



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Desarrollo y caracterización de microagujas poliméricas de poli metil vinil éter del ácido maleico cargadas con ceftriaxona como alternativa novedosa para el tratamiento de infecciones en heridas crónicas.”

**TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN FARMACIA**

PRESENTA

DIEGO ALONSO PÉREZ GUTIÉRREZ

ASESOR

Dr. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ.

CO-ASESOR

Dr. PABLO SERRANO CASTAÑEDA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2022.



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ASUNTO: **VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**



**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTÁZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Desarrollo y caracterización de microagujas poliméricas de poli metil vinil éter del ácido maleico cargadas con ceftriaxona como alternativa novedosa para el tratamiento de infecciones en heridas crónicas.

Que presenta el pasante: **Diego Alonso Pérez Gutiérrez**
Con número de cuenta: **417056715** para obtener el título de: **Licenciado en Farmacia.**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de noviembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q.M. Rafael Sampere Morales	
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Patricia Jeane Domínguez Quiñones	
2do. SUPLENTE	E.F.H.C. Elisa Pedraza Vázquez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
ASUNTO: **VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**



**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORNEJO FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Desarrollo y caracterización de microagujas poliméricas de poli metil vinil éter del ácido maleico cargadas con ceftriaxona como alternativa novedosa para el tratamiento de infecciones en heridas crónicas.

Que presenta el pasante: **Diego Alonso Pérez Gutiérrez**
Con número de cuenta: **417056715** para obtener el título de: Licenciado en Farmacia.

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de noviembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q.M. Rafael Sampere Morales	_____
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	_____
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Patricia Jeane Domínguez Quiñones	_____
2do. SUPLENTE	E.F.H.C. Elisa Pedraza Vázquez	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

EL NOMBRE
FACULTAD DE ESTUDIOS
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**



**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Desarrollo y caracterización de microagujas poliméricas de poli metil vinil éter del ácido maleico cargadas con ceftriaxona como alternativa novedosa para el tratamiento de infecciones en heridas crónicas.

Que presenta el pasante: **Diego Alonso Pérez Gutiérrez**
Con número de cuenta: **417056715** para obtener el título de: **Licenciado en Farmacia.**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de noviembