según la zona de aplicación (1% en el antebrazo, 7% en la frente, 37% en el escroto, etc.) zonas de alta absorción son las ingles, axilas, y cara; zonas de baja absorción son los codos, rodillas, palmas de las manos y plantas de pies [1]. En la Tabla 5 se presenta el orden de resistencia a la penetración de los preparados farmacológicos en función de la región anatómica [26].

Tabla 5. Resistencia a la penetración de los preparados tópicos en las distintas regiones anatómicas en orden creciente [26].

1	Mucosas
2	Escroto
3	Párpados
4	Cara
5	Pecho y espalda
6	Brazos y muslos
7	Antebrazos y piernas
8	Dorso de las manos y pies
9	Palmas de las manos y plantas de los pies
10	Uñas

4.3 Sistemas de transporte transdérmicos

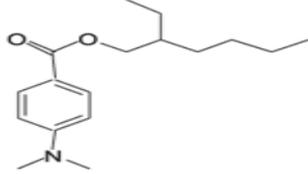
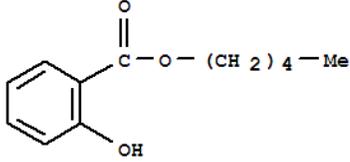
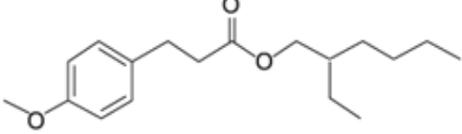
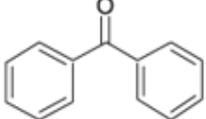
Los sistemas de transporte transdérmicos se diseñan para permitir el paso de las moléculas farmacológicas a través de la piel intacta de forma controlada.

Las ventajas del transporte de fármacos a través de la piel y el uso de sistemas de transporte transdérmicos son: i) es más eficaz, con menor riesgo de efectos secundarios debido al transporte del activo de forma más constante, ii) evita tener que ser metabolizado en primer lugar por el hígado; iii) es fácil de usar; iv) puede actuar sobre un área objetivo; v) potencia el cumplimiento. Las desventajas del transporte de fármacos a través de la piel y el uso de sistemas de transporte transdérmicos son: i) irritación localizada; ii) limitación al uso de moléculas lo suficientemente pequeñas como para atravesar la piel, y iii) proceso de producción complejo, ineficiente y costoso [29].

Los sistemas de transporte transdérmicos se dividen en dos categorías: sistemas de transporte pasivos y activos.

Los sistemas de transporte pasivo transdérmicos utilizados en el campo farmacéutico dependen de que el medicamento difunda a través de la piel basándose en un gradiente de concentración como fuerza motora. Las sustancias penetradoras pueden o bien concentrarse en el EC o bien penetrar a la epidermis, desde donde difundirán a la dermis. Una vez en la dermis, la sustancia penetradora puede difundir más profundamente hacia tejidos locales o introducirse en los capilares e incorporarse al flujo sanguíneo para un efecto sistémico, algunos ejemplos de potenciadores de penetración química son: el padimato O, el octil salicilato, el octil metoxinamato, benzoferona 3, óxido de zinc y dióxido de titanio, incluidos en la Tabla 6. [30]

Tabla 6. Ejemplos de potenciadores de penetración química. [31]

Nombre	Estructura
Padimato O	
Octil salicilato	
Octil metoxinamato	
Benzoferona 3	

Los sistemas transdérmicos activos requieren una fuerza física que interrumpa la barrera normal de la piel y por tanto permita el paso de moléculas, que de otro modo no permearían a la piel o lo haría muy lentamente. Una de esas técnicas consiste en el uso de corriente eléctrica o potencial eléctrico, que puede utilizarse para transportar compuestos ionizados a través de un gradiente eléctrico. Otra técnica, son las ondas ultrasonido de radiofrecuencia y microagujas. [2, 9, 20, 21, 22]

Estos sistemas de transporte transdérmicos activos están desarrollándose en la actualidad. El transporte transdérmico activo se divide en cinco categorías, como se muestra en la Tabla 7. [32]

Tabla 7. Sistemas activos de transporte transdérmico.

Sistemas activos de transporte transdérmico	
1.	Iontoforesis (transporte eléctrico de bajo voltaje de activos cosméticos de bajo peso molecular a la piel).
2.	Electroporación (pulsos de alto voltaje administrados en períodos cortos para transportar moléculas grandes a la piel).
3.	Sonoforesis (ultrasonido aplicado para potenciar la penetración en la piel de los activos).
4.	Microagujas (se presionan contra la piel un conjunto de agujas microscópicas impregnadas en la punta con el activo).
5.	Radiofrecuencia (se aplica sobre la piel limpia un calentamiento profundo por medio de un cabezal que se mueve constante sobre la piel).

Con estas nuevas tecnologías se amplía la lista de principios activos adaptables a la administración transdérmica (Tabla 8) y se reducen las limitaciones relacionadas con peso y tamaño molecular, dosis, pH, etc. [27, 28]. Estos métodos pueden combinarse. Actualmente en el mercado farmacéutico

se encuentran disponibles muchos dispositivos, y otros se están ensayando en estudios clínicos, con el fin de facilitar el paso de los fármacos a través de la piel [33], Figura 6.

Tabla 8. Sistemas de liberación transdérmicos disponibles en el mercado Farmacéutico [34].

Fármaco	Indicación	
Insulina	Diabetes	Sistema Ultrasónico
Lidocaína + tetracaine	Anestesia local para mini intervenciones	Parche iontoforético
Lidocaína + epinefrina	Anestesia tópica para intervenciones mínimas	Sistema iontoforético
Fentanilo por 40 microgramos en 10	Dolor posoperatorio agudo	Sistema iontoforético controlado por el paciente.
Sulfato de Magnesio al 2%	Contractura muscular	Sistema iontoforético
Cloruro de calcio, solución al 1%	Contractura muscular	Sistema iontoforético
Lidocaína, solución al 1%	Desgarros	Sistema Ultrasónico
Yoduro de potasio	Desgarros	Sistema iontoforético
Hidrocortisona del 1 o 10%	Tendinitis	Sistema Ultrasónico
Salicilato al 10%	Hematoma traumático post-	Sistema Ultrasónico



Figura 6. Sistemas de transporte transdérmicos activos.

SONOFORESIS

5. SONOFORESIS (Ultrasonido)

5.1 Generalidades

Las aplicaciones terapéuticas del ultrasonido datan desde su uso como técnica de imagen. Se reconoció en 1927, que el ultrasonido (ULTS) podía producir cambios duraderos en los sistemas biológicos, y este fue el comienzo de los dos estudios de seguridad y de la terapia de ultrasonido actual [35].

La absorción de energía ultrasónica conduce a un calentamiento del tejido, y esto ha sido utilizado con fines terapéuticos en muchas condiciones. Más recientemente se ha evidenciado que el beneficio puede obtenerse también a partir de los efectos no térmicos que se producen cuando el ULTS se desplaza a través del tejido.

El ULTS se clasifica en función de la intensidad de frecuencia usada en: ULTS de baja frecuencia, ULTS de media frecuencia y ULTS de alta frecuencia. La frecuencia alta y media son utilizadas en el diagnóstico clínico y en casos de litotricia, mientras que la baja frecuencia en sonoforesis, sonoporación, terapia génica y la cicatrización del hueso. Aparte de los usos de fisioterapia, las terapias con ULTS no están actualmente muy extendidas.

En la Tabla 9, se muestran los tres tipos de ULTS según su rango de frecuencia:

Tabla 9. Clasificación de ULTS como una función de la frecuencia utilizada.

1) ULTS de Frecuencia alta (3–10 MHz) o ULTS de diagnóstico,
2) ULTS de Frecuencia media (0.7–3 MHz) o ULTS terapéutico, y
3) ULTS de Frecuencia baja (18 a 100 KHz) o ULTS de energía.[36]

Las principales aplicaciones médicas del ULTS se muestran a continuación en la Tabla 10:

Tabla 10. Aplicaciones médicas de ULTS.

(a) Como una herramienta de diagnóstico en sitios anatómicos distintos (los ojos y la órbita, la cabeza, cuello, pecho, abdomen y pelvis),
(b) Para la terapia física,
(c) En cirugías,
(d) En odontología,
(e) Para el tratamiento de tumores.

El ULTS en un inicio fue investigado para el tratamiento de condiciones localizadas en la piel [37] y la inflamación articular [38]. Ahora se ha conocido durante más de una década que el ultrasonido se puede utilizar para mejorar de forma eficaz en la penetración transdérmica de fármacos [39] y para permitir la extracción relativamente no invasiva de analitos de la sangre [40].

5.2 El Ultrasonido

La piel es el órgano más grande y más accesible del cuerpo, es un portal con grandes ventajas para la administración de fármacos [41-48]. Además de ofrecer al paciente mejor cumplimiento sobre la administración de fármacos y evitar el metabolismo de primer paso, común en la administración de fármacos por vía oral; la vía transdérmica proporciona una plataforma única para la entrega sostenida y controlada de agentes terapéuticos.

Muchos agentes se aplican a la piel de forma deliberada o accidentalmente, ya sea con resultados beneficiosos o perjudiciales. El principal interés en la evaluación de la absorción cutánea está relacionado con: a) los efectos locales en cuestiones dermatológicas (por ejemplo, corticosteroides para tratar la dermatitis), b) el transporte a través de la piel buscando un efecto sistémico (por ejemplo, los parches de nicotina, parches de fármacos hormonales, etc.), c) efectos en la superficie (por ejemplo, los protectores solares, cosméticos y anti infecciosos) [49]; d) alcanzar tejidos más profundos (por ejemplo, medicamentos anti-inflamatorios no esteroideos) [16, 21, 50-60], y e) absorción

no deseada (por ejemplo, los solventes en el lugar de trabajo, los pesticidas o alérgenos) [61,62]. (Figura 7).

La piel se hizo popular como un sitio potencial para la administración de fármacos sistémicos, por un lado, debido a la posibilidad de evitar los problemas del vaciado gástrico del estómago, los efectos del pH, la desactivación enzimática asociada con el paso gastrointestinal y el metabolismo hepático de primer paso, y por otra parte, debido a su capacidad para permitir el control de entrada de fármacos.

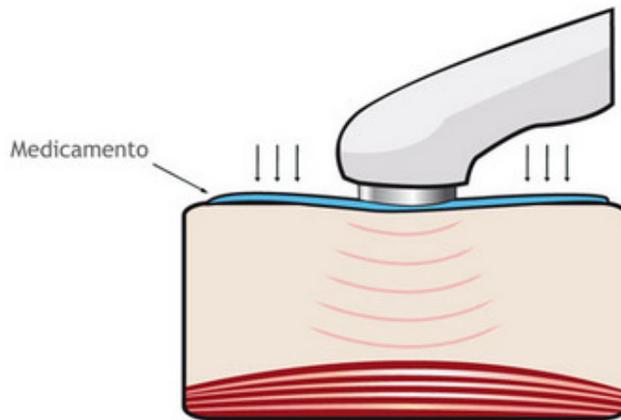


Figura 7. El uso de ULTS favorece la penetración del medicamento.

EL ULTS, consiste en ondas mecánicas de tipo longitudinal, que se propagan por las partículas del medio como un movimiento ondulatorio, a una velocidad determinada a partir de su foco emisor [63]. El sonido se propaga desde un punto a otro por la interacción entre las partículas oscilantes colindantes [64]. La dirección de propagación es paralela a la dirección de oscilación y, por lo tanto, el sonido se define como una onda longitudinal. Debido a su propagación, depende por completo de la creación de regiones alternas de la compresión molecular y la disminución de la densidad, el sonido no puede existir en un vacío. La variación de la presión tiene la misma velocidad de propagación y la frecuencia como las oscilaciones de las moléculas sobre sus

posiciones de equilibrio. Las ondas acústicas con frecuencias entre 20 Hz y ~ 20 KHz caen en el rango audible. El término ultrasónico se refiere a las ondas sonoras cuya frecuencia es > 20 KHz (Figura 8). La intensidad (I , expresada en W/cm^2), o la concentración de energía dentro de un área específica en un haz de ULTS, son proporcionales al cuadrado de la amplitud, p , que es el máximo aumento o disminución de la presión relativa a las condiciones ambientales en ausencia de la onda sonora. La relación completa es:

$$I = p^2 / 2\rho c$$

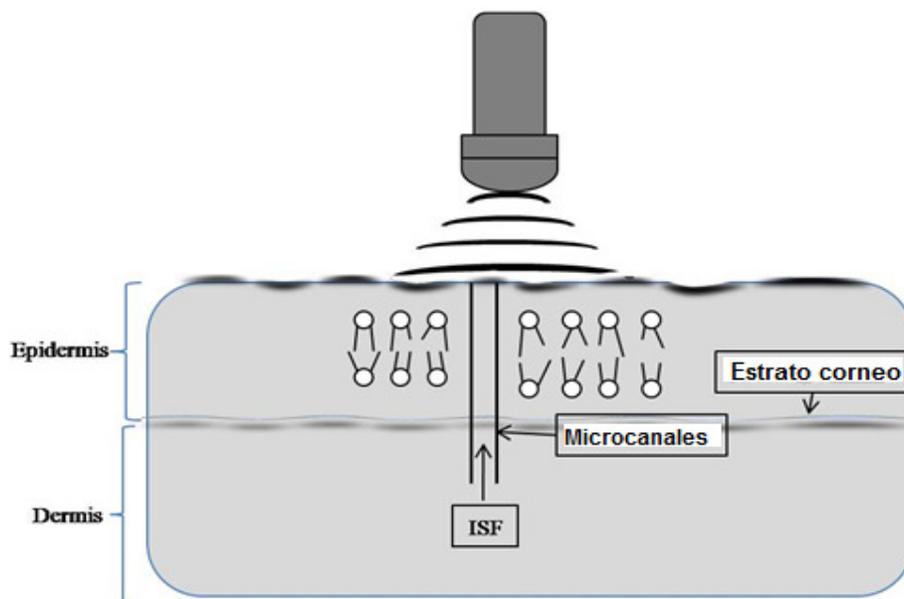


Figura 8. Imagen de cómo el ultrasonido rompe la capa córnea: permeabilidad de la barrera de la piel.

donde ρ es la densidad del medio y c es la velocidad del sonido (en el tejido blando humano, esta velocidad es 1540 m/s). La intensidad se pierde progresivamente cuando una onda sonora pasa a través del cuerpo o se desvía de su dirección inicial, un fenómeno que se conoce como atenuación. En el

tejido homogéneo, la atenuación se produce como resultado de la absorción, en cuyo caso la energía del sonido se transforma en calor y se dispersa [65].

La fuente de las ondas sonoras en un dispositivo de ultrasonido biomédico es un transductor de cristal piezoeléctrico. El material de cristal puede ser cuarzo u otro material policristalino, tales como plomo-zirconato, titanato de bario o titanio [65]. Las ondas sonoras se producen en respuesta a un impulso eléctrico en el cristal piezoeléctrico, que permite la conversión de energía eléctrica en energía mecánica o vibratoria; esta transformación requiere un medio molecular (sólido, líquido o gas) para ser eficaz (Figura 8). Después de la perturbación externa, grupos de moléculas oscilan en fase y transmiten su energía cinética a las moléculas colindantes [36].

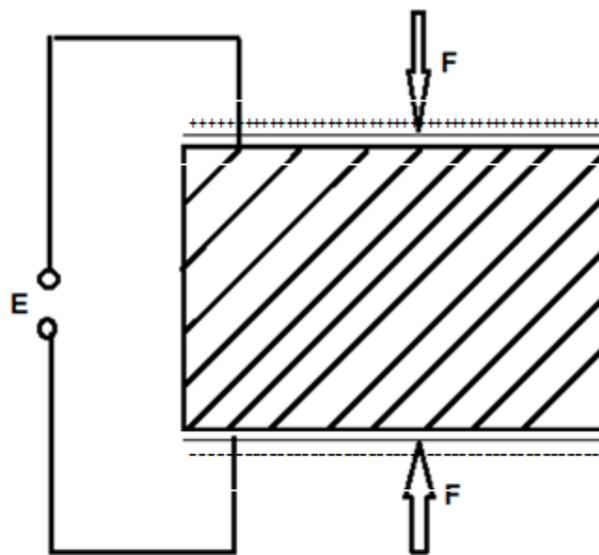


Figura 9. Efecto pizoeléctrico aplicando una fuerza. [66]

El haz ultrasónico se compone de dos campos, el "campo cercano", en la región más cercana a la cara del transductor y el "campo lejano", correspondiente a la parte cónica divergente del haz (Figura 9). Los parámetros que controlan esta configuración del haz ultrasónico son principalmente la frecuencia y el tamaño del transductor [65].

Las unidades de ultrasonidos se encuentran constituidas, por una consola en cuyo interior se halla un circuito oscilador de alta frecuencia y los mandos de control (Figura 10). El emisor pizoeléctrico se encuentra en el cabezal, impermeable, y de diversos tamaños y frecuencias.

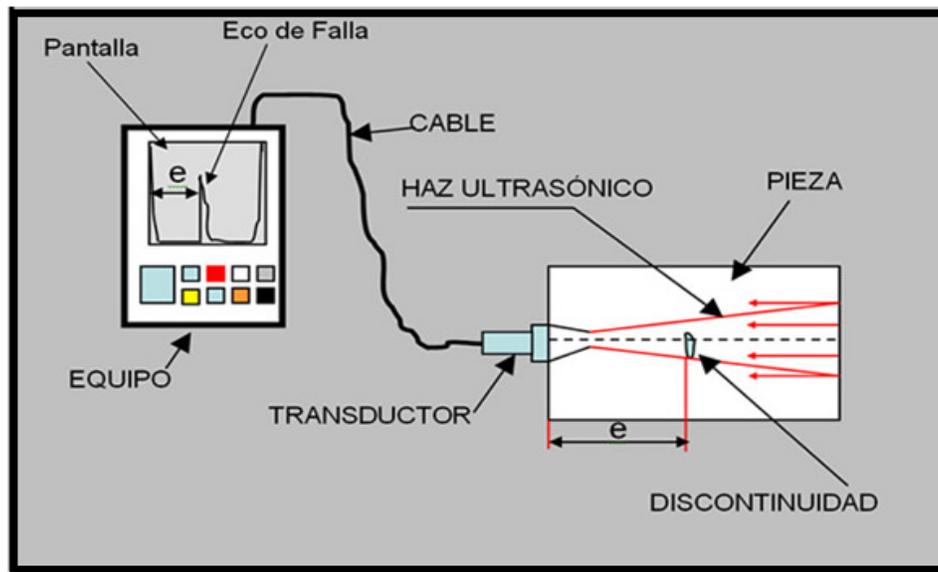


Figura 10. Constitución de una unidad de ULTS.

5.3 Mecanismo de Acción

A pesar de haberse brindado considerable atención en los últimos años a la investigación de la sonoforesis, sus mecanismos aún no han sido claramente comprendidos, lo que refleja el hecho de que varios fenómenos pueden ocurrir en la piel tras la exposición al ULTS y contribuir al paso de fármacos a través de la piel. Estos fenómenos son cuatro principalmente:

- i) Cavitación.
- ii) Efectos térmicos.
- iii) Inducción de transporte convectivo.
- iv) Efectos mecánicos.

5.3.1 Efectos de Cavitación

La cavitación es la formación de cavidades gaseosas en un medio tras la exposición a ULTS (Figura 11). La causa principal de la cavitación es la variación de la presión inducida por ULTS en el medio. La cavitación implica tanto el rápido crecimiento y colapso de la burbuja (cavitación inercial), o el movimiento lento oscilatorio de una burbuja en un campo de ULTS (cavitación estable).

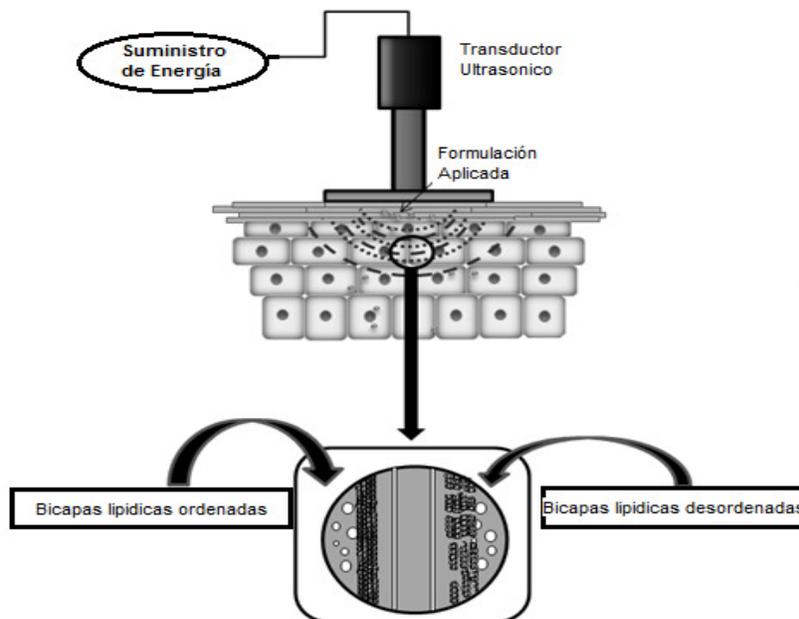


Figura 11. El principio básico de la sonoforesis. Pulsos ultrasónicos pasan a través de la piel fluidizando la bicapa lipídica por la formación de burbujas causadas por cavitación.

El colapso de las burbujas de cavitación liberan una onda de choque que puede provocar una alteración estructural en el tejido que lo rodea [67] el ULTS puede generar microcorrientes violentas, que aumentan la biodisponibilidad de los medicamentos [68]. Los tejidos contienen burbujas de aire que quedan atrapadas en las estructuras fibrosas que actúan como núcleos de cavitación con la exposición de ultrasonido. Los efectos de cavitación varían inversamente con la frecuencia ultrasónica y directamente con la intensidad del ultrasonido.

La cavitación puede ser importante cuando se utiliza una baja frecuencia ultrasónica, fluidos gaseosos expuestos o cuando pequeños espacios llenos de gas están expuestos. Se ha descubierto que los ULTS de muy baja frecuencia permiten la penetración a través de la piel de moléculas de gran tamaño como las de la insulina, el interferón gama y otros [34]

La cavitación se produce debido a la nucleación de pequeñas cavidades gaseosas durante los ciclos de presión negativa de ULTS, seguido por el crecimiento de estas burbujas a lo largo de ciclos de presión posteriores. Cuando los núcleos gaseosos pequeños ya existen en un medio, la cavitación tiene lugar preferentemente en los núcleos [69-71]. Esto conduce a la cavitación en el desorden de la bicapa lipídica y la formación de canales acuosos en la piel a través del cual los fármacos pueden penetrar [72-74]. Cuando cesa la acción de los pulsos del ultrasonido, los lípidos se reordenan rápidamente y la piel recobra su impermeabilidad normal [34] (Figura 12).

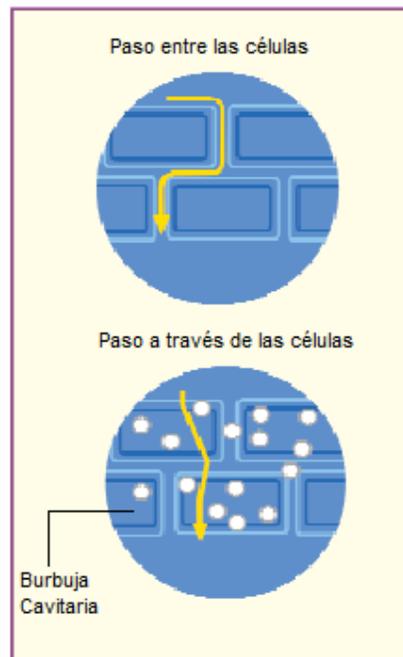


Figura 12. Penetración de moléculas grandes mediante sonoforesis.

5.3.2 Efectos Térmicos

La absorción de ULTS aumenta la temperatura del medio. Los materiales que poseen un coeficiente de absorción ultrasónica mayor, como el hueso, sufren una experiencia de efectos térmicos severos en comparación con el tejido muscular, que tiene un coeficiente de absorción más bajo [75]. El aumento de la temperatura del medio tras la exposición a ULTS a una frecuencia dada varía directamente con la intensidad ultrasónica y tiempo de exposición. El coeficiente de absorción de un medio aumenta directamente con la frecuencia ultrasónica resultando en aumento de la temperatura.

Un estudio realizado por Wells PN, [76] sugiere el uso de un nuevo parámetro de seguridad, tiempo límite (TL). El TL indica el tiempo después del cual un aumento de la temperatura límite, es excedido y cuanto tiempo una parte de tejido puede ser expuesto de forma segura a ULTS, siempre que el límite de seguridad es conocido.

5.3.3 Transporte convectivo

La velocidad del fluido se genera en el medio poroso expuesto al ultrasonido, debido a la interferencia de las ondas ultrasónicas incidentes y reflejadas en la célula de difusión y las oscilaciones de las burbujas de cavitación. Las velocidades de fluido generado de esta manera pueden afectar el transporte transdérmico mediante la inducción de transporte convectivo a través de la piel permeable, especialmente a través de los folículos pilosos y los conductos del sudor. Hallazgos experimentales sugieren que el transporte convectivo no juega un papel importante en la mejora transdérmica observada [39].

5.3.4 Los efectos mecánicos

El ULTS es una onda de presión longitudinal que induce variaciones de presión sinusoidales en la piel, que, a su vez, induce variación de la densidad sinusoidal. A frecuencias superiores a 1 MHz, las variaciones en la densidad ocurren tan rápidamente que un pequeño núcleo gaseoso no puede crecer y

dejar efectos cavernosos. Sin embargo, otros efectos debido a las variaciones de densidad, como la generación de tensiones cíclicas debido a los cambios de densidad, pueden volver a ocurrir. Las bicapas lipídicas, siendo estructuras auto-ensambladas, pueden ser fácilmente desordenadas por estas tensiones, que se traducen en un aumento en la permeabilidad de la bicapa. Este incremento es, sin embargo, no significativo y por lo tanto el efecto mecánico no juega un papel importante en la sonoforesis terapéutica. Así la cavitación inducida por desorden de la bicapa lipídica resulta ser la causa más importante para la mejora ultrasónica del transporte transdérmico [69].

Tanto los ultrasonidos continuos como los pulsátiles pueden aumentar la difusión de los medicamentos aplicados tópicamente. El calor generado aumenta la energía cinética de las moléculas, dilata los puntos de entrada de los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas, y aumenta la circulación del área tratada, lo que permite una mayor difusión a través del EC. También las características mecánicas de las ondas sónicas aumentan la difusión de los medicamentos, ya que las vibraciones cambian el potencial de reposo o provocan modificaciones de la permeabilidad de la membrana [63], (Figura 13).

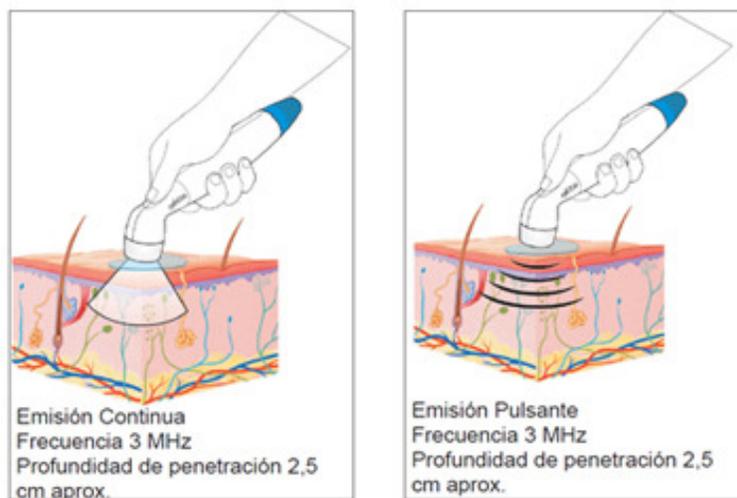


Figura 13. Ultrasonidos continuos y pulsátiles.

5.4 Ventajas y Desventajas de la Sonoforesis

La sonoforesis es capaz de ampliar el rango de compuestos que pueden ser administrados por vía transdérmica. Además de los beneficios de evitar el efecto de primer paso hepático ya anteriormente mencionados, y una mayor comodidad para el paciente, las ventajas adicionales [77] y desventajas que ofrece la técnica sonoforética se pueden resumir como sigue en la Tabla 11.

Tabla 11. Ventajas y desventajas del uso de sonoforesis como un potenciador de la penetración física.

Ventajas	Desventajas
<p>Mejora la penetración del fármaco sobre el transporte pasivo.</p> <p>Permite un control adecuado de la penetración transdérmica.</p> <p>Permite la rápida terminación de la administración de fármacos a través de la terminación de ULTS.</p> <p>La piel se mantiene intacta, por lo tanto, el riesgo de generar alguna infección es bajo.</p> <p>Genera menos ansiedad y dolor que la administración por vía parenteral.</p> <p>En muchos casos, una mayor satisfacción por parte de los pacientes.</p> <p>No genera sensibilización inmunológica.</p> <p>Menos riesgo de absorción sistémica que la administración de un fármaco mediante inyección.</p>	<p>Puede llevar mucho tiempo para administrar.</p> <p>Menor hormigueo, irritación, y ardor (a menudo estos efectos se pueden minimizar o erradicar con el ajuste adecuado de ULTS [78]) con respecto a al uso de otros promotores físicos.</p> <p>El EC debe estar intacto para la penetración eficaz del fármaco.</p>

5.5 Usos y Aplicaciones de los Ultrasonido en la liberación tópica/transdérmica de fármacos.

La liberación de fármacos por sonoforesis, la hace una candidata atractiva como potenciador físico para administrar medicamentos a través de la piel [79-123]. Esto se destaca a continuación en las Tablas 12 y 13, que muestran y resumen los estudios realizados por diferentes grupos de investigación a nivel mundial sobre los usos de la sonoforesis en la liberación tópica y transdérmica de fármacos, así como las condiciones experimentales utilizadas en la administración transdérmica de los mismos, y que son importantes al querer hacer uso de este promotor físico de la penetración transdérmica.

Tabla 12. Investigación sobre los usos de sonoforesis para administrar distintos fármacos a través de la piel.

Anestésicos		
Investigación	Resultado	Autor (Ref.)
Penetración tópica de lidocaína en la piel.	Aumento considerable de la concentración de lidocaína por el uso de ULTS.	Wells <i>et al.</i> [79]
Estudio cruzado, doble ciego, controlado con vehículo, en voluntarios sanos para la lidocaína en crema.	No hay un aumento en la absorción de lidocaína en crema con uso de ULTS	McEnlay <i>et al.</i> [80]
Estudio en voluntarios sanos para aceite de lidocaína.	Se incremento el paso de lidocaína a través de piel.	Novak <i>et al.</i> [81]
Penetración de lidocaína en la piel.	La frecuencia de 250 kHz indujo la penetración más alta de lidocaína.	Griffin y Touchstone [82]
Efecto anestésico de la lidocaína en las patas de ratones sin pelo.	Inducción rápida y eficaz de un efecto anestésico en las patas de ratones sin pelo.	Tachibana <i>et al.</i> [83]
Sonoforesis de benzocaína y dibucaína tópica.	Sin aumento detectable en la tasa de penetración anestésica.	Williams <i>et al.</i> [84]
Administración transdérmica de clorhidrato de lidocaína aplicando ULTS (0,5 MHz) en voluntarios sanos.	El ULTS a 0,5 MHz usando clorhidrato de lidocaína para un bloqueo de nervios, es más eficaz que la de 1 MHz, que es utilizado en situaciones clínicas.	Kim <i>et al.</i> [85]
Penetración de clorhidrato de procaína a través de las mono capas de la célula aplicando ULTS terapéutico.	Incremento en la velocidad de penetración de clorhidrato de procaína, puede ser controlada por sonoforesis.	Hehn <i>et al.</i> [86]

Efecto térmico para acelerar el efecto analgésico de los anestésicos locales sobre el nervio de cola de rata.	No hubo diferencia significativa entre los subgrupos de tratamiento por ultrasonido.	Wu Yh <i>et al.</i> [87]
Fármacos Analgésicos y Anti-inflamatorios		
Efecto de la intensidad, modo y duración de la aplicación de ULTS sobre el transporte de tres fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (AINE) a través de membrana de celulosa y piel de conejo sin pelo.	Se demostró el efecto sinérgico de la temperatura y los parámetros de operación de ULTS sobre el transporte de los fármacos AINE.	Meshali <i>et al.</i> [88]
Efecto de un ULTS a una frecuencia de 1 MHz en la absorción transdérmica para un ungüento de indometacina en ratas.	La intensidad y la duración de la aplicación juega un papel importante en la administración transdérmica sonoforética; la intensidad de 0,75 W/cm ² durante 10 minutos fue más eficaz para la administración de indometacina.	Miyazaki <i>et al.</i> [89]
Estudio de la influencia de los ultrasonidos en la absorción percutánea de ketorolaco trometamina <i>in vitro</i> a través de la piel de rata sin pelo.	Se observó un aumento significativo en la penetración de ketorolaco a través de piel de rata con la sonicación aplicada a 3 W/cm ² cuando se compara con la penetración a 1 y 2 W/cm ² .	Tiwari <i>et al.</i> [90]
Administración <i>in vivo</i> de una solución de gel de ketorolaco trometamina (KT) por vía transdérmica mediante sonoforesis usando impulsos por ULTS en un modelo de inflamación de rata carragenina.	La aplicación transdérmica de gel de KT usando sonoforesis tuvo importantes efectos anti-hiperalgésicos y anti-inflamatorios.	Yang <i>et al.</i> [91]
Aplicación de sonoforesis a un gel de ibuprofenol al 5% (Nurofen) a las articulaciones afectadas de 20 pacientes.	La eficacia analgésica transcutánea combinando el uso de ULT del gel Nurofen en la osteoartrosis fue demostrado.	Serikov <i>et al.</i> [92]
Exploración de los efectos terapéuticos de la sonoforesis con ketoprofeno en forma de gel en pacientes con entesopatía del codo.	Los efectos positivos de sonoforesis utilizando un gel farmacológicamente activo con ketoprofeno, demostraron ser altamente significativos en ambas evaluaciones, objetiva (examen clínico) y subjetiva (entrevista). Los síntomas de dolor en el codo quedaron resueltos en la mayoría	Cabak <i>et al.</i> [93]

	de los pacientes.	
Estudio cuantitativo de diclofenaco sódico (Voltaren Emulgel, Novartis) administrado mediante sonoforesis en seres humanos.	La penetración percutánea del gel tópico de diclofenaco mejora con la aplicación previa del ULT terapéutico, aunque el mecanismo aún no está claro.	Rosim <i>et al.</i> [94]
Investigación de la penetración <i>in vitro /in vivo</i> de ácido flufenámico en dependencia de ULTS.	Usando este modelo <i>in vitro</i> , es posible comparar la administración transdérmica de ungüento comercial de ácido flufenámico en voluntarios.	Hippius <i>et al.</i> [95]
Caracterización de microcanales creados por microagujas aplicadas a mano, para demostrar la mejora en la entrega de formulaciones con clorhidrato de lidocaína y succinato sódico de metilprednisolona (SSMP).	La profundidad de penetración de lidocaína y SSMP tras la aplicación de la fuerza y firmeza del tejido subyacente, varía de < 100 μm a cerca de 150 micras.	Duan D <i>et al.</i> [96]
Desarrollo de un protocolo de aplicación optimizado para la entrega sonoforética transdérmica de un fármaco de modelo hidrófilo.	La penetración de cafeína como fármaco de modelo hidrófilo mejora con la aplicación de ULTS pulsátil a 20 kHz y una intensidad de 0.37 W/cm ² durante 5 min.	Sarheed <i>et al.</i> [97]
Sonoforesis de baja frecuencia, administración transdérmica e intradérmica mediada del ketoprofeno.	La aplicación de ULTS mejoró significativamente la permeación de ketoprofeno a partir de 74,87 \pm 5,27 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ para la entrega pasiva a 491,37 \pm 48,78 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ para sonoforesis.	Herwadkar <i>et al.</i> [98]
Antibióticos		
Efecto de ULTS en la liberación de la aplicación tópica de ungüento de anfotericina B en conejillos de indias.	La anfotericina B contenida en la piel y tejidos subcutáneos grasos fue mucho más alta cuando el fármaco se libera en presencia de ULTS.	Rornanenko y Araviiskii [99]
Administración de tetraciclina en conejos sanos usando electroforesis y sonoforesis	Se encontró que los niveles tisulares de tetraciclina administrados con los métodos modificados de electro y sonoforesis aumentaron con un aumento en la densidad ó intensidad de corriente del ULTS, el tiempo del procedimiento y la concentración de	Ragelis <i>et al.</i> [100]

	antibiótico.	
Inmunosupresores		
Investigación del transporte tópico de ciclosporina A, usando baja frecuencia ultrasónica a través de piel de rata.	La piel mejora la acumulación de ciclosporina A por la combinación de ULTS de baja frecuencia y de potenciadores químicos que podrían ayudar significativamente para optimizar la administración del fármaco sin un aumento concomitante de los efectos sistémicos secundarios.	Liu <i>et al.</i> [101]
Evaluación de la eficacia de la sonoforesis de baja frecuencia (SBF) a 25KHz producidas por un aparato sonicador para el tratamiento de la alopecia areata, melasma y lentigo solar.	El estudio demostró que la SBF, una técnica no agresiva, mejora la penetración de agentes tópicos obteniendo efectos a nivel de la epidermis, la dermis y apéndices (administración intradérmica), dando mejores resultados en el tratamiento cosmético de algunas enfermedades de la piel como la alopecia areata y melasma.	Santoianni <i>et al.</i> [102]
Medicamentos contra el cáncer		
Aplicación de un método utilizando ULTS y nano/micro burbujas a la terapia del gen del cáncer utilizando terapia de activación pro fármaco.	Reducciones dramáticas del tamaño del tumor.	Aoi <i>et al.</i> [103]
Investigación de transporte competitivo a través de piel de 5-fluorouracilo en gel en acoplamiento y bajo la influencia de ULTS.	La ultrasonificación produjo una disminución en la penetración percutánea del fármaco. Este efecto fue debido a la pérdida difusiva de la sustancia hidrófila 5-fluorouracilo en la superficie de la piel.	Meidan <i>et al.</i> [104]
Insulina		
Comparación entre la matriz rectangular 3x1 y la matriz circular 3x3 para determinar la reducción de la glucosa en conejos hiperglucémicos.	Utilizando la matriz de plato rectangular, la glucosa disminuyó más rápido y a un nivel de $-200,8 \pm 5,9$ mg / dl después de 90 min.	Luis <i>et al.</i> [105]
Para demostrar la penetración transdérmica <i>in vivo</i> por ultrasonido de la insulina usando conejos con un novedoso, matriz de perfil bajo	Para el grupo ULTS-insulina, el nivel de glucosa se encontró que disminuyo a $-132,6 \pm 35,7$ mg / dl a partir de la línea basal inicial en 60	Lee <i>et al.</i> [106]

de dos por dos con ULTS.	min.	
Demostrar la viabilidad de ULTS mediado por la administración transdérmica de insulina <i>in vivo</i> en ratas.	Para el grupo de exposición de 60 minutos de ULTS, el nivel de glucosa se encontró que disminuyó desde el inicio hasta $-267,5 \pm 61,9$ mg / dl en 1 h. Además, para estudiar los efectos de tiempo de exposición ULTS en la administración de insulina, el grupo de 20-min tenía esencialmente el mismo resultado que la exposición 60-min a una intensidad similar.	Smith <i>et al.</i> [107]
Rápida permeabilización de la piel por la aplicación simultánea de doble frecuencia de ultrasonidos de alta intensidad.	Aplicación simultánea de dos frecuencias de ULTS distintas, en el rango de 20 KHz a 3 MHz, para mejorar la eficacia de la exposición a ULTS.	Schoellhammer <i>et al.</i> [108]
Corticosteroides		
Determinación del efecto de ULTS sobre la absorción transcutánea de dexametasona.	Se observó un efecto sonoforetico de incremento en la penetración transdérmica de desametaxona, sin embargo ocurrió un efecto de saturación de dexametasona en la piel.	Saliba <i>et al.</i> [109]
Para determinar si el ULTS mejora la difusión de los corticosteroides aplicados transdérmicamente.	Se observó un incremento de la penetración de dexametasona en capas profundas de la piel.	Byl <i>et al.</i> [110]
Comparación de la eficacia de la sonoforesis (SON) de fosfato de dexametasona al 0,4% (F-DEX) con terapia de F-DEX 0,4% iontoforesis (ION) en el tratamiento de pacientes con osteoartritis en la articulación de la rodilla.	Mejora significativa en las puntuaciones totales WOMAC (Western Ontario y la Universidad McMaster), se observó en 15 (60%) y 16 (64%) pacientes en los grupos SON e ION, respectivamente, lo que indica una diferencia significativa en la tasa de mejora.	Akinbo <i>et al.</i> [111]
Diseño de un sistema sonoforetico de suministro de fármacos para mejorar la permeabilidad de acetónido de triamcinolona (AT).	La mayor penetración de la AT se observó bajo las condiciones de tratamiento ULTS de baja frecuencia, y en modo continuo.	Yang <i>et al.</i> [112]
Influencia del tiempo de la aplicación de ultrasonido en la penetración de los	Únicamente el método de pre-tratamiento con ultrasonido resultó con una respuesta significativa a	Clijisen <i>et al.</i> [113]

corticosteroides.	(1Mhz, 1 W/cm (2)).	
Evaluación de sonoforesis de baja frecuencia para aumentar la eficiencia de los esteroides tópicos: un estudio piloto aleatorizado en seres humanos.	La vasoconstricción fue significativamente mayor con el esteroide tópico aplicado después del uso de ULTS.	Maruani <i>et al.</i> [114]
Cardiotónicos		
Sonoforesis de la digoxina <i>in vitro</i> a través de la piel humana y de ratón sin pelo.	No hubo aumento de la absorción de digoxina a través de la piel humana por ULTS.	Machet <i>et al.</i> [115]
Vasodilatadores		
Penetración en la piel de nicotinato de metilo en voluntarios humanos sanos haciendo uso de ULTS	El tratamiento de ULTS aplicado antes del nicotinato de metilo condujo a una mayor absorción percutánea del fármaco.	McEnlay <i>et al.</i> [116]
Hormonas		
Efecto de moduladores de la penetración y la aplicación de ULTS de baja frecuencia (UBF) y ultrasonidos de alta frecuencia (UAF) en la penetración transdérmica de testosterona (PT) después de la aplicación de micropartículas sólidas lipídicas de testosterona (MSL).	La aplicación del fármaco cargado con MSL ofrece protección de la piel contra la irritación del efecto producido por PT y dodecilamina (DA) al 1%. Además de incrementarse el paso de este fármaco por acción de la sonoforesis.	El-Kamel <i>et al.</i> [117]
Cicatrizantes		
La eficacia de la sonoforesis en la entrega de hialuronato de alto peso molecular (HA) en la membrana sinovial utilizando un modelo animal de la osteoartritis (OA).	El análisis del líquido sinovial revela una mayor absorción y la microscopía de fluorescencia mostró una penetración más profunda de ambos HA1000 y HA3000.	Park <i>et al.</i> [118]
Calceína		
El aclaramiento de la penetración de la piel de solutos hidrófilos modelo, como la calceína (MW 623) y con dextranos [MW 4400 (FD-4) y MW 38.000 (FD-40)], a través de la piel bajo la influencia de ULTS.	Buenas correlaciones se observaron entre el flujo $3H_2O$ y el aclaramiento del soluto y, de forma inesperada, los valores de pendiente obtenidos a partir de la regresión lineal de las graficas fueron consistentes para todos los solutos examinados.	Morimoto <i>et al.</i> [119]

Oligonucleotidos		
Evaluación del potencial de ULTS de baja frecuencia (20 kHz, 2,4 W/cm ²) en la liberación de cantidades terapéuticamente significativas de oligonucleótidos en la piel.	El uso de evaluaciones microscópicas reveló penetración heterogénea en la piel.	Tezel <i>et al.</i> [120]
Estimulantes		
El efecto de sonoforesis de baja frecuencia sobre fentanilo y la penetración de la cafeína a través de la piel humana y de rata sin pelo.	El modelo ULTS discontinuado se encontró que era más eficaz para aumentar la penetración transdérmica de fentanilo mientras que el transporte transdérmico de cafeína ha mejorado por ambos ciclos continuo y pulsado.	Boucaud <i>et al.</i> [121]
Calcio		
Sonoforesis del contenido de Ca ²⁺ en la epidermis superior a través del EC de la piel de ratón sin pelo.	La aplicación de sonoforesis a 15 MHz no alteró la función de barrera de la piel	Menon <i>et al.</i> [122]
Panax notoginseng		
Efecto de una terapéutica ultrasonica, junto con un gel de Panax notoginseng para la reparación del ligamento colateral medial en ratas.	Este estudio revela un efecto positivo ultrasónico del extracto de Panax notoginseng para mejorar la resistencia de la reparación del ligamento.	Ng <i>et al.</i> [123]

Otras aplicaciones		
<i>i) para estudiar los mecanismos de penetración debido a ULTS a través de la piel</i>		
Para demostrar la permeabilidad de calceína a través de las regiones localizadas de transporte (RLTs) de la exposición del sistema ULTS/ lauril sulfato sodio (LSS).	RLTs y las no-RLTs exhiben una disminución significativa en relación resistividad eléctrica de la piel sin tratar la piel, lo que sugiere la existencia de dos niveles de perturbación significativa de la piel estructural debido a la exposición a ULTS en presencia de LSS.	Kushner IV <i>et al.</i> [124]
Para discernir o investigar sobre el mecanismo (s) por el cual el ULTS de baja frecuencia (20 kHz) mejora la	Fracciones significativas (30%) de los lípidos intercelulares de EC fueron retirados durante la aplicación de sonoforesis de baja	Alvarez-Roman <i>et al.</i> [125]

permeabilidad de la piel.	frecuencia.	
La investigación de los efectos a corto tiempo de sonicación de la piel humana a intensidades variables y en la dinámica de transporte de fluoresceína a través de la piel.	Una aplicación corta de ULTS mejoró el transporte de fluoresceína a través de la piel humana por un factor en el intervalo de 2-9 para las muestras de piel de espesor completo y por un factor en el intervalo de 2 a 28 000 para muestras de EC.	Cancel <i>et al.</i> [126]
El uso de puntos cuánticos como trazador y la microscopía confocal y microscopía electrónica de transmisión (MET) como métodos de visualización, en sonoforesis de baja frecuencia.	El ULTS aumentó significativamente la frecuencia de ocurrencia de los espacios lacunares en el EC. Se observó un aumento significativo en las dimensiones lacunares cuando se adicionó un 1% p/v de lauril sulfato de sodio al medio de acoplamiento.	Paliwal <i>et al.</i> [127]
Aumento en la administración transdérmica de nanopartículas rígidas utilizando la aplicación simultánea de ultrasonidos y lauril sulfato de sodio (LSS).	El tratamiento con LSS mejora significativamente la penetración transdérmica con ayuda de ULTS.	López <i>et al.</i> [128]
Eficiencia de la sonoforesis, ultrasonidos de baja frecuencia en la penetración en la piel de histamina: estudio aleatorizado en seres humanos.	El tratamiento con sonoforesis mejora la penetración en la piel de histamina.	Maruani <i>et al.</i> [129]
La importancia de la formación de microjets frente a ondas de choque en la sonoforesis.	La contribución de microjets en la piel mejora la permeabilidad más significativamente que las ondas de choque.	Wolloch <i>et al.</i> [130]
Estudio <i>in vitro</i> de ULTS y diferentes concentraciones de glicerol ocasionando cambios en la atenuación óptica en la piel humana.	La capacidad de compensación óptica de glicerol fue más reforzada con la aplicación simultánea de ULTS en comparación al glicerol solo.	Zhong <i>et al.</i> [131]
Investigación del efecto de la potencia de los ultrasonidos en la nucleación del agua durante la congelación de muestras de agar en gel en tubos viales.	La capacidad de nucleación a diferentes temperaturas de congelación del agar en gel fue mejor después de la irradiación con ULTS.	Kiani <i>et al.</i> [132]

ii) Queloides		
Terapia ultrasónica con un gel a base de agua.	El ULTS completó el aplanamiento de queloides en dos hombres jóvenes, cuando 1 MHz a 0,8 W / cm ² se aplicó durante unos 4 minutos.	Walker J. J. [133]
ii) Tumores		
Optimización de parámetros para ULTS en la penetración de bleomicina <i>in vivo</i> .	Un efecto antitumoral eficaz se demostró en los tumores sólidos de líneas celulares, tanto murinos y humanos.	Larkin <i>et al.</i> [134]
Investigación enfocada a la exposición de alta intensidad ultrasónica (AIU) para mejorar la absorción tumoral de un anticuerpo murino IgG1kappa monoclonal (111) A-MX-B3.	La exposición de AIU acortó el tiempo de absorción del tumor (24 contra 48 h para el control) y el aumento de la absorción máxima del tumor (38 contra 25% ID / g para el control). El efecto de AIU en la mejora de la captación del tumor fue mayor en los primeros tiempos hasta las 24 h.	Khaibullina <i>et al.</i> [135]
Heridas supurativas		
Tratamiento de las heridas supurativas con ULTS.	La sonoforesis de ácido acético de etilendiaminotetraacético con la dioxidina y antibiótico quinoxalina fue eficaz en la aceleración de purificación de las heridas y la eliminación de problemas de necrosis.	Levenets [136]. Shuvalov, y Poliakov [137]
Tratamiento de las heridas purulentas e infiltrados inflamatorios con ULTS.	Sonoforesis de una solución de papaína al 1%, junto con dimetilsulfóxido es un método eficaz para el tratamiento de heridas purulentas e infiltrados inflamatorios.	Matinian <i>et al.</i> [138]

Tabla 13. Las condiciones experimentales para el estudio del paso de fármacos a través de la piel por sonoforesis.

Fármaco	Las condiciones experimentales utilizadas por diferentes investigadores
Lidocaína [76-86]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Voluntarios sanos ▪ Piel de conejo ▪ Diferentes concentraciones de fármaco y frecuencias (250-100kHz)
Clorhidrato de procaína [86]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cultivo de de células epiteliales MDCK (Madin Darby canine kidney) ▪ Irradiación continua de 1.0 W/cm²
Piroxicam [88]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Membrana de celulosa y piel de conejo ▪ 0.5 a 3.0 W/cm²
Ibuprofeno [88]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Membrana de celulosa y piel de conejo ▪ 0.5 a 3.0 W/cm²
Diclofenaco sódico [88,94]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Membrana de celulosa y piel de conejo ▪ 0.5 a 3.0 W/cm² ▪ Humanos
Indometacina [89]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de rata ▪ Rango de intensidades (0.25, 0.5, 0.75, y 1 W/cm²), Tiempo 5-20min.
Ketorolaco trometamina [90, 91]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de rata ▪ Modelo de inflamación de rata carragenina ▪ Modelo continuo a una intensidad de 1-3 W/cm² y una frecuencia de 1 MHz por 30 min.
Ketoprofeno [93]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Humanos ▪ Modo de pulso de ULTS y una intensidad de 0.8 W/cm²
Ketoprofeno [120]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de rata sin pelo ▪ Frecuencia de 20 KHz por un periodo de 24 h
Ácido Flufenamico [95]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel humana ▪ La energía de ULTS fue suministrada por entre 5 y 30 min a un rango de intensidades de hasta 1.5 W/cm²
Amfotericina B [100]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conejillos de india ▪ Uso de dimetilsulfoxido como un potenciador químico.
Cafeína [119]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel porcina ▪ Modo de pulso de ULTS con intensidad de 0.37 W/ cm² y una frecuencia de 20 KHz por 5 min.
Tetraciclina [100]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conejos sanos ▪ Aparato de Galvanización "Potok-1"
Ciclosporina A [101]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de rata ▪ Pretratamiento de la piel con potenciador químico, por ejemplo Azone[®] y lauril sulfato de sodio ▪ Tratamiento trimodal que consta de un pretratamiento con Azone[®] + ULTS en combinación seguida de electroporación
Prednisolona de metilo [102]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pacientes humanos afectados con alopecia ▪ Frecuencia 25kHz

Ganciclovir [103]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ratones portadores de tumores subcutáneos ▪ ULTS y nano/microburbujas ▪ Pulsaciones de intensidad baja ULTS (1 MHz; 3 W/cm²)
5- Fluorouracilo [104]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Toda la piel de la rata ▪ Mejoramiento de calor y Azone[®]
Insulina [105-107]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Conejos hiperglucémicos y conejos blancos de Nueva Zelanda ▪ Matriz 3x1 platillo rectangular ▪ 50 MWCM-2 ▪ Ratas ▪ Perfil bajo ultrasónico de dos por dos, matriz basada en el "platillo" transductor. ▪ Exposición a ULTS durante 60 minutos (100 mW/cm²)
Glucosa [121]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel porcina ▪ ULTS de alta y baja frecuencia utilizados simultáneamente
Halcinonida [122]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ EC de piel de... ▪ Tratamientos con pre-ultrasonido y ultrasonido simultáneo (1 MHz, 1 W/cm²)
Acetato de hidrocortisona y Dexametasona [110]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Cerdos de Yucatán ▪ 1.5 W/cm², 1 MHz, 5 minutos
Fosfato sódico de dexametasona [111]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pacientes con osteoartritis de rodilla ▪ Longitudes de ULTS de 1 MHz frecuencia aplicada por 5 minutos
Acetonido de Triamcinolona [112]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de ratón ▪ Frecuencia (1.0, 3.0 MHz), intensidad (1.0, 2.5 W/cm²), y ciclo de trabajo (Modo continuo, pulso)
Digoxina [115]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de humano y ratones sin pelo ▪ Modo continuo a una intensidad de 1 y 3 W/cm² y una frecuencia de 3.3 MHz por 10 min
Nicotinato de metilo [116]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Voluntarios humanos sanos ▪ 3.0 MHz, 1.0 W/cm² continuo hasta por 5 min
Testosterona [117]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel abdominal de rata ▪ Potenciadores de la penetración fueron ácido oleico al 1% o dodecilamina al 1% fueron utilizados como potenciadores de la penetración
Hialuronico [118]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Un modelo animal de osteoartritis (conejos) ▪ 1 MHz, 400 mW/cm² el tratamiento se aplicó a la rodilla por 10 min
Calceína [119]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de rata sin pelo ▪ 41 kHz, 60-300 mW/cm²
Oligonucleotidos [120]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de humano ▪ 20 kHz, 2.4 W/cm²
Fentanilo y cafeína [121]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de humano y rata sin pelo ▪ 20 kHz ULTS aplicada a cada modo continuo y discontinuo y con una intensidad promedio de 2.5 W/cm²
Calcio [122]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ EC de ratones sin pelo ▪ 15 MHz

Panax notoginseng [123]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ratas Sprague-Dawley macho adultas, recibiendo la transección quirúrgica del ligamento colateral medial izquierdo ▪ Los tratamientos se iniciaron el día 3 después de la cirugía durante seis días por semana durante un período de dos semanas ▪ 4 min de pulso ULTS (1 MHz) a una intensidad de 0.5W/cm²
Lauril sulfato de sodio [133]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel porcina ▪ Plasma de acoplamiento inductivo y espectrometría de masas ▪ Frecuencia de 20 KHz e intensidad de 7.5 W/ cm²
Histamina [134]	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Piel de humano ▪ Tres tratamientos: (1) no ULTS; (2) ULTS 1 = 2.72 W/cm²; (3) ULTS 2 = 2.50 W/cm².

5.5.1 Anestésicos

La mayoría de los anestésicos locales tienen escasa penetración tópica en la piel. Wells et al. observaron un aumento en la concentración de lidocaína transmitida en tejidos subdérmicos de conejo cuando la aplicación tópica se siguió usando ULTS [79]. En un estudio de doble ciego, cruzado, controlado con vehículo, en voluntarios sanos, McElnay *et al.* [80] informaron que no hubo aumento en la absorción de la crema de lidocaína. Hay varias explicaciones para estos contrastantes resultados, entre las principales variables se incluyen las diferencias en las frecuencias ultrasónicas empleadas, la concentración del fármaco y la forma farmacéutica del vehículo utilizado.

Griffin y Touchstone [82] encontraron que la frecuencia de ULTS de 250 kHz inducía a la mayor penetración de lidocaína, mientras que 1000 kHz resultó consistente en la menor cantidad de cortisol recuperado. McElnay *et al.*, no precisaron por qué se eligió 870 kHz, una frecuencia cercana a 1000. Además, el método que McElnay *et al.*, utilizado para probar la absorción pudo no haber sido lo suficientemente sensible como para detectar diferencias en la absorción. Tachibana *et al.* [83] mostraron que el ULTS en combinación con una solución acuosa de aplicación tópica de lidocaína fue rápidamente efectivo para inducir un efecto anestésico en las patas de ratones sin pelo. La inmersión en lidocaína sin ULTS no produjo analgesia. De manera similar, el uso de ULTS sin lidocaína no tenía efectos anestésicos. Estos resultados difieren de

los de Williams [84], que utiliza una técnica eléctrica de percepción sensorial límite para estudiar la sonoforesis de benzocaína y dibucaína tópica. Con ULTS de baja intensidad ($0,25 \text{ W/cm}^2$) y una alta frecuencia (1,1 MHz), Williams no encontró ningún incremento detectable en la tasa de penetración del anestésico. En vista de las diferencias en las variables y métodos experimentales en estos estudios, se necesita más investigación para aclarar los factores que afectan la sonoforesis de anestésicos.

Los ULTS de baja frecuencia tienen un efecto significativo sobre la penetración transdérmica de fármacos de peso molecular alto. Sin embargo, la tasa de penetración en modo de pulsaciones es muy baja necesitando un tiempo considerable para aplicar el ULTS de 0,5 MHz, que es una frecuencia relativamente más alta en el intervalo de baja frecuencia, por lo que puede ser aplicado en alta intensidad en el modo continuo. Kim et al. [85] utilizaron un transductor para administrar un anestésico vía transdérmica en voluntarios sanos. El efecto anestésico se midió después de la administración de un placebo, clorhidrato de lidocaína y clorhidrato de lidocaína con 0,5 y 1,0 MHz de ULTS. En la anestesia superficial, el grupo de sonoforesis mostró un límite de dolor significativamente mayor que los otros grupos, pero no hubo diferencia significativa entre los grupos de sonoforesis de acuerdo con la frecuencia de ULTS. En la conducción de anestesia, el grupo de sonoforesis de 0,5 MHz mostró un cambio significativo en su límite del dolor y la amplitud del potencial de acción sensorial del nervio en comparación con los otros grupos. Aunque hay limitaciones en la aplicación de 0,5 MHz en ULTS en la sonoforesis para la conducción de anestesia usando clorhidrato de lidocaína para un bloqueo de los nervios, es más eficaz que la de 1 MHz, que es ampliamente utilizado en situaciones clínicas.

Con la ayuda de cultivos epiteliales celulares MDCK (Madin Darby Canine Kidney), Hehn *et al.* [86] desarrollaron un modelo para las investigaciones relacionadas con los efectos de la sonoforesis. La penetración de clorhidrato de procaína a través de las monocapas de células se examinó mientras se aplicó ULTS terapéutico simultáneamente. Se pudo demostrar que la penetración sigue una cinética de Higuchi.

La mezcla eutéctica de anestésicos locales (MEAL) se ha utilizado clínicamente para la anestesia, pero requiere al menos una hora para tomar efecto y carece de evaluación objetiva de la analgesia. Wu Yh *et al.* [87] propusieron que la sonoforesis podría reducir la duración de aparición del efecto de analgesia y ser evaluado por estudios de conducción sensoriales. Treinta ratas Wistar adultas fueron aleatorizadas para la realización del estudio. Estudios sensoriales de conducción del nervio de cola se realizaron antes y después del tratamiento cada 5 min durante al menos 60 min en todas las ratas. No hubo diferencia significativa entre el grupo control y el grupo MEAL tratamiento térmico. No hubo diferencia significativa entre los subgrupos de tratamiento por ultrasonido. Una examinación objetiva del efecto de la sonoforesis con ULTS permite observar la reducción del tiempo en el inicio de la analgesia de MEAL 60 min a menos de 20 min. Concluyendo que la Sonoforesis de fármacos analgésicos es potencialmente útil en el tratamiento del síndrome del túnel carpiano, extracción de dientes, y otras aplicaciones de la analgesia.

5.5.2 Fármacos analgésicos y antiinflamatorios

Meshali *et al.* [88] evaluaron los efectos de la intensidad, el modo y duración de la aplicación de ULTS sobre el transporte de tres medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) a través de una membrana de celulosa y de piel de conejo. El ibuprofeno, piroxicam y diclofenaco sódico se utilizaron como los fármacos modelos. El uso de ULTS tuvo un efecto significativo y positivo en el transporte de los fármacos modelo de los AINEs a través de la membrana de celulosa y la piel del conejo. El aumento de la intensidad ULTS de 0,5 a 3,0 W/cm² condujo a un aumento proporcional en el transporte del fármaco. El modo de ULTS continuo fue más efectivo en el transporte del fármaco mejorando al modo pulsado. Este estudio demostró el potencial terapéutico de ULTS en la administración transdérmica de los AINEs y el efecto sinérgico de la temperatura y parámetros operativos de ULTS en el transporte del fármaco.

El efecto de ULTS (1 MHz) en la absorción transdérmica de un ungüento de indometacina fue estudiado en ratas por Miyazaki *et al.* [89]. La energía de

ULTS fue suministrada en un intervalo de tiempo entre 5 y 20 min y en un rango de intensidades (0,25, 0,5, 0,75, y 1 W cm⁻²). El efecto pronunciado de ULTS sobre la absorción transdérmica de indometacina se observó en todos los niveles de energía ultrasónica estudiadas. Se encontró que la intensidad y el tiempo de aplicación juegan un papel importante en el sistema de suministro transdérmico sonoforetico de indometacina; 0,75 W/cm² mostró ser la intensidad más eficaz en la mejora de la absorción transdérmica de indometacina, mientras que los 10 minutos de tratamiento con ULTS fueron los más eficaces. Aun cuando la mayor penetración se observó a una intensidad de 0,75 W/cm²; se eligió la frecuencia de 0,5 W/cm² debido a que se prefiere porque intensidades menores e iguales a 0,5 W/cm² de ULTS durante 10 minutos no produjeron ningún aumento significativo en la temperatura de la piel ni tampoco tiene ningún efecto destructivo sobre la piel de la rata.

Tiwari *et al.* [90] estudiaron la influencia de ULTS en la absorción percutánea *in vitro* de ketorolaco trometamina a través de piel de rata. La sonicación se lleva a cabo con un modo continuo, a una intensidad de 1-3 W/cm² y una frecuencia de 1 MHz durante 30 min. Se observó un aumento significativo en la penetración de ketorolaco a través de piel de rata, con la sonicación aplicada a 3 W/cm² cuando se compara con la penetración en 1 y 2 W/cm². La penetración mejorada de ketorolaco a 3 W/cm² puede explicarse por la acción mecánica y / o térmica de las ondas ultrasónicas.

El pre tratamiento de la piel con d-limoneno al 5% en etanol durante 2 horas seguido de sonicación a 3 W/cm² (30 min.) aumentó significativamente la penetración de ketorolaco cuando se compara con flujo pasivo con o sin pre tratamiento con promotor químico.

El objetivo de Yang *et al.* [91] fue determinar si el ketorolaco trometamina (KT), solución en gel podría ser administrado *in vivo* a través de sonoforesis utilizando impulsos ultrasónicos mediante el examen de sus efectos antihiperálgicos y antiinflamatorios en un modelo de inflamación en rata carragenina. Se determinaron los cambios en la hiperálgia mecánica y térmica, reflejo flexor nociceptivo (RFN), así como los cambios de hinchamiento. De acuerdo con las pruebas antihiperálgica y antiinflamatoria,

que se utilizaron para determinar el cambio en el límite del dolor, RFN e hinchazón mostraron que el grupo que recibió la administración sonoforetica transdérmica de KT exhibió efectos contrarios a la hiperalgesia y anti-inflamatorios significativamente más notables que los tratados con la simple aplicación de un gel de KT. Estos hallazgos sugieren que la administración transdérmica de un gel de KT utilizando sonoforesis, utilizando pulsaciones de ULTS podría ser útil para tratar la inflamación aguda y el dolor.

Para comparar la eficacia del alivio del dolor en el síndrome de la artrosis en la administración convencional y mediante sonoforesis de ibuprofeno (Nurofen gel), Serikov *et al.* [92] administraron un gel al 5% de Nurofen (ibuprofeno) mediante sonoforesis a las articulaciones afectadas en 20 pacientes del grupo de estudio. El grupo control recibió sólo tratamiento local con Nurofen gel al 5% en las articulaciones afectadas tres veces al día. El curso del síndrome de dolor se evaluó mediante la escala analógica visual (EAV). Se realizaron el monitoreo de los efectos secundarios, el recuento total de la sangre, bioquímica sanguínea y análisis de orina. Se registró una atenuación significativa del dolor por EAV en reposo, en la palpación y en movimiento, en ambos grupos. A pesar de la intensificación del dolor inicial en la sonoforesis, se encontró una positiva disminución del dolor en el grupo de estudio. Por lo tanto, su estudio apoya la eficacia transcutánea de la analgesia de Nurofen gel al 5% en la artrosis y el aumento de la eficacia en el uso combinado de ULTS y este medicamento en sonoforesis.

Cabak *et al.* [93] examinaron los efectos terapéuticos de la sonoforesis con ketoprofeno en forma de gel en pacientes con entesopatía del codo. La terapia ultrasónica y sonoforesis tienen su principal aplicación en la terapia física de este trastorno. El objetivo principal de Cabak *et al.*, fue evaluar la eficacia de la sonoforesis. El grupo de investigación consistió en 19 pacientes diagnosticados con entesopatía del epicóndilo lateral y medial. En el análisis estadístico que incluyó a 28 codos tratados con sonoforesis. Los efectos de la terapia se compararon con un grupo de control de 20 pacientes que fueron tratados con terapia de ULTS solamente. La serie terapéutica consistió de 10 tratamientos, utilizando el modo de pulso de ULTS y una intensidad de $0,8 \text{ W/cm}^2$ en ambos grupos.

El examen clínico y las entrevistas consistieron de pruebas específicas, y se obtuvieron por separado. Los efectos positivos del uso de la sonoforesis utilizando un gel con ketoprofeno farmacológicamente, demostraron ser altamente significativos en las dos evaluaciones, objetiva y subjetiva. Los síntomas de dolor en el codo fueron resueltos en la mayoría de los pacientes. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el uso de la sonoforesis y la aplicación del gel sin uso de ULTS. Sus resultados apoyan la aplicación de sonoforesis con ketoprofeno en el tratamiento de la epicondilitis.

Un estudio cuantitativo de diclofenaco sódico (Voltaren Emulgel, Novartis) por sonoforesis se llevó a cabo en humanos por Rosim *et al.* [94] catorce voluntarios humanos sanos fueron sometidos a irradiación ultrasónica en dos áreas de 225 cm² en el dorso (grupo A), seguido por la aplicación del medicamento en gel, las concentraciones plasmáticas de diclofenaco fueron medidas a 1, 2 y 3 h por HPLC. El mismo procedimiento se repitió un mes más tarde con los mismos voluntarios, pero con el equipo de ULTS apagado para el grupo control (grupo B). La concentración plasmática de diclofenaco fue significativamente mayor en el grupo A que en el grupo B en 1 h (0,0987 µg/mL frente a 0,0389 µg/mL) y 2 h (0,0724 µg/mL frente a 0,0529 µg/mL), pero no a las 3 h (0,0864 µg/mL frente a 0,0683 µg/mL). Los autores concluyen que la irradiación ultrasónica terapéutica aplicada previamente mejora la penetración percutánea del gel tópico de diclofenaco, aunque el mecanismo no está determinado aún.

El propósito del estudio de Hippus *et al.* [95] fue investigar la penetración *in vitro* y el transporte *in vivo* de ácido flufenámico usando ULTS. Ellos diseñaron un sistema sonoforético de administración de fármacos para investigar la influencia de ULTS sobre el transporte transmembrana de diferentes fármacos. Se investigó la absorción del ácido flufenámico en un medio amortiguado en dependencia de la energía ultrasónica y tiempo aplicación. La energía ultrasónica fue suministrada por entre 5 y 30 min a un rango de intensidades de hasta 1,5 W/cm², los niveles de energía comúnmente utilizados para la finalidad terapéutica. El efecto pronunciado de ULTS sobre la absorción transmembrana del fármaco se observó en todos los niveles de energía ultrasónica estudiados. El tiempo de aplicación resultó jugar un papel

importante en el suministro y transporte del fármaco. Dependiendo del tiempo, se observó un aumento de la temperatura de hasta 4,5 ° C. La mayor penetración se observó a una intensidad de 1,0 W/cm² después de 30 min. Estos resultados no fueron significativamente diferentes de las concentraciones medidas después de 30 min y 0,5 y 1,5 W/cm². Al parecer el incremento en la concentración del fármaco es causado por efectos de la temperatura y por la variación en la administración de la membrana en dependencia de la temperatura. Usando este modelo *in vitro*, observaron que es posible comparar la penetración transdérmica y la absorción del ungüento comercial de ácido flufenámico en voluntarios.

Sarhedd *et al.* [97] desarrollaron un protocolo optimizado para el estudio de la sonoforesis en la administración transdérmica de fármacos *in vitro*. Con este fin, la cafeína fue seleccionada como un fármaco modelo hidrofílico en la piel porcina utilizada como modelo de barrera. Tras la validación acústica, el ULTS a frecuencia de 20 KHz se aplicó para diferentes duraciones (rango: 5 s a 10 min), utilizando tres modos diferentes (10%, 33% o 100% de ciclos de trabajo) y dos procedimientos de sonicación diferentes (pre-tratamiento ó tratamiento simultáneo con la deposición del fármaco). Cada protocolo de ultrasonidos se evaluó en términos de su calefacción y la mejora en los efectos de flujo de la cafeína. Se encontró que el mejor régimen fue un concurrente de 5 min, con un ciclo de trabajo al 10% y una intensidad de 0.37 W/cm². Con el uso del tratamiento de ULTS simultaneo la deposición de la cafeína fue superior que con el uso de ULTS pre-tratamiento.

Herwadkar *et al.* [98] probaron la SBF de 20 kHz para la entrega de ketoprofeno dentro de y a través de la piel. Estudios de permeación *in vitro* se llevaron a cabo sobre la piel de rata sin pelo durante un período de 24 horas utilizando celdas de difusión tipo Franz después de lo cual, las muestras de piel se sometieron a extracción para cuantificar la cantidad de fármaco presente en la piel. Los parámetros como el tiempo de aplicación de ULTS, ciclo medio de acoplamiento y la distancia del cabezal del ultrasonido sobre la piel han sido optimizados. La pérdida de agua transepidermica (PATE) se midió para indicar el alcance de la sonoforesis a la siguiente barrera de interrupción. La microscopía confocal se utiliza para visualizar la penetración del colorante a

través de la piel tratada con sonoforesis. La aplicación de ULTS mejora significativamente la permeación de ketoprofeno ($74.87 \pm 5.27 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) comparada con la administración pasiva ($491.37 \pm 48.78 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) para sonoforesis. Los niveles del medicamento en las capas de la piel aumentaron de $34.69 \pm 7.25 \mu\text{g}$ después de permeación pasiva a $212.62 \pm 45.69 \mu\text{g}$ mediante sonoforesis. La PATE aumentó de 31.6 ± 0.02 (difusión pasiva) a 69.5 ± 12.60 (Sonoforesis) indicando una alteración en las propiedades de la barrera. Demostrando así que la SBF con parámetros optimizados de ULTS puede ser utilizada activamente para mejorar eficazmente la entrega transdérmica y tópica de ketoprofeno.

La mejora en la entrega de formulaciones de aplicación tópica después de la aplicación manual, fue la demostración realizada por Duan *et al.* [96], ellos caracterizaron, los micro canales creados por micro agujas poliméricas de clorhidrato de lidocaína y succinato sódico de metilprednisolona (SSMP). Aplicaron un sistema micro estructurado transdérmico de matriz 3M (MTS) a cerdos para demostrar la fiabilidad y la profundidad de penetración, así como también la durabilidad de las estructuras para repetir la aplicación y fuerza. Los niveles tisulares de la lidocaína y SSMP tras la aplicación tópica, con y sin tratamiento previo de micro agujas se determinaron por análisis de HPLC-MS después de la digestión de las biopsias. Casi todas las micro agujas penetran el EC después de la aplicación de fuerza con la mano. La profundidad de penetración varía de $<100 \mu\text{m}$ a cerca de 150 micras, dependiendo de la aplicación de la fuerza y la firmeza del tejido subyacente. Las matrices mostraron una excelente durabilidad a repetirse en la aplicación *in vivo*, con menos del 5% de las estructuras, evidenciando incluso una flexión mínima después de 16 aplicaciones. Bajo la fuerza extrema contra la superficie rígida, las micro agujas se doblan pero no se rompen. Una formulación de clorhidrato de lidocaína aplicada tópicamente *in vivo* mostró un aumento $\sim 340\%$ en los niveles tisulares locales cuando las matrices MTS se utilizaron para pre-tratar dos veces la piel antes de la aplicación del fármaco. Los autores concluyen que el uso de la MTS proporciona una penetración repetible y robusta del EC y la epidermis, mejorando la entrega de algunas formulaciones, tales como el clorhidrato de lidocaína.

5.5.3 Antibióticos

Rornanenko y Araviiskii [99] estudiaron el efecto del ULTS en la aplicación tópica de un ungüento de anfotericina B en conejillos de indias. Se encontró que el contenido de la anfotericina B en la piel y tejidos subcutáneos grasos fue mucho mayor cuando el fármaco se administra en presencia de ULTS. Los niveles más altos producidos de la administración de fármacos incluyeron tratamiento preliminar con dimetilsulfóxido en combinación con ULTS.

Ragelis *et al.* [100] realizaron un total de 451 experimentos (130 con el método de electroforesis y 321 con el método de sonoforesis) en conejos sanos de la misma especie, edad, peso y sexo con el uso del aparato de galvanización "Potok-1" y aparatos terapéuticos ultrasónicos "VTP-1". Se evaluaron los niveles de penetración de tetraciclina en los tejidos después de su administración con los métodos modificados de electroforesis y sonoforesis. Se estudió la dependencia del proceso sobre la densidad de corriente, la intensidad ultrasónica, tiempo y concentración del antibiótico. La eficacia de los métodos electro y sonoforesis de rutina se compararon con la de los modificados. Se encontró que el nivel tisular de tetraciclina administrado con los métodos modificados de electro y sonoforesis aumenta con el aumento en la densidad de corriente o intensidad ultrasónica, el tiempo del procedimiento y la concentración de antibiótico. Cuando la tetraciclina se administró con el método modificado de electroforesis sus niveles fueron más altos en la piel, menor en los músculos y mínimo en los huesos. Con el uso del método modificado de sonoforesis los niveles más altos se encontraban en la piel, el más bajo en los huesos y el mínimo en los músculos.

5.5.4 Fármacos inmunosupresores

Liu *et al.* [101] investigaron el transporte tópico de ciclosporina A usando ULTS de baja frecuencia en piel de rata. Se realizaron estudios *in vitro* de intensidad y tiempo de exposición sobre la deposición de la ciclosporina A dentro de la piel mediante sonoforesis. El uso de ULTS de baja frecuencia aumentó la cantidad

de ciclosporina A retenida en la piel siete veces más con respecto a la difusión pasiva. Además, también evaluaron el efecto sinérgico de ULTS y otros promotores, tales como potenciadores químicos y electroporación en la administración de fármacos tópicos de ciclosporina A. Se encontró que la eficacia de ULTS de baja frecuencia para mejorar la aplicación tópica podría ser aún mayor por el tratamiento previo de la piel con potenciadores químicos, tales como Azone[®] y lauril sulfato de sodio (LSS). Mientras tanto sólo una pequeña cantidad fue vista a través de la piel completa en el compartimiento receptor. El tratamiento trimodal que consta de un pre tratamiento con Azone[®] + ULTS en combinación seguida de electroporación no fue eficaz en la mejora de la administración tópica de ciclosporina A.

La combinación de ULTS de baja frecuencia y potenciadores químicos podría ayudar significativamente para optimizar la focalización del fármaco sin un aumento concomitante de los efectos secundarios sistémicos.

Santoianni *et al.* [102] evaluaron la eficacia de la sonoforesis de baja frecuencia (SBF) a 25KHz producida por un aparato sonicador para el tratamiento de la alopecia areata, melasma y lentigo solar. Treinta pacientes afectados por la alopecia areata se trataron por aplicación de la solución de metilprednisolona o ciclosporina seguido por la SBF. En un estudio de 48 mujeres con melasma y 48 con lentigo solar se trataron por emulsión despigmentante y aplicación de SBF. Para la alopecia areata después de 36 aplicaciones con SBF y 3 meses de tratamiento los resultados fueron: 57 por ciento regeneración parcial y 29 por ciento total con metilprednisolona; y el 33 por ciento de la regeneración parcial y 34 por ciento total cuando se utilizó ciclosporina. Para el melasma y lentigo solar, cuando se aplicó el fármaco seguido por la SBF, los resultados fueron después de tres meses y dos veces a la semana de aplicación: 75 por ciento despigmentación completa y 25 por ciento parcial para el melasma, el 43 por ciento de regresión total y el 57 por ciento parcial para el lentigo solar. Este fue el primer informe de sonoforesis a una frecuencia de 25 KHz en dermatocosmetología. El estudio demostró que la SBF, una técnica no invasiva, mejoró la penetración de agentes tópicos, con efectos obtenidos a nivel de la epidermis, la dermis y apéndices (administración intradérmica), dando mejores resultados en el tratamiento cosmético de algunas enfermedades de la piel.

5.5.5 Agentes contra el cáncer

Aoi *et al.* [103] evaluaron la aplicación de un método que utiliza ULTS y nano/microburbujas (NBs) para la terapia génica contra el cáncer utilizando la terapia de activación profármaco. ULTS en modo de pulsos de baja intensidad (1 MHz; 3 W/cm²) y NBs. Se utilizaron genes *in vitro* para la transducción del herpes simple timidina kinasa (HSVtk), dando lugar a la transferencia de genes. La adición de ganciclovir (GCV) a las células transducidas llevó a HSVtk/GCV-dependiente de la muerte celular mediada por apoptosis. Esta tecnología se evaluó *in vivo*, utilizando ratones portadores de tumores subcutáneos (1 MHz, 3,0 W/cm²). La transferencia de genes en el tumor, medida por la actividad de la luciferasa, fue transitoria, con un pico de expresión de 24 horas después de la transducción, y disminuyó a las 48 h, lo que demuestra la naturaleza transitoria de ULTS/NB-mediada por la transferencia de genes.

El potencial terapéutico de este método se evaluó a través de la administración repetida de genes intratumorales mediados mediante el uso de ULTS/NB para la transferencia del gen HSVtk, seguido por la administración recurrente de GCV, con dos diferentes protocolos de tratamiento experimental. En ambos casos, una reducción drástica del tamaño del tumor en un factor de cuatro fue observada. En conjunto, estos datos demuestran el potencial de ULTS/NB como un nuevo método físico de entrega de genes para la terapia génica contra el cáncer.

Meidán *et al.* [104] investigaron el transporte de difusión a través de la piel y en la espalda de un gel de 5-fluorouracilo en acoplamiento de calor y con el agente promotor de la penetración transdérmica: Azona[®] y bajo la influencia de ULTS. Se investigó el efecto del ULTS sobre la penetración de 5-fluorouracilo a través de piel de rata se utilizaron celdas de difusión modificadas utilizando un generador ultrasónico comercial que se calibró con un hidrófono de membrana bilaminar. Mediciones ultrasónicas dosimétricas demostraron que la membrana de la piel fue sometida a un campo de onda compleja e impredecible que indujo a un calentamiento fisiológicamente aceptable del tejido. Sorprendentemente, la ultrasonificación produjo una disminución en la

penetración percutánea del fármaco. Estudios de cuantificación indican que este efecto fue debido a la pérdida difusiva de la sustancia hidrófila 5-fluorouracilo de la superficie de la piel en el volumen superpuesto de acoplamiento de gel. Este fenómeno podría ser duplicado por la aplicación de calentamiento conductivo, lo que indica que los efectos térmicos de ULTS fueron probablemente responsables de la difusión acelerada de 5-fluorouracilo a través del gel. Este estudio demuestra cómo el diseño de la formulación del vehículo donante/gel de acoplamiento pueden afectar radicalmente la eficacia terapéutica en los sistemas sonoforéticos.

5.5.6 Insulina

Platillos ultrasónicos de matrices circulares han demostrado ser eficaces en la administración de niveles terapéuticos de la insulina en ratas, conejos y cerdos. Para mejorar la eficiencia de suministro, un diseño de platillo rectangular se diseñó con el fin de lograr un campo más amplio de intensidad espacial sin aumentar el tamaño del dispositivo o la intensidad. Luis *et al.* [105] con una intensidad similar (50 mW/cm^2), evaluaron si la matriz de plato rectangular 3x1, podría ser más efectiva que la matriz circular 3x3 para la reducción de la glucosa en conejos con hiperglucemia. Llevaron a cabo experimentos con conejos utilizando tres grupos: control no-sonicado, exposición ultrasónica utilizando una matriz de platillo circular, y la exposición ultrasónica utilizando una matriz de platillo rectangular. Los conejos fueron anestesiados y un depósito hermético que contenía la insulina se fijó en el muslo de conejo. Al comienzo del experimento y cada 15 minutos durante 90 minutos se determinó el nivel de glucosa en sangre. Para la comparación entre conejos individuales, el nivel absoluto se normalizó restando la línea basal con el fin de llegar al cambio en el nivel de glucosa.

Para el grupo control, el nivel de glucosa normalizado aumentó a $80,0 \pm 28,8$ mg / dl. Utilizando la matriz circular, el nivel de glucosa disminuyó a $-146,7 \pm 17,8$ mg / dl a los 90 min. Sin embargo, utilizando la matriz de plato rectangular, la disminución de la glucosa fue más rápida y con un nivel de $-200,8 \pm 5,9$ mg / dl después de 90 minutos. Estos resultados indican la viabilidad de la matriz de

plátillo rectangular como un dispositivo mejorado para la administración sonoforética de fármacos.

Estudios actuales demostraron que la administración transdérmica de fármacos mediada por ULTS ofrece una posibilidad prometedora para la administración de fármacos al ser no invasiva. El propósito de Lee *et al.* [106] radicó en la administración transdérmica ultrasónica de la insulina *in vivo* usando conejos, con una novedosa matriz ultrasónica, de dos por dos basada en el transductor de plátillos. Como un dispositivo práctico, el conjunto de plátillos ($f = 20$ kHz) fue de $37 \times 37 \times 7$ mm³ en tamaño y pesó menos de 22 g. Utilizando la misma matriz en ratas hiperglucémicas, sus experimentos demostraron que la glucosa en la sangre podría disminuir $233,3 \pm 22,2$ mg / dL en 90 minutos durante la exposición ultrasónica pulsada por 5 minutos. Con una intensidad similar (100 mW/cm², 20% ciclo de trabajo), determinaron si el mismo efecto podía lograrse con los conejos. Los experimentos se realizaron en conejos blancos de Nueva Zelanda divididos en tres grupos: dos controles y uno de insulina con exposición ultrasónica. Al comienzo del experimento y cada 15 minutos durante 90 minutos, muestras de sangre de 0.3 mL se recolectaron de la vena de la oreja para determinar el nivel de glucosa en sangre utilizando un sistema de monitorización de la glucosa. Para ambos controles, ULTS sin insulina y ULTS solución salina, el nivel de glucosa en la sangre varía de la línea de base inicial de aproximadamente 75 mg / dL. Sin embargo, para el grupo ULTS-insulina, el nivel de glucosa disminuyó a $-132,6 \pm 35,7$ mg / dL a partir de la línea basal inicial en 60 minutos. Incluso después la matriz y el depósito de insulina fueron retirados, el nivel de glucosa en la sangre del grupo ULTS-insulina continuo disminuyendo a $-208,1 \pm 29$ mg / dL de la línea basal inicial. Estos resultados indican la posibilidad de utilizar una matriz de plátillos ligeros a un bajo costo para mejorar la administración transdérmica de la insulina utilizando ULTS.

Smith *et al.* [107] demostraron la viabilidad de la liberación transdérmica de insulina mediada por ULTS *in vivo* en ratas, con una novedosa matriz ultrasónica de dos por dos basada en el "plato" transductor. Como un dispositivo práctico, la matriz de plátillo ($f = 20$ kHz) fue de $37 \times 37 \times 7$ mm de tamaño y un peso menor de 22 g. 20 ratas Sprague-Dawley (350 a 450 g) se dividieron en cuatro grupos, dos controles y dos sometidos a ULTS, con cinco

ratas en cada grupo. Las ratas fueron anestesiadas y afeitadas, un depósito hermético, que contenía la insulina o solución salina, fue sellado contra el abdomen de la rata y la matriz de ULTS. Al comienzo del experimento y cada 30 minutos durante 90 minutos, 0,3 mL de sangre se colectaron de la vena yugular para determinar el nivel de glucosa en sangre.

Para la comparación entre las ratas, el cambio en el nivel de glucosa por cada rata se normalizaron a una línea basal (es decir, 0 mg / dL). El primer grupo control utilizando la insulina en el depósito sin ULTS y el segundo grupo control recibió una solución salina en el depósito con ULTS operando a I (SPTP) = 100 mW/cm^2) durante 60 minutos. Para los experimentos, el tercer grupo empleó insulina con una exposición al ULTS durante 60 minutos (I (SPTP) = 100 mW/cm^2), mientras que el último grupo utiliza insulina con ULTS que operó con una exposición de 20 min (I (SPTP) = 100 mW / cm^2) para examinar los efectos del tiempo en la administración. Para el grupo de exposición de 60 minutos de ULTS, el nivel de glucosa disminuyó desde la línea base hasta $-267,5 \pm 61,9 \text{ mg / dL}$ en 1 h. Además, para estudiar los efectos de tiempo de exposición de ULTS en la administración de insulina, el grupo 20-min tenía esencialmente el mismo resultado que la exposición 60-min a una intensidad similar, lo que indica que el tiempo de exposición no necesita ser tan largo para la administración.

Los UBF han sido estudiados extensamente debido a su capacidad para mejorar la permeabilidad de la piel. A pesar de este esfuerzo, las mejoras en la mejora de la eficacia de los tratamientos de ULTS transdérmicos han sido limitados. En la actualidad, cuando una mayor permeabilidad en la piel es deseada a una frecuencia dada, uno está limitado a aumentar la intensidad o la duración del tratamiento de ULTS, que conlleva el riesgo de efectos secundarios térmicos. Por lo tanto, la capacidad de aumentar la permeabilidad de la piel sin aumentar la intensidad del ULTS o el tiempo de tratamiento representaría un resultado significativo y deseable; Schoellhammer *et al.* [108] plantearon la hipótesis de que la aplicación simultánea de dos frecuencias de ULTS distintas en el rango de 20 KHz a 3 MHz, pueden mejorar la eficacia de la exposición a ULTS. Experimentos de lámina de aluminio por picadura mostraron un aumento significativo en la actividad cavitacional cuando dos

frecuencias se aplicaron en lugar de sólo una frecuencia baja. Además, en pruebas *in vitro* con piel porcina indica que la permeabilidad y la formación resultante de regiones localizadas de transporte se incrementan considerablemente cuando dos frecuencias (alta y baja) se utilizan simultáneamente. Estos resultados se corroboraron con experimentos transdérmicos de flujo con glucosa (180 Da) e insulina (5000 Da), que mostraron una mayor entrega permeante tanto en la piel como a través de la piel, usando la doble frecuencia en la piel tratada.

5.4.7 Corticosteroides

Saliba *et al.* [109] llevaron a cabo un análisis de varianza de 2-vías de medidas repetidas revelando un efecto significativo para el tratamiento de ULTS. La tasa de aparición y la concentración total de la dexametasona en el suero fueron mayores en los sujetos después de sonoforesis que después de la administración sin ULTS. El grupo de tratamiento sin ULTS sólo tenía trazas de dexametasona en el suero, lo que indica que la absorción del fármaco fue insignificante sin la energía ultrasónica. El tamaño del efecto de las condiciones de sonoforesis cayó dentro de un intervalo de confianza del 95% después de la medición basal.

El propósito de Byl *et al.* [110] fue determinar si el ULTS mejora la difusión de los corticosteroides aplicados transdérmicamente. La difusión se midió en segundo lugar en términos de depósito de colágeno [estimado por los niveles de hidroxiprolina en tubo de politetrafluoroetileno (PTFEe)] y la actividad celular (medido por los niveles de ADN). Dieciséis piezas de tubo de PTFEe se implantaron subcutáneamente en el dorso de cinco mini cerdos de Yucatán. Los pares de tubos fueron asignados al azar a un control simulado o grupos de tratamiento. En los tubos de PTFEe vinculados en los grupos de tratamiento, una sola aplicación transdérmica de acetato de hidrocortisona (HC) o dexametasona (DX) se aplicó a la piel por frotamiento, con el fármaco mezclado en el gel acústico (1,5 W/cm², 1 MHz , 5 minutos), o inyectando el fármaco en el tubo.

Cuatro tubos de PTFEe adicionales se colocaron en las extremidades, dos submusculares y dos subtendinosas, con asignación al azar a un control simulado o un grupo de tratamiento con sonicación DX. Al final de una semana, los niveles medios de hidroxiprolina en los cerdos fueron menores de lo esperado (media = 9,3 µg / cm en comparación con una media esperada = 22,2 µg / cm). Comparando el grupo control y aplicaciones de la piel con los grupos de tratamiento inyectado y sonicación, la hidroxiprolina se encontró que era 50% menor en los sitios de DX-inyectados, DX sonicación, y HC-inyectado. Sin embargo, estadísticamente no hubo diferencias significativas en el ADN o los niveles de hidroxiprolina entre el control de HC subcutánea y los grupos de tratamiento o la submuscular DX y grupos subtendinosos. Hubo un efecto significativo del grupo en los niveles de hidroxiprolina en el grupo de DX-tratada, con tubos de PTFEe implantados por vía subcutánea ($p = 0,001$). Las pruebas posteriores revelaron una diferencia significativa entre la piel frotada y los grupos control juntos en comparación con los grupos DX inyectados y DX sonicación juntos ($p = 0,001$). Estos resultados indican que los efectos de DX sonoforesis puede medirse en términos de la deposición de colágeno reducida tan abajo como el tejido subcutáneo, pero no en el tejido submuscular o subtendinoso. Sin embargo, una sola aplicación no puede tener un efecto medible sobre la actividad celular después de 7 días de curación. El nivel excepcionalmente bajo de hidroxiprolina en todos los grupos sugiere que la sonoforesis con esteroides puede haber tenido un efecto sistémico, así como un efecto local.

Muchas de las opciones de tratamiento, incluidas las medidas no farmacológicas y farmacológicas, han sido recomendadas en el manejo de la osteoartritis (OA). Dentro del enfoque no farmacológico esta la fisioterapia, que involucra el uso de medidas físicas como, terapia de calor, estimulación eléctrica, ULTS terapéuticos, iontoforesis y sonoforesis. El estudio de Akinbo *et al.* [111] fue diseñado para comparar la eficacia de la sonoforesis (SON) de fosfato sódico de dexametasona (F-DEX) con terapia de iontoforesis (ION) de F-DEX al 0,4% en el tratamiento de los pacientes con OA de rodilla. Cincuenta pacientes con una edad media de 53.6 ± 8.9 años fueron asignados aleatoriamente a los grupos de SON o ION con 25 pacientes en cada grupo.

Ondas ultrasónicas de 1 MHz de frecuencia se aplicaron durante 5 minutos a la rodilla dañada, así también se usó corriente directa durante 10 minutos durante un periodo de tratamiento de 10 sesiones. Se utilizaron los índices de puntuaciones de la osteoartritis Western Ontario y la Universidad McMaster (WOMAC), y el rango de movimiento de la rodilla (RMR) a 20 metros en tiempo ambulatorio para evaluar el antes y después del tratamiento, como medidas de resultado

Al final de dos semanas, se observó una mejora significativa en las puntuaciones totales WOMAC en 15 (60%) y 16 (64%) pacientes en los grupos SON e ION respectivamente, indicando que no hay diferencia significativa en la tasa de mejoría. Veinte metros de tiempo ambulatorio y rango de movimiento de la rodilla también mejoró significativamente en ambos grupos, sin embargo, estas variables no mostraron diferencias significativas entre los dos grupos.

Ambas modalidades terapéuticas son eficaces y generalmente bien toleradas después de 10 sesiones de tratamiento. La sonoforesis de F-DEX no fue superior a iontoforesis F-DEX en el tratamiento de pacientes con OA de la rodilla.

El acetónido de triamcinolona (AT) es un corticosteroide que se utiliza en el tratamiento sistémico y tópico de muchas enfermedades inflamatorias. En este estudio, Yang *et al.* [112] diseñaron y evaluaron un sistema sonofórico de suministro de fármacos para mejorar la permeabilidad AT y la influencia de ULTS. Con el fin de establecer el sistema de administración transdérmica para AT, se preparó un gel hidrofílico de carbopol que contiene AT. Un estudio de penetración a través de la piel del ratón se realizó a 37 ° C utilizando celdas de difusión de Franz, y el tratamiento de ULTS se llevó a cabo durante 10 h. El nivel de penetración AT a través de la piel se evaluó en diferentes condiciones de ULTS incluyendo la frecuencia (1,0, 3,0 MHz), la intensidad (1,0, 2,5 W/cm²) y ciclo de trabajo (modo continuo o pulso) utilizando un gel de AT al 0,5%. La mayor penetración se observó en las condiciones de tratamiento de ULTS de baja frecuencia, alta intensidad y en modo continuo.

En fisioterapia la sonoforesis se aplica a la piel a través de dos procedimientos distintos: (1) el procedimiento de pre-tratamiento en el que se trata la piel con la

irradiación de ultrasonido antes de la aplicación del fármaco y (2) un tratamiento de modo simultáneo, donde se trata la piel durante la aplicación de la sustancia farmacológica con ayuda de ULTS; el objetivo del estudio de Clijsen *et al.* [113] fue comparar la biodisponibilidad de la halcinonida en el EC para comparar el pre-tratamiento de ULTS vs el método de tratamiento simultáneo. El efecto del tratamiento con pre-ultrasonido y ultrasonido simultáneo (1 MHz, 1 W / cm²) se evaluó sobre la respuesta de halcinonida usando colorimetría triestímulo 2 h después de la aplicación inicial.

Dentro del periodo de evaluación, sólo el ULTS de método de pre-tratamiento resultó con una respuesta significativa, lo que les permitió observar la influencia en la disponibilidad y el proceso de penetración percutánea al momento de la aplicación de los ULTS para estimar el efecto de la mejora en la administración.

Los esteroides tópicos son eficientes en el potencial de la vasoconstricción, que está relacionada con su actividad anti-inflamatoria. Maruani *et al.* [114] desarrollaron un estudio piloto, ciego, aleatorizado, controlado, para evaluar de forma sencilla la eficacia clínica de la sonoforesis en el aumento de la vasoconstricción mediante la mejora de la penetración transdérmica de esteroides tópicos en la piel humana. Quince sujetos fueron incluidos. Durante el estudio tres zonas circulares fueron delimitadas en cada uno de los antebrazos de los sujetos: la zona 1 (derecha e izquierda) recibió esteroides tópicos con 1-h de oclusión, la zona 2 con 2-h de oclusión y la zona 3 con masaje; los antebrazos fueron asignados al azar para someterse a ULTS, primero utilizando una sonda de 36 KHz entregado en un modo pulsado (2s encendido/5s apagado), durante 5 min, con una intensidad ultrasónica de 2.72 W/cm² o sin ULTS. Se utilizó 17-valerato de betametasona en crema como esteroide tópico. El resultado primario fue la diferencia de color en la piel de los antebrazos (aumento de blancura que refleja la intensidad de la vasoconstricción) medidos por 2 puntuaciones: los valores obtenidos por un cromámetro (cuanto más alto sea el valor, más blanca la piel) y un puntaje clínico visual. Las mediciones fueron tomadas por un dermatólogo. La vasoconstricción fue significativamente mayor con el esteroide tópico aplicado después del ULTS, especialmente en la zona 2, que sin ULTS; la

vasoconstricción se incrementó a 1, 2, 3, 4 y 6 h y desaparecieron a las 24 h. Además, 2-h de oclusión dio una puntuación más alta que la vasoconstricción obtenida con 1-h de oclusión o masaje solo, aunque el ULTS se aplicara o no. La mayor permeabilidad en la piel se observó con el uso de SBF junto con 2-h de oclusión de manera sinérgica aumentando así, la eficacia de los esteroides tópicos.

5.5.8 Cardiotónicos

Machet *et al.* [115] estudiaron la sonoforesis de la digoxina *in vitro* a través de la piel humana y la piel del ratón sin pelo. La sonicación se llevó a cabo de modo continuo a una intensidad de 1 y 3 W/cm² y una frecuencia de 3,3 MHz durante 10 min. La sonicación a 3 W/cm² aumentó significativamente la absorción de digoxina a través de la piel del ratón. La penetración percutánea no aumentó utilizando una intensidad de 1 W / cm² bajo las mismas condiciones experimentales. El incremento en la penetración de digoxina en 3W/cm² puede ser explicada por la acción mecánica y/o térmica de ondas ultrasónicas. La simulación térmica de la resistencia eléctrica aumento el flujo de digoxina en cantidades comparables a los obtenidos por sonicación a 3 W/cm². No hubo aumento de la absorción de digoxina a través de la piel humana por ULTS, probablemente debido a la retención dérmica de este fármaco lipofídico.

5.5.9 Vasodilatadores

McElnay *et al.* [116] investigó la penetración en la piel del nicotinato de metilo con efecto de potenciación del ULTS en 10 voluntarios sanos en un ensayo clínico doble ciego, cruzado, controlado con placebo. Cada tratamiento consistió en la aplicación del masaje ultrasónico (3,0 MHz, 1,0 W/cm² salida continua) o masaje con placebo (0 MHz) durante 5 min para los antebrazos de los voluntarios, seguido por una aplicación estandarizada de nicotinato de metilo, a intervalos de 15 segundos, 1 minuto, y 2 minutos después del masaje.

La absorción percutánea de nicotinato de metilo se monitorea por medio de un velocímetro de láser Doppler. El tratamiento de ULTS aplicado antes de nicotinato de metilo condujo a una mayor absorción percutánea del fármaco, por ejemplo, datos de tratamiento de ULTS contra los datos de control a 2 minutos mostraron aumentos significativos en el pico del flujo sanguíneo ($125,8 \pm 12,0$ frente a $75,3 \pm 10,4\%$ del flujo) y en el ABC para el flujo de sangre ($2.630,3 \pm 387,5$ contra $1567,6 \pm 183,5\%$ de flujo.min). Los resultados de este estudio sugieren que el ULTS afecta a la estructura de la piel para ofrecer una mejor penetración. Este hallazgo es consistente con la hipótesis propuesta de que la sonoforesis actúa por desorden de los lípidos estructurados en el EC.

5.5.10 Hormonas

El-Kamel *et al.* [117] investigaron el efecto de potenciadores de la penetración y la aplicación de sonoforesis de baja frecuencia (SBF) y el ULTS de alta frecuencia (SAF) sobre la penetración transdérmica de la testosterona (PT) después de la aplicación de micropartículas sólidas lipídicas de testosterona (MSL). Las formulaciones de MSL contenían el 10% de compritol y 5 mg de PT/g, los experimentos de penetración se realizaron con celdas de difusión Franz y piel abdominal de la rata. Los promotores de penetración examinados fueron el ácido oleico (AcO) al 1% o dodecilamina (DA) al 1%. SAF (1 MHz) se aplicó en un modo continuo durante 1 hora a la intensidad de $0,5 \text{ W/cm}^2$. Se examinaron diferentes intensidades y tiempos de aplicación de SBF pulsadas (20 kHz). Adicionalmente, también se investigó el efecto de la combinación de ULTS y AcO o DA, la irritación de la piel y los cambios histológicos. Los resultados revelaron que MSLs tienen un efecto oclusivo sobre la piel. El análisis estadístico reveló el siguiente orden para la penetración de TS: DA al 1% durante 30 min > SAF + DA al 1% durante 30 min = SAF = SAF + MSL conteniendo OA al 1% > MSL conteniendo el 1% de AcO = control. El tiempo total de aplicación de SBF 6, 12 y 15 minutos incrementó el flujo en 1,86, 4,63, y 4,77 veces, respectivamente. El efecto en la penetración del fármaco a diferentes intensidades de SBF no fue directamente proporcional a la magnitud de la intensidad. La exposición de la piel a SAF o SBF antes de la aplicación

del DA al 1 % durante 30 minutos no tuvo un efecto superior sobre la mejora de la aplicación de cualquiera SBF o SAF por sí solos. La aplicación del fármaco cargado con MSL ofrece protección de la piel contra la irritación producida por efecto de PT y DA al 1%. Las características histológicas de la piel se vieron afectadas en diversos grados por la aplicación de potenciadores o ULTS. En general, la aplicación de SBF dio mayor penetración de PT que SAF. Sin embargo, la aplicación segura de SBF debe ser practicado habiendo seleccionado de manera cuidadosa de los parámetros de exposición.

5.5.11 Cicatrizantes

Park *et al.* [118] determinó la eficacia de la sonoforesis en la administración de ácido hialurónico (AH) de alto peso molecular en la membrana sinovial usando un modelo animal de osteoartritis (OA). Un total de 1000 kDa (HA1000) y 3000 kDa (HA3000) se marcaron con fluoresceína y se inyectó en las rodillas de los conejos. Se aplicó ULTS continuo de baja intensidad a 1 MHz, 400 mW/cm² a las rodillas durante 10 min como tratamiento. El análisis del líquido sinovial reveló una mayor absorción y la microscopía de fluorescencia mostró una penetración más profunda de ambos HA1000 y HA3000, más aún con este último. El examen histológico indicó que el tratamiento de ULTS no genera daño aparente a la membrana sinovial. Estos resultados sugieren que la sonicación simultánea con la inyección de AH podría compensar la corta vida media de AH. Por consiguiente, este doble tratamiento de AH haría una herramienta mucho más eficaz en el tratamiento de OA.

5.5.12 Calceína

Morimoto *et al.* [119] examinó la relación entre soluto hidrófilo y agua (vehículo) en la piel de rata sin pelo en presencia de irradiación de ULTS (41 kHz, 60-300 mW/cm²) y también realizó la observación de la superficie de la piel utilizando un microscopio confocal. Cuando se incrementa la intensidad aplicada de forma progresiva sobre el rango de 60-300 mW/cm², el transporte de agua tritíada (3H₂O) se incrementó 140 veces en una forma dependiente de la

intensidad y esto volvió a la normalidad en la detención de la aplicación de ULTS. El aclaramiento en la penetración de la piel (Al/h), se graficó contra el correspondiente flujo de agua tritíada ($3H_2O$) para estimar la contribución potencial de flujo del solvente, inducido por la aplicación de ULTS, para el transporte de solutos. Las buenas correlaciones se observaron entre el flujo de agua tritíada ($3H_2O$) y las distancias del soluto de forma inesperada, los valores de pendiente obtenidos a partir de la regresión lineal de las graficas fueron consistentes para todos los solutos examinados ($1.04F0.29$ para calceína).

Este hallazgo sugiere que el ULTS 41 kHz puede aumentar el transporte transdérmico de solutos hidrofílicos mediante la inducción de flujo de solvente convectivo probablemente a través de ambos corneocitos y lípidos del EC, así como también sugiere que el ULTS 41 kHz (baja frecuencia) tiene el potencial de ofrecer grandes moléculas hidrofílicas por vía transdérmica.

5.5.13 *Oligonucleótidos*

La administración tópica de oligonucleótidos, aunque atractiva para el tratamiento de trastornos de la piel, está limitada por la baja permeabilidad del EC, Tezel *et al.* [120] evaluó el potencial de ULTS de baja frecuencia (20 kHz, $2,4 \text{ W/cm}^2$) en el suministro de cantidades de oligonucleótidos terapéuticamente significativas en la piel. Concentraciones estimadas de oligonucleótidos (OGNs) en las capas superficiales de la piel varió de 0,5% a 5% de la concentración de donantes después de una aplicación de 10 min de ULTS y OGN. Evaluaciones microscópicas utilizando oligonucleótidos marcados fluorescentemente y sulforodamina B revelaron la penetración heterogénea en la piel. La penetración heterogénea condujo a la formación de vías de transporte localizadas (VTLs), que ocupaban aproximadamente 5% del área total de la piel expuesta. Los estudios histológicos revelaron que no hubo cambios estructurales graves inducidos en la piel debido a la aplicación de ULTS. Estos resultados muestran la ejecución exitosa de los oligonucleótidos con un ULTS de baja frecuencia.

5.5.14 Estimulantes

El efecto de la sonoforesis de baja frecuencia en la penetración de fentanilo y cafeína a través de piel humana y de la piel de rata sin pelo fue estudiada *in vitro* por Boucaud *et al.* [121]. Los experimentos se realizaron utilizando 20 kHz de ULTS aplicadas a cada modo (continuo o discontinuo) y con una intensidad media de 2,5 W/cm². Los resultados mostraron que ULTS de baja frecuencia mejoran el transporte transdérmico de fentanilo y cafeína a través de piel humana y de la piel de rata sin pelo. Esto se explica por el aumento del flujo durante la sonicación. Se encontró que el modo discontinuo era más eficaz para aumentar la penetración transdérmica de fentanilo mientras que el transporte transdérmico de cafeína mejoro por ambos modos: continuo y pulsado. Estudios de microscopía electrónica e histológicos mostraron que la piel y la piel de rata sin pelo no se vieron afectadas por la exposición de ULTS. Más estudios serán necesarios para determinar la contribución relativa de los parámetros de ULTS en ULTS de baja frecuencia inducida por el aumento percutáneo de transporte de fármacos.

5.5.15 Calcio

Menon *et al.* [122] manipuló el contenido de Ca²⁺ en la epidermis superior por sonoforesis de soluciones acuosas fisiológicas que contienen Ca²⁺ (y K⁺) frente a una solución libre de iones a través del EC de ratones sin pelo. La sonoforesis a 15 MHz no alteró la función de barrera, pero en ausencia de Ca²⁺ el contenido de calcio extracelular de la epidermis externa, se desplaza hacia debajo de la capa basal y la dermis. Estos resultados demostraron que el contenido de calcio extracelular epidérmico en la epidermis superior puede ser manipulado por sonoforesis sin alteración de la barrera, y que los cambios en el gradiente de Ca²⁺ inducen la secreción de cuerpo laminar, independiente de ruptura de la barrera.

5.5.16 *Panax notoginseng*

Ng, *et al.* [123] examinó el efecto sonoforético de un ULTS terapéutico, junto con un gel de *Panax notoginseng* (PN) y lo comparó con un ULTS terapéutico por sí solo para la reparación del ligamento colateral medial en ratas. Veinte ratas macho adultas Sprague-Dawley que recibieron transección quirúrgica del ligamento colateral medial izquierdo (LCM) fueron divididos aleatoriamente en tres grupos: ULTS (n=7), ULTS con acoplamiento de PN gel (PNULTS, n=7) y control (n=6). Los tratamientos se iniciaron el tercer día después de la cirugía, durante seis días por semana en un período de dos semanas. El grupo ULTS recibió 4 min de ULTS de pulso (1 MHz) a la intensidad de $0.5\text{W}/\text{cm}^2$ con un gel de acoplamiento ultrasónico normal. El grupo PNULTS recibió el mismo tratamiento ultrasónico, pero con un gel de acoplamiento que contenía extracto de PN. El grupo de control recibió un tratamiento de ULTS con placebo similar a los otros dos grupos. Los valores del ligamento izquierdo se normalizaron contra los del lado derecho de cada animal para su análisis. Los resultados revelaron una rigidez normalizada y resistencia a la tracción, significativamente mayor en el grupo de PNULTS que los otros dos grupos, pero con diferencia significativa en la carga de relajación entre todos los grupos. Este estudio revela un efecto positivo sonoforético del extracto de *Panax notoginseng* para mejorar la resistencia de la reparación de los ligamentos en comparación de la aplicación terapéutica exclusiva de ULTS.

5.5.17 Otros usos

5.5.17.1 Para estudiar los mecanismos de penetración a través de la piel debido a los ultrasonidos

Los recientes avances en ULTS de baja frecuencia se han centrado en la hipótesis de la existencia de las regiones localizadas de transporte (RLTs). Sin embargo, no ha habido ninguna demostración experimental actual de que las RLTs son hipótesis. A través de una serie de experimentos de sonoforesis de baja frecuencia realizados con piel de cerdo de espesor completo, en presencia del lauril sulfato de sodio (LSS) como tensoactivo, Kushner IV *et al.* [124] han

medido por separado el transporte de calceína a través de los RLTs, que son áreas que van en el rango de 10 a 40 mm² y las regiones circundantes de la piel (las no-RLTs) por medio de una técnica nueva de enmascaramiento demuestran que la permeabilidad de calceína a través de las RLTs es aproximadamente 80 veces mayor que la permeabilidad de calceína a través de las no-RLTs, lo que sugiere que las RLTs están perturbando estructuralmente en mayor grado que las no-RLTs a partir de la exposición a los sistemas de ULTS/LSS. También demuestran que tanto las RLTs y las no-RLTs exhiben una disminución significativa en la resistencia eléctrica de la piel en relación a la piel no tratada (5000-veces y 170 veces, respectivamente), lo que demuestra la existencia de dos niveles significativos de perturbación estructural de la piel debido a la exposición de ULTS en presencia de LSS. Finalmente, un análisis de la relación porosidad/tortuosidad (P/T) sugiere que los valores de las vías de transporte transdérmicos trans-celulares están presentes dentro de las RLTs altamente permeables y perturbadas estructuralmente.

Álvarez-Román *et al.* [125] examinaron los efectos físicos sobre la barrera de permeabilidad de la piel humana y la vía de transporte, al proporcionar información importante sobre el mecanismo(s) por el cual el ULTS de baja frecuencia (20 kHz) mejora la permeabilidad de la piel. La cantidad de lípidos eliminados de los dominios intercelulares del EC seguido por sonoforesis se determinó por espectroscopia infrarroja. El transporte de la sonda fluorescente de color rojo del Nilo y calceína, bajo la influencia de ULTS, fue evaluada por microscopía confocal de barrido láser. Los resultados se compararon con los datos control y con los datos obtenidos de experimentos en los que la piel se expone simplemente a los efectos térmicos inducidos por el tratamiento de ULTS.

Fraciones significativas (30%) de los lípidos intercelulares del EC, que son principalmente responsables de la función barrera de la piel, se eliminaron durante la aplicación de sonoforesis de baja frecuencia. Aunque las imágenes confocales de los experimentos de rojo del Nilo no eran particularmente informativos, el ULTS clara y significativamente (en relación a los controles correspondientes) facilita el transporte de la calceína hidrófila a través de

regiones discretas permeabilizadas, mientras que otras áreas de la barrera fueron aparentemente no afectadas.

La eliminación de los lípidos del EC está implicada como un factor que contribuye a la mejora de los efectos de la permeabilidad observado en los ULTS de baja frecuencia. Sin embargo, las observaciones microscópicas demuestran que la sonoforesis induce a las vías localizadas de penetración en sitios discretos.

Cancel *et al.* [126] investigaron los efectos de sonicación de corto tiempo en la piel a 20 kHz y en intensidades y ciclos de trabajo variables sobre la dinámica de transporte de fluoresceína a través de la piel, así como los cambios en la integridad estructural de la piel. Se encontró que una aplicación corta de ULTS mejora el transporte de fluoresceína a través de la piel en un intervalo de 2-9 para las muestras de piel de espesor completo y en el intervalo de 2 a 28 000 para muestras EC. La resistencia eléctrica de la piel disminuyó en un promedio de 20% para las muestras de espesor completo y 58% para las muestras EC. El aumento del ciclo de trabajo de 10 a 60% causó un incremento significativo en la mejora de la permeabilidad de 2,3 a 9,1 y un incremento en la intensidad de 8 a 23 mW/cm² indujo un aumento significativo en la mejora de permeabilidad de 2 a 7,4 lo que indica una clara dependencia de la permeabilidad en ambos ciclos de trabajo e intensidad. El aumento de flujo de soluto a la exposición de ULTS fue inmediata, lo que demuestra por primera vez la rápida respuesta de la mejora sonoforética.

Además, un análisis cuantitativo de los efectos de la dispersión térmica y convectiva asociados con la aplicación de ULTS mostró que cada uno contribuye significativamente a la mejora de la permeabilidad total observada.

La sonoforesis de baja frecuencia (SBF) ha sido bien documentada para mejorar la permeabilidad de la piel a los fármacos macromoleculares mediante la inducción de las regiones de transporte localizadas. Sin embargo, los detalles de la organización de la epidermis, específicamente EC, durante la sonoforesis están más allá del límite de resolución de herramientas comunes de microscopía histo-ópticos, que no revelan alteraciones estructurales notables en estas regiones, en una escala microscópica. Paliwal *et al.* [127]

utilizaron los puntos cuánticos (PQs) como un marcador, microscopia confocal y microscopía electrónica de transmisión (MET) como métodos de visualización, en las vías de penetración inducidas por SBF en el EC. Los PQs (20 nm de diámetro) penetraron más allá de la EC.

MET reveló que el ULTS aumentó significativamente la frecuencia de aparición de los espacios lacunares dispersos y separados en el EC. Un aumento significativo en las dimensiones lacunares se observaron cuando un 1% p/v de LSS se adicione al medio de acoplamiento. Estos estudios muestran que SBF induce la dilatación y mayor conectividad de huecos en el EC, posiblemente llevando a la formación de una red porosa tridimensional, que es capaz de transportar PQs, así como macromoléculas a través del EC. Esta afirmación es consistente con la comprensión de que la SBF mejora el transporte a través de la piel.

El grave potencial de las nanopartículas rígidas como portadores de fármacos transdérmicos puede ser mucho mejor, mejorando su penetración en la piel. López *et al.* [128] evaluaron la aplicación simultánea de ULTS y LSS en la piel para intensificar el suministro transdérmico pasivo de nanopartículas; utilizando plasma de acoplamiento inductivo y espectrometría de masas de una mejor aplicación de microscopía confocal para comparar la entrega de 10 y 20 nm de puntos cuánticos catiónicos, neutros y aniónicos (PQs) en piel de cerdo tratada con ULTS/LSS y sin tratar, con espesor dividido. El ULTS/LSS fue aplicado para algunas de las muestras de piel hasta que el valor deseado de resistividad eléctrica en la piel de $1.25 \pm 0.25 \text{ k}\Omega \text{ cm}^2$ fue obtenido, bajo las condiciones ultrasónicas de 20 KHz de frecuencia, intensidad de 7.5 W/cm^2 , con una duración de impulso de 5 segundos y la distancia entre la piel de 3 mm. Entre los principales hallazgos se incluyen: (a) $\sim 0.01 \%$ de los PQs penetran en la dermis de la piel no tratada, (b) los PQs penetran completamente permeando la piel tratada con ULTS/LSS, (c) los PQs catiónicos exhiben diferentes grados de penetración en la piel y aclaramiento dérmico, y (d) la penetración de los PQs en la piel es heterogénea.

Se observó que el tratamiento ULTS/LSS mejora significativamente la penetración transdérmica de los PQs por 500 – 1300%.

Maruani *et al.* [129] desarrollaron un estudio aleatorizado, para evaluar la penetración transdérmica de histamina en influencia de SBF aplicados sobre la piel. Diez sujetos fueron incluidos; utilizando su antebrazo derecho mismo, que fue dividido en tres zonas que fueron asignadas aleatoriamente a tratamiento: no ULTS; ULTS (1) ($I(1) = 2.72 \text{ W/cm}^2$); ULTS (2) ($I(2) = 3.50 \text{ W/cm}^2$). El resultado primario fue el área de pápula inducida, que reveló la penetración de la histamina. Los resultados secundarios fueron la medición ecográfica de la pápula (grosor de la piel) y prurito; las medidas se tomaron inmediatamente después de la aplicación de ULTS y después de 30 min, 2 h y 24 h. La zona del brazo sin la aplicación de ULTS no mostró pápulas inducidas por histamina; 9/10 sujetos que recibieron ULTS mostraron pápulas, su tamaño promedio aumentó con la intensidad del ULTS, pero no significativamente; así como también el grosor de la piel aumentó. En 7/10 casos se observó prurito después de la aplicación de ULTS e histamina. Entre los eventos adversos se encontraron eritema de la piel, dolor y tinnitus. Aunque este estudio incluyó un pequeño número de pacientes, se confirma la mejora en la penetración en la piel de histamina con la aplicación de sonoforesis. Esta tecnología podría usarse a niveles terapéuticos: la histamina podría ser utilizada en conjunto con la sonoforesis como control positivo en las pruebas de alergia en lugar de pruebas de punción.

La SBF han demostrado la mejora en gran medida en la entrega transdérmica del fármaco. La piel expuesta a ULTS se ve afectada de manera heterogénea, por tanto el transporte de masa a través del EC se produce principalmente a través de las regiones localizadas de transporte altamente permeables (RLTs). Wolloch *et al.* [130] evaluaron las ondas de choque generadas durante microjets y cavitaciones inerciales como responsables de la mejora en la permeabilidad transdérmica; los efectos de estos dos fenómenos utilizando métodos directos e indirectos, demostraron que la contribución de microjets a la piel mejora la permeabilidad significativamente más alta que las ondas de choque.

Estudios previos han demostrado la mejora del aclaramiento óptico de la piel cuando es inducida por ULTS con una aplicación tópica al 60% de glicerol (G) sobre piel porcina (*in vitro*) y piel humana (*in vivo*). Zhong *et al.* [131]

encontraron la relación entre el efecto del aclaramiento óptico de la piel y las diferentes concentraciones de glicerol para encontrar las combinaciones de ULTS-glicerol más efectivas sobre el aclaramiento óptico de la piel. El efecto de la mejora de ULTS en combinación con 40% G, 60% G y 80% G sobre el aclaramiento óptico en la piel humana fue investigado *in vitro*. Imágenes de luz de la profundidad de la piel fueron evaluadas utilizando tomografía de coherencia óptica. Diferentes concentraciones de G y ULTS con frecuencia de 1 MHz y una intensidad de 0.5 W/cm^2 fue aplicada simultáneamente por 15 min. Los resultados mostraron que con el incremento de concentración de G, el aclaramiento óptico de la piel se mejora mucho. La capacidad de aclaramiento óptico fue mejor con la aplicación simultánea de ULTS en comparación con el G solo. Los coeficientes de atenuación de los tejidos de la piel después de 40% G/ULTS, 60% G/ULTS y 80% G/ULTS disminuyó aproximadamente 11.8%, 18.5% y 20% a los 15 min a comparación con el 40% G, 60% G y 80% G solo, respectivamente. La mayor disminución de los coeficientes de atenuación a 60 min fue de aproximadamente 52.3% y 63.4% para 80% G (sin ULTS) y 80 % G/ULTS (con ULTS), respectivamente.

La nucleación, como una etapa importante del proceso de congelación, puede ser inducida por la irradiación de la potencia de los ULTS. Kiani *et al.* [132] estudiaron el efecto de la temperatura de irradiación ($-2 \text{ }^\circ\text{C}$, $-3 \text{ }^\circ\text{C}$, $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ y $-5 \text{ }^\circ\text{C}$), la duración de la irradiación fue (0s, 1s, 3s, 5s, 10s o 15s) y la intensidad del ULTS (0.07 W/cm^2 , 0.14 W/cm^2 , 0.25 W/cm^2 , 0.35 W/cm^2 y 0.42 W/cm^2) sobre la nucleación dinámica del hielo en las muestras de agar en gel. Las muestras se congelaron en una mezcla de copolímero de etileno-glicol-agua ($-20 \text{ }^\circ\text{C}$) en un sistema de baño de ULTS después de ponerlo en viales de tubo. Los resultados indicaron que la irradiación de ULTS es capaz de iniciar la nucleación a diferentes temperaturas de congelación (de $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ a $-2 \text{ }^\circ\text{C}$) en el agar de gel, siempre y cuando se hayan elegido la intensidad óptima y la duración de los ULTS. La evaluación del efecto a una intensidad de ULTS a 0.25 W/cm^2 y diferentes aplicaciones sobre geles de agarosa, mostraron que 1s no fue lo suficientemente largo para inducir la nucleación, mientras que 3s inducen la nucleación repetidamente y la duración de la irradiación resultó en la generación de calor por lo que, la nucleación fue pospuesta. La investigación

del efecto de la intensidad del ULTS reveló que las mayores intensidades de ULTS fueron eficaces cuando un periodo más corto de irradiación es utilizado, mientras que las bajas intensidades sólo dan lugar a la nucleación cuando ya se ha aplicado un tiempo de irradiación. Además de esto, intensidades más elevadas no fueron eficaces en tiempos de irradiación más largos debido al calor generado en las muestras por el efecto de calentamiento de los ULTS.

Lo que demuestra, que el uso de ULTS como un medio para controlar el proceso de cristalización ofrece aplicaciones prometedoras en la congelación de alimentos sólidos.

5.5.17.2 Queloides

La terapia de ULTS con un gel a base de agua se informó como resultado de un "aplanamiento completo" de queloides en dos jóvenes, cuando se aplicaron 1 MHz a $0,8 \text{ W/cm}^2$ durante unos 4 minutos, sin embargo se deben realizar 74 estudios controlados y de seguimiento a largo plazo para seguir evaluando la eficacia de dicho tratamiento [133].

5.5.17.3 Tumores

La bleomicina es una macromolécula hidrófila, no-permeable, con una alta citotoxicidad intrínseca contra el cáncer. Sin embargo, el potencial citotóxico del fármaco está limitado por su baja permeabilidad en membranas. La aplicación de ULTS de baja intensidad a los tumores de crecimiento aumenta el suministro intracelular de bleomicina después de la administración intrapleural o administración intratumoral, potenciando así su citotoxicidad. La optimización de los parámetros de ULTS para el suministro de bleomicina *in vivo* se llevó a cabo por Larkin *et al.* [134] y un efecto antitumoral eficaz se demostró en los tumores sólidos de líneas celulares, tanto murinos y humanos. La muerte celular después del tratamiento se produce por un mecanismo apoptótico. Los resultados obtenidos en estos experimentos fueron equivalentes a los obtenidos utilizando electroporación para mediar el suministro de bleomicina

por electroquimioterapia. Los investigadores encontraron que, aunque la temperatura aumenta hasta 5 ° C, utilizando ULTS, este efecto no es responsable de la citotoxicidad potenciada del fármaco. Esta técnica podría ser usada con ULTS focalizados o con sondas de ULTS endoscópicos para desarrollar un tratamiento contra el cáncer localizado y eficaz con muy poca o nula toxicidad sistémica.

Khaibullina *et al.* [135] determinaron si exposiciones de ULTS pulsados, de alta intensidad (AIU) podrían mejorar la absorción de tumor de (111) In-MX-B3, un anticuerpo murino IgG1kappa monoclonal dirigido contra el Le (y) antígeno. MX-B3 se marcó con (111) In, purificado, y se confirmó por su unión a la línea celular antígeno-positivo A431. Grupos de ratones sin pelo fueron inoculados subcutáneamente con células tumorales A431 en ambos costados traseros. Un tumor en un costado se trató con AIU pulsado; el otro tumor fue utilizado como un control no tratado. Dentro de 10 minutos después de la exposición AIU, los ratones recibieron por vía intravenosa (111) A-MX-B3 para estudios de imagen y de biodistribución. Para los estudios de biodistribución los ratones fueron sacrificados a las 1, 24, 48 y 120 h. después de la inyección intravenosa. La exposición de AIU acortó el tiempo del pico de absorción del tumor (24 contra 48 horas para el control) y el aumento del valor de la absorción máxima del tumor (38 contra 25% ID / g [la dosis inyectada por porcentaje gramo] para el control). El efecto de AIU en la mejora de la captación del tumor fue mayor en los primeros tiempos hasta las 24 horas, pero el efecto fue disminuido gradualmente a continuación. El efecto sobre la mejora de captación AIU del tumor, se fundamenta en los estudios de imágenes nucleares. AIU también aumentó la absorción del anticuerpo en los tejidos circundantes, pero el incremento neto fue marginal en comparación con el aumento en la absorción del tumor. Este estudio demuestra que AIU pulsado mejora significativamente la entrega de (111) A-MX-B3 en tumores humanos epidermoides xenoinjertados en ratones. Los resultados de este estudio piloto justifican una evaluación adicional de otros regímenes de tratamiento, tales como las exposiciones repetidas de AIU para el realce de entrega mayor de anticuerpos marcados con radioisótopos citotóxicos o la exposición de AIU pulsado además

de un tratamiento combinado de (90) Y-B3 y el taxol para mejorar el efecto sinérgico.

5.5.17.4 Heridas supurativas.

La sonoforesis también se ha estudiado en el tratamiento de heridas supurativas. Levenets [136], Shuvalov, y Poliakov [137] encontraron que la administración sonoforética de ácido etilendiaminotetracético con los antibióticos dioxidina, y quinoxalina fue eficaz en la aceleración de purificación de la herida y la eliminación de problemas de necrosis. Matinian et al. [138] de manera similar informó que la sonoforesis de una solución de papaína al 1% junto con sulfóxido de dimetilo fue un método eficaz para el tratamiento de heridas purulentas e infiltrados inflamatorios. Encontraron que con la sonoforesis de las soluciones antes mencionadas se redujo a la mitad el tiempo de curación.

6. CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

La sonoforesis se utiliza para mejorar la distribución de medicamentos de aplicación tópica. La onda ultrasónica causa aumento de la temperatura y vasodilatación, facilitando la absorción de los fármacos, además de aumentar la permeabilidad de la membrana celular, mejorando la transferencia de los líquidos y nutrientes a los tejidos.

El uso del ULTS para aumentar la penetración de un medicamento a través de la piel puede tener la ventaja de la doble acción terapéutica: la del ultrasonido y la del medicamento, a diferencia de otros métodos físicos, el ultrasonido necesita de un medio de acople para facilitar el paso de las ondas del cabezal emisor a la piel, el gel es el más utilizado.

Además ha de considerarse la modalidad continua o pulsátil, prevaleciendo en la primera el efecto térmico (aumento de la circulación, la temperatura y del metabolismo local y modificación de las propiedades elásticas del tejido conjuntivo) y en la segunda los efectos no térmicos (cavitación, reparación tisular y antiinflamatorio) de la onda ultrasónica.

Existen en el mercado preparados especiales a los que se les introduce elementos químicos o naturales con poder analgésico, antiinflamatorio, vasodilatador, etc., para conseguir una buena penetración de estos elementos por Sonoforesis.

Las evaluaciones realizadas hasta la fecha han demostrado gran efectividad en los grupos sometidos a Sonoforesis que con algún otro método aplicado, por lo que la Sonoforesis ha demostrado superioridad en la rapidez de la mejoría, la solución definitiva del dolor así como en la recuperación funcional.

Se ha señalado que tanto los ultrasonidos continuos como los pulsátiles lo que hacen es aumentar y potenciar la acción de los medicamentos aplicados por vía tópica. El calor que genera el ultrasonido hace que aumenten su energía cinética entre ellas, se dilatan los puntos de entrada a través de los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas, y aumenta la circulación de la

zona, lo que ayuda a una mayor difusión de la sustancia a aplicar (principalmente porque aumenta la permeabilidad de la membrana). La ventaja que prevalece en la aplicación de la sonoforesis, es que al carecer de carga eléctrica, no se producen efectos secundarios electroquímicos.

Además de para fines fisioterapéuticos, para aliviar dolores e inflamaciones, la aplicación de la sonoforesis también se ha extendido al plano estético, y es utilizado en centros de belleza para ayudar a la erradicación de la celulitis y de las arrugas.

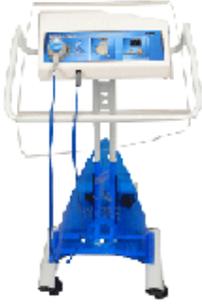
Gracias al procedimiento, los fármacos aplicados penetran con mayor efectividad y los resultados son más evidentes. Asimismo, se está utilizando para tratamientos dermatológicos, tratar el acné y la piel grasa, pigmentaciones en la piel, tonicidad e hidratación profunda.

En la actualidad existen diversos dispositivos sonoforéticos utilizados en la práctica general para la administración de fármacos a través de la piel y que hoy en día pueden ser encontrados en el mercado para los fines convenientes, médicos, rehabilitatorios, cosméticos, dermatológicos, etc. En la Tabla 14 se muestran algunos ejemplos de ULTS y sus diversas aplicaciones.

Tabla 14. Dispositivos sonoforéticos. [139].

EQUIPOS	APLICACIONES
	<p>Equipo de ULTS eficaz, no invasivo y totalmente indoloro para dedicarlo a tratamientos de belleza y salud de todo el cuerpo.</p>
	<p>Equipo ULTS eficaz e indoloro caracterizado por su diseño palmar y portátil con 22 programas para tratamientos del dolor, rehabilitación y tratamientos estéticos.</p>

	<p>ULTS capaz de combinar las terapias antidoloríficas y antiinflamatorias, permite tratamientos rehabilitatorios, así como combatir la celulitis y las arrugas del rostro.</p>
	<p>ULTS óptimo para la línea doméstica de cuidado personal, de gran fiabilidad y garantía.</p>
	<p>ULTS pensado para la utilización en estudios fisioterapéuticos, en hospitales y para ser fácilmente transportable, complementa funciones de aplicación en el tratamiento de diversas afecciones.</p>
	<p>ULTS especialmente concebido para tratar diferentes inestetismos del cuerpo y permite la aplicación de placas fijas en el cuerpo como también el uso del cabezal móvil.</p>

	<p>ULTS con tres modalidades de aplicación: de barrido, contemporáneo en 8 placas para el cuerpo y la de cabezal individual para el rostro, características que le permiten una amplia gama de tratamientos.</p>
---	--

El éxito de todo sistema terapéutico transdérmico depende de la capacidad de la sustancia de difundirse a través de la piel en cantidades suficientes para lograr el efecto terapéutico deseado.

Una de las formas que ha sido estudiada con mayor rigor es la del uso de agentes promotores de la penetración transdérmica. Esta opción pudiera ser la solución para aquellas sustancias con dificultad para atravesar el EC. Recientemente se han desarrollado nuevas vías para incrementar la difusión de sustancias activas a través de la piel a una velocidad relativamente baja, dentro de estas investigaciones, se encuentra la sonoforesis. En el caso de la sonoforesis, los investigadores sugieren que estas ondas causan cambios estructurales en el EC y que pueden inducir el transporte de fármacos a través del EC, los folículos pilosos y los conductos sudoríparos de la piel, sin embargo el transporte de las sustancias a través de la piel dependerá de lo hidratada y sana que se encuentre ésta, la presencia de ácidos grasos, y la edad del paciente. Por tanto, la técnica será menos efectiva cuanto mayor sea la edad del individuo, ya que la superficie epidérmica es más seca en los pacientes mayores, la circulación y la cantidad de lípidos es más reducida, lo que dificulta la absorción de los medicamentos.

El uso de ULTS en tratamientos combinados y sobre todo la sonoforesis pudieran ser más efectivos que otras técnicas de terapia física que actualmente se emplean en las áreas medicas rehabilitadoras, sin embargo aún no ha podido determinarse de manera significativa, lo cierto es que, esta técnica se encuentra tomando gran impulso debido a los múltiples y novedosos beneficios que ofrece su aplicación en el área terapéutica.

Este trabajo muestra las características generales de la técnica siendo una recopilación de información sobre uno de los mecanismos físicos de la penetración transdérmica de auge actual denominado sonoforesis, que seguramente en un futuro no lejano traerá muchos más beneficios a la industria farmacéutica, cosmetológica y médica.

7. REFERENCIAS

- [1] <http://www.botanica-onlie.com/piel.html> (Consultada 07/08/11).
- [2] Escobar-Chávez José Juan, V. Merino-Sanjuan, M. López-Cervantes, Z. Urban-Morlan, et al. *The tape stripping technique as a method for drug quantification in skin*, J. Pharm. Pharmaceut. Sci., 11(1): 104-130, (2008).
- [3] http://web.mac.com/aloeproductos/Articulos/La_Piel/Entradas/2007/6/28_Estructura_De_La_Piel_.html
- [4] Remington. *The Science and Practice of Pharmacy*. 21th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, 2005, pp. 871-877.
- [5] <http://es.wikipedia.org/wiki/Piel> (Consultada 16/06/11).
- [6] http://blogbellezza/la_piel/desarrollo_y_estructura_de_la_piel. (Consultada: 16/06/11).
- [7] <http://salud.inicia.es/mi-doctor//que-es-la-piel.html> (Consultada: 13/06/11).
- [8] <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?> (Consultada el 16/08/12).
- [9] Escobar-Chávez José Juan, Dalia Bonilla-Martínez, Martha Angélica Villegas-González, Isabel Marlen Rodríguez-Cruz, Clara Luisa Domínguez-Delgado. 2009. *The Use of Sonophoresis in the Administration of Drugs throughout the Skin*. J. Pharmaceut Sci, 12 (1): 88- 115.
- [10] Escobar-Chávez José Juan. *Current Technologies to Increase the Transdermal Delivery of Drugs*, José Juan Escobar-Chávez/Virginia Merino (Eds.) Bentham Science Publishers, Vol. 1, 153pp. 2010.

- [11] <http://www.esbeltic.com/estructura-piel.html> (Consultada 07/08/11).
- [12] http://es.encarta.msn.com/media_461516297/estructura_de_la_piel
(Consultada: 12/06/11).
- [13] Wilkinson – J. B., *Cosmetología de Harry*. 2ª ed., Edit. Díaz de Santos S. A.; Madrid 1990.
- [14] www.google.com.mx/imagenes?q=la+piel&html (Consultada el 07/08/11).
- [15] Martini, Marie Claude. *Introducción a la dermofarmacia y a la cosmetología*. Edit. Acribia; Zaragoza España, 2005. pp. 9-37, 71-81.
- [16] Escobar-Chávez JJ, Quintanar-Guerrero D, Ganem-Quintanar A. In vivo skin permeation of sodium naproxen formulated in Pluronic F-127 gels: Effect of azone® and transcutol®, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 31, 447-454, 2005.
- [17] Laura E. Castillán Rivera, Alejandro Palma Ramos, Carmen Padilla Degalennes. "La función inmunológica de la piel". *Dermatología Rev. Mex* 2008; Vol. 52 (5): 211-244.
- [18] <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd.2008/rmd085b.pdf>
(Consultada 14/08/11).
- [19] Ajayk, Banga. *Electrically Assisted Transdermal and Topical Drug Delivery*. Edit. Taylor and Francis. Bristol UK, 1998. pp. 1-13.
- [20] Barry BW. Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. *Eur. J. Pharmacol. Sci.*, 14 (2): 101-114, 2001.
- [21] Escobar-Chávez JJ, Melgoza-Contreras LM, López Cervantes M, Quintanar-Guerrero D, and Ganem-Quintanar A. The Tape stripping technique as a valuable tool for evaluating topical applied compounds. In:

Frontiers in Drug Design & Discovery, Gary W. Caldwell / Atta-ur-Rahman / Z. Yan / M. Iqbal Choudhary (Eds.) Bentham Science Publishers, Vol. 4, 189-227, 2009.

[22] Hadgraft J. Skin: The final frontier. *Int J Pharm*; 224, 1-18, 2001.

[23] http://www.espatentes.com/pdf/2146657_t3.pdf (Consultada 12/08/11).

[24] Panchagnula, R. Transdermal delivery of drugs. *Ind J Pharmacol*, 1997; 29: 140-156.

[25] Escobar-Chávez, J.J., Bonilla-Martínez D, Villegas-González M.A. Sonophoresis: A valuable physical enhancer to increase transdermal drug delivery. In: *Current Technologies to Increase the Transdermal Delivery of Drugs*, José Juan Escobar-Chávez/Virginia Merino (Eds.) Bentham Science Publishers, Vol. 1, 53-76, 2010.

[26] http://lapiel.com/frontend/lapiel/noticia.php?id_noticia=492 (Consultada: 11/06/11).

[27] García Delgado Rafael, E. Escarlot Travesedo, A. Sánchez Romero, Sección de Farmacología Clínica, Sección de Dermatología, Complejo hospitalario y Universitario de Albacete, Albacete, España.

[28] <http://www.geocities.com/zaguan2000/metodo.html#metodo> (Consultada: 16/06/11).

[29] Carla G. Nugent. Serie Dermatología Estética. Cosmecéticos. Vol. I, Elsevier, Madrid España, 2006. pp 213-216.

[30] http://sabilaforever.com/ebooks/sunscreen_protector_solar.pdf (Consultada 16/08/11).

[31] <http://medicamentos.medciclopedia.com/analgesicos-antiinflamatorios-y-antipireticos/rubefacientes-y-analgesicos-topicos/> (Consultada 16/08/11).

[32] Dover Jeffrey. Cosmecéuticos, Madrid España, 2006. pp. 200-216.

[33] Rodríguez Bayón AM, Trujillo Cásares S, La Piel como vía de administración de fármacos formulados en parches transdérmicos. Parte 2: Tendencias y novedades en parches como sistemas de liberación transdermica. 19 (1) 23-28, 2009.

[34] Allevato Miguel Angel. Sistemas Terapéuticos Transdérmicos. 30, 154-165, 2007.

[35] Wood RW, Loomis AL. 1927. The physical and biological effects of high frequency sound waves of great intensity. Phil Mag 1927; 4:417-36.

[36] Benwell AD, Bly SHP. Sources and applications of ultrasound. In: Repacholi MH, Grandolfo M, Rindi A, editors. Ultrasound: Medical application, biological effects and hazard potentials. New York: Plenum Press, 1987; pp. 29-47.

[37] Skauen DM, Zentner GM. Phonophoresis. Int J Pharm 1984; 20:235-45.

[38] McElnay JC, Matthews MP, Harland R, McCafferty DF. The effect of ultrasound on the percutaneous absorption of lidocaine. Br J Clin Pharmacol 1985; 20:421-424.

[39] Mitragotri S, Blankschtein D, Langer R. Transdermal drug delivery using low frequency sonophoresis. Pharm Res 1996; 13:411-20.

[40] Kost J, Mitragotri S, Gabbay RA, et al. Transdermal monitoring of glucose and other analytes using ultrasound. Nature Med 2000; 6:327-350.

[41] Langer R. Transdermal drug delivery: past progress, current status, and future prospects. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56:557–58.

[42] Mitragotri S. Breaking the skin barrier. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56:555–56.

[43] Mitragotri S. Immunization without needles. *Nat Rev Immunol* 2005; 5:905-16.

[44] Prausnitz MR, Mitragotri S, Langer R. Current status and future potential of transdermal drug delivery. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3:115–24.

[45] Cevc G. Drug delivery across the skin, *Expert Opin Investig Drugs* 1997; 6: 1887-1937.

[46] Cross S, Roberts M. Physical enhancement of transdermal drug application: is delivery technology keeping up with pharmaceutical development. *Curr. Drug Deliv* 2004; 1:81-92.

[47] Lavon I, Grossman N, Kost J, et al. Bubble growth within the skin by rectified diffusion might play a significant role in sonophoresis. *J Control Rel* 2007; 117:246-55.

[48] Ogura Makoto, Paliwal Sumit, Mitragotri Samir. Low-frequency sonophoresis: Current status and future prospects. *Adv Drug Deliv Rev* 2008; 60:1218-23.

[49] Olvera-Martínez BI, Cazares-Delgadillo J, Calderilla-Fajardo SB, et al. Preparation of polymeric nanocapsules containing octyl methoxycinnamate by the emulsification–diffusion technique: Penetration across the stratum corneum. *J Pharm Sci* 2005; 94:1552-59

[50] Escobar-Chávez JJ, López-Cervantes M, Naik A, et al. Applications of the thermoreversible Pluronic F-127 gels in pharmaceutical formulations. *J Pharm Pharmaceut Sci* 2006; 9(3):339-58.

[51] Escobar-Chávez JJ, Bonilla-Martínez D, Villegas-González A, Revilla-Vazquez AL. The electroporation as an efficient physical enhancer for transdermal drug delivery. *J Clin Pharmacol* 2009; 49(11):1262-83.

[52] Escobar-Chávez JJ, Merino-Sanjuán V, López-Cervantes M, et al. The use of iontophoresis in the administration of drugs through the skin for smoking cessation. *Current Drug Discovery Technologies* 2009; 6(3):171-185.

[53] Miyazaki S, Yokouchi Ch, Nakamura T, et al. Pluronic F-127 gels as a novel vehicle for rectal administration of indomethacin. *Chem Pharm Bull* 1986; 34:1801-8.

[54] Chi SCh, Do K, Tan HK, Chun HW. Anti-inflammatory and analgesic transdermal gel, US Patent 5,527,832. 1996.

[55] Fang JY, Leu YL, Wang YY, Tsai YH. *In vitro* topical application and *in vivo* pharmacodynamic evaluation of nonivamide hydrogels using Wistar rat as an animal model. *Eur. J Pharm Sci* 2002; 15(5):417-23.

[56] Shin SC, Cho CW, and Oh IJ. Effects of non ionic surfactants as permeation enhancers towards piroxicam from the poloxamer gel through rat skins. *Int J Pharm* 2001; 222 (2): 199-203.

[57] Liaw J, and Lin Y-Ch. Evaluation of poly (ethylene oxide)-poly (propylene oxide)-poly(ethylene oxide) (PEO-PPO-PEO) gels as a release vehicle for percutaneous fentanyl, *J Control. Rel.* 68:273-282, (2000).

[58] Wang YY, Hong CT, Chiu WT, and Fang JY. In vitro and in vivo evaluations of topically applied capsaicin and nonivamide from hydrogels. *Int J Pharm* 2001; 224 (1-2):89-104.

[59] El Kattan AF, Asbill CS, Kim N, Michniak BB. Effect of formulation variables on the percutaneous permeation of ketoprofen from gel formulations, *Drug Deliv* 2000; 7(3):147-53.

[60] Curdy C, Kalia YN, Naik A, Guy RH. Piroxicam delivery into human stratum corneum in vivo: iontophoresis versus passive diffusion. *J Control Rel* 2001; 76:73-79.

[61] Mattorano DA, Kupper LL, Nylander-French LA. Estimating dermal exposure to jet fuel (naphthalene) using adhesive tape strip samples. *Ann Occup Hyg* 2004; 48(2): 139-46.

[62] Chao Y-Ch, Nylander-French LA. Determination of Keratin Protein in a Tape-stripped Skin Sample from Jet Fuel Exposed Skin. *Ann Occup Hyg* 2004; 48(1):65–73.

[63] <http://es.scribd.com/doc/100464/Medios-Físicos-en> Fisioterapia (Consultada: 16/06/11).

[64] Zagzebski JA. 1996. Physics of diagnostic ultrasound. In: *Essentials of ultrasound physics*. Lading DE, Potts L, editors St. Louis, MO: Mosby-Year Book, 1996; pp. 1-19.

[65] Weyman AE. Physical principles of ultrasound. In: Principles and practice of echocardiography. Weyman AE, editor. Philadelphia: Lea and Febiger, 1994; pp.3-28.

[66] www.monografias.com/trabajos90/ultrasonido-onda/ultrasonido-onda.shtml (Consultada 13/10/11).

[67] Clarke L, Edwards A, Graham E. Acoustic streaming: an in vitro study. *Ultrasound Med Biol* 2004; 30:559–62.

[68] Tachibana K, Tachibana S. Application of ultrasound energy as a new drug delivery system. *J Appl Phys* 1999; 38(1):3014-19.

[69] Mitragotri S, Edwards DA, Blankschtein D, Langer R. A mechanistic study of ultrasonically-enhanced transdermal drug delivery. *J Pharm Sci* 1995; 84(6):697-706.

[70] Mason TJ, Lorrimer JP. *Sonochemistry—Theory, applications and uses of ultrasound in chemistry*, Ellis Horwood, 1988.

[71] Mason TJ. *Practical Sonochemistry: User's Guide to Professor Application in Chemistry and Chemical Engineering*, Ellis Horwood, 1991.

[72] Mitragotri S, Kost J. Low-frequency sonophoresis: a noninvasive method of drug delivery and diagnostics. *Biotechnol Prog* 2000; 16:488-92.

[73] Tezel A, Sens A, Mitragotri S. Investigation of the role of cavitation in low-frequency sonophoresis using acoustic spectroscopy. *J Pharm Sci* 1998; 91(2):444-53.

[74] Tang H, Mitragotri S, Blankschtein D, Langer R. Theoretical description of transdermal transport of hydrophilic permeants: application to low frequency sonophoresis. *J Pharm Sci* 2001; 90(5):543–66.

[75] Lubbers J, Hekkenberg RT, Bezemer RA. Time to threshold (TT), a safety parameter for heating by diagnostic ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2003; 29:755-64.

[76] Wells PN. (1993) Physics of ultrasound. In *Ultrasonic Exposimetry* (Ziskin, M. and Lewin, P., eds) CRC Press 1993; p. 35.

[77] Kassan DG, Lynch AM, Stiller MJ. Physical enhancement of dermatologic drug delivery: Iontophoresis and phonophoresis. *J Am Acad Dermatol* 1996; 34(4):657-66.

[78] Maloney M, Bezzant JL, Stephen RL. Iontophoretic administration of lidocaine anesthesia in office practice. *J Dermatol Surg Oncol* 1992; 18:937-40.

[79] Wells PN. Biomedical ultrasonics. New York: Academic Press 1977; pp. 421-30.

[80] McElnay JC, Mathews MP, Harland R, et al. The effect of ultrasound on percutaneous absorption of lignocaine. *Br J Clin Pharmacol* 1985; 20:421-4.

[81] Novak FJ. Experimental transmission of lidocaine through intact skin by ultrasound. *Arch Phys Med Rehabil* 1964; 64:231-2.

[82] Griffin JE, Touchstone JC. Effects of ultrasound frequency on cortisone into swine tissue. *Am J Phys Med* 1972; 51:62-78.

[83] Tachibana K, Tachibana S. Use of ultrasound to enhance the local anesthetic effect of topically applied aqueous Lidocaine. *Anesthesiology* 1993; 78:1091-6.

[84] Williams AR. Phonophoresis: an in vivo evaluation using three topical anaesthetic preparations. *Ultrasonics* 1990; 28:137-41.

[85] Kim TY, Jung DI, Kim YI, Yang JH, Shin SC. Anesthetic effects of lidocaine hydrochloride gel using low frequency ultrasound of 0.5MHz. *J Pharm Pharm Sci* 2007; 10(1):1-8.

[86] Hehn B, Moll F. Phonophoretic permeation of procaine hydrochloride through and MDCK cell monolayer. *Pharmazie* 1996; 51(5):341-5.

[87] Wu YH, Chen WS, Luh JJ, Chong FC. Thermal effect of sonophoresis for accelerating the analgesic effect of local anesthetics on rat tail nerve. Department of Electrical Engineering, National Taiwan University. 2008: 2504-7.

[88] Meshali MM, Abdel-Aleem HM, Sakr FM, et al. In vitro phonophoresis: effect of ultrasound intensity and mode at high frequency on NSAIDs transport across cellulose and rabbit skin membranes. *Pharmazie* 2008; 63(1):49-53.

[89] Miyazaki S, Mizuoka H, Kohata Y, Takada M. External control of drug release and penetration. Enhancing effect of ultrasound on the transdermal absorption of indomethacin from an ointment in rats. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1992; 40(10):2826-2830.

[90] Tiwari SB, Pai RM, Udupa N. Influence of ultrasound on the percutaneous absorption of ketorolac tromethamine in vitro across rat skin. *Drug Deliv* 2004; 11(1):47-51.

[91] Yang JH, Kim TY, Lee JH, et al. Anti-hyperalgesic and anti-inflammatory effects of ketorolac tromethamine gel using pulsed ultrasound in inflamed rats. *Arch Pharm Res* 2008; 31(4):511-17.

[92] Serikov NP. Efficacy of ibuprofen (nurofen gel) ultraphonophoresis for pain in osteoarthritis. *Ter Arkh* 2007; 79(5):79-81.

[93] Cabak A, Maczewska M, Lyp M, Dobosz J, Gasiorowska U. The effectiveness of phonophoresis with ketoprofen in the treatment of epicondylopathy. *Ortop Traumatol Rehabil* 2005; 37(6):660-65.

[94] Rosim GC, Barbieri CH, Lanças FM, Mazzer N. Diclofenac phonophoresis in human volunteers. *Ultrasound Med Biol* 2005; 31(3):337-43.

[95] Hippus M, Uhlemann C, Smolenski U, et al. In vitro investigations of drug release and penetration enhancing effect of ultrasound on transmembrane transport of flufenamic acid. *Int Clin Pharmacol Ther* 1998; 36(2): 107-11.

[96] Duan D, Moeckly C, Gysbers J, Novak C, Prochnow G, Siebenaler K, Albers L, Hansen K. Enhanced delivery of topically-applied formulations following skin pre-treatment with a hand-applied, plastic microneedle array. *Curr Drug Deliv*. 2011; 8 (5): 557-65.

[97] Sarheed O, Abdul Rasool BK. Development of an optimized application protocol for sonophoretic transdermal delivery of a model hydrophilic drug. *Open Biomed Eng J*. 2011; 5: 14 – 24.

[98] Herwadkar A, Sachdeva V, Taylor LF, Silver H, Banga AK. Low frequency sonophoresis mediated transdermal and intradermal delivery of ketoprofen. *Int J Pharm*. 2012. 28; 423 (2): 289 – 96.

[99] Rornanenکو IM, Araviiskii RA. Comparative levels of amphoteficin B in the skin and subcutaneous fatty tissue after cutaneous application of amphotericin ointment by phonophoresis and with preliminary treatment by dimethyl sulfoxide. *Antibiot Khimioter* 1991; 36:29-31.

[100] Ragelis Siu. Tetracycline penetration into tissue by modified electro and phonophoretic methods. *Antibiotiki* 1981; 26(9): 699-703.

[101] Liu H, Li S, Pan W, et al. Investigation into the potential of low-frequency ultrasound facilitated topical delivery of Cyclosporin A. *Int J Pharm* 2006; 326:32-38.

[102] Santoianni P, Nino M, Calabro G. Intradermal drug delivery by low frequency sonophoresis (25KHz). *Dermatology on line Journal* 10(2):24-33.

[103] Aoi A, Watanabe Y, Mori S, et al. Herpes simplex virus thymidine kinase mediated suicide gene therapy using nano/microbubbles and ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 2007; 34(39):425-434.

[104] Meidan VM, Walmsley AD, Docker MF, Irwin WJ. Ultrasound enhanced diffusion into coupling gel during phonophoresis of 5-fluorouracil. *Int J Pharm* 1999; 185(2):205-13.

[105] Luis J, Park EJ, Meyer RJ, Smith NB. Rectangular cymbal arrays for improved ultrasonic transdermal insulin delivery. *J Acoust Soc Am* 2007; 122(4):2022-30.

[106] Lee S, Snyder B, Newnham RE, Smith NB. Noninvasive ultrasonic transdermal insulin delivery in rabbits using the light weight cymbal array. *Diabetes Techno Ther* 2004; 6(6): 808-15.

[107] Smith NB, Lee S, Shung KK. Ultrasound-mediated transdermal in vivo transport of insulin with low profile cymbal arrays. *Ultrasound Med Boil* 2003; 29(8):1205-10.

[108] Schoellhammer CM, Polat BE, Mendenhall J, Maa R, Jones B, Hart DP, Langer R, Blankschtein D. Rapid skin permeabilization by the simultaneous application of dual-frequency, high-intensity ultrasound. *J Control Release*. 2012. 23; 163 (2): 154 – 160.

[109] Saliba S, Mistry DJ, Perrin DH, Gieck J, Weltman A. Phonophoresis and the absorption of dexamethasone in the presence of an occlusive dressing. *Journal of Athletic Training* 2007; 42(3):349-54.

[110] Byl NN, McKenzie A, Halliday B, Wong T, O'Connell J. The effects of phonophoresis with corticosteroids controlled pilots study. *J Orthop Sports Phys Ther* 1993; 18(5):590-600.

[111] Akinbo SR, Aiyejusunle CB, Akinyemi OA, Adesegun SA, Danesi M.A. Comparison of the therapeutic efficacy of phonophoresis and iontophoresis using dexamethasone sodium phosphate in the management of patients with knee osteoarthritis. *Niger Postgrad Med J* 2007; 14(3):190-94.

[112] Yang JH, Kim DK, Yun MY, Kim TY, Shin SC. Transdermal delivery system of triamcinolone acetonide from a gel using phonophoresis. *Arch Pharm Res* 2006; 29(5):412-27.

[113] Clijsen R, Baeyens JP, Barel AO, Clarys P. Influence of the timing of ultrasound application on the penetration of corticosteroids. *Skin Res Technol.* 2012; 10.1111

[114] Maruani A, Boucaud A, Perrodeau E, Gendre D, Giraudeau B, Machet L. Low-frequency ultrasound sonophoresis to increase the efficiency of topical steroids: a pilot randomized study of humans. *Int J Pharm.* 2010. 16; 395 (1-2): 84-90.

[115] Machet L, Pinton J, Patat F, Arbeille B, Pourcelot L, Vaillant L. In vitro phonophoresis of digoxin across hairless mice and human skin: thermal effect of ultrasound. *Int J Pharm* 1996; 133: 39-45.

[116] McElnay JC, Benson HA, Harland R, Hadgraft J. Phonophoresis of methyl nicotinate. A preliminary study to elucidate the mechanism of action. *Pharm Res* 1993; 10(12):1726-31.

[117] El-Kamel AH, Al-Fagih IM, Alsarra IA. Effect of sonophoresis and chemical enhancers on testosterone transdermal delivery from solid lipid microparticles:an in vitro study, *Curr Drug Deliv* 2008; 5(1):20-26.

[118] Park SR, Jang KW, Park S-H, et al. The effect of sonication on simulated osteoarthritis part I: effect of 1 MHz ultrasound on uptake of hyaluronan into the rabbit synovium. *Ultrasound Med Biol* 2005; 31(11):1551-1558.

[119] Morimoto Y, Mutoh TM, Ueda H, et al. Elucidation of the transport pathway in hairless rat skin enhanced by low-frequency sonophoresis based on the solute–water transport relationship and confocal microscopy. *J Control Rel* 2005; 103:587–97.

[120] Tezel H, Dokka S, Kelly S, Hardee GE, Mitragotri S. Topical delivery of anti-sense oligonucleotides using low-frequency sonophoresis. *Pharm Res* 2004; 21(12):2219-25.

[121] Boucaud A, Machet L, Arbeille B et al. In vitro study of low-frequency ultrasound-enhanced transdermal transport of fentanyl and caffeine across human and hairless rat skin. *Int J Pharm* 2001; 228:69-77.

[122] Menon GK, Price LF, Bommannan B et al. Selective obliteration of the epidermal calcium gradient leads to enhanced lamellar body secretion. *J Invest Dermatol* 1994; 102(5):789-95.

[123] Ng GY, Wong RY. Ultrasound phonophoresis of panax notoginseng improves the strength of repairing ligament: a rat model. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34(12):1919-23.

[124] Kushner J IV, Blankschtein D, Langer R. Experimental demonstration of the existence of highly permeable localized transport regions in low-frequency sonophoresis. *J Pharm Sci* 2004; 93:2733-45

[125] Alvarez-Román R, Merino G, Kalia YN, Naik A, Guy RH. Skin permeability enhancement by low frequency sonophoresis: Lipid extraction and transport pathways. *J Pharm Sci* 2003; 92:1138-46.

[126] Cancel LM, Tarbell JM, Ben-Jebria A. Fluorescein permeability and electrical resistance of human skin during low frequency ultrasound application. *J Pharm Pharmacol* 2004; 56:1109-18.

[127] Paliwal S, Menon GK, Mitragotri S. Low-frequency sonophoresis: ultrastructural basis for stratum corneum permeability assessed using quantum dots. *J Invest Dermatol* 2006; 126, 1095–1101.

[128] López R, Seto E, Blankschtein D, Langer Robert. Enhancing the transdermal delivery of rigid nanoparticles using the simultaneous application of ultrasound and sodium lauryl sulfate. *Biomaterials*. 2011; 32 (3): 933-941.

[129] Maruani A, Vierron E, Machet L, Giraudeau B, Boucaud A. Efficiency of low-frequency ultrasound sonophoresis in skin penetration of histamine: a randomized study in humans. *Int J Pharm*. 2010; 29; 385 (1-2): 37-41.

[130] Wolloch L, Kost J. The importance of microjets vs shock wave formation in sonophoresis. *J Control Release*. 2010. 1; 148 (2): 204-11.

[131] Zhong H, Guo Z, Wei H, Zeng C, Xiong H, He Y, Liu S. In vitro study of ultrasound and different-concentration glycerol-induced changes in human skin optical attenuation assessed with optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2010; 15 (3): 036012.

[132] Kiani H, un DW, Delgado A, Zhang Z. Investigation of the effect of power ultrasound on the nucleation of water during freezing of agar gel samples in tubing vials. *Ultrason Sonochem.* 2012; 19 (3): 576 – 81.

[133] Walker JJ. Ultrasound therapy for keloids. *S Afr Med J* 1983; 64(8):270.

[134] Larkin JO, Casey GD, Tangney M et al. Effective tumor treatment using optimized ultrasound mediated delivery of bleomycin. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34(3): 406-13.

[135] Khaibullina A, Jang BS, Sun H et al. Pulsed high intensity focused ultrasound enhances uptake of radiolabeled monoclonal antibody to human epidermoid tumor in nude mice. *J Nucl Med* 2008; 49(2):295-302.

[136] Levenets AA, Shuvalov SM, Poliakov AV. The effect of the disodium salt of ethylenediaminetetraacetate on the healing of experimental suppurative wounds. *Stomatologiya (Mosk)* 1989; 68:14-16.

[137] Abilev SK, Abdrazakov MM. Organ specificity of DNA damaging activity of dioxidine. *Genetika* 1991; 27:2039-41.

[138] Matinian AL, Nagapetian KH, Amirian SS, et al. Papain phonophoresis in the treatment of suppurative wounds and inflammatory processes. *Khirurgiya (Mosk)* 1990; 9:74-6.

[139] <http://www.adieta.com/ultrasonidos/> (Consultada el 31/08/12).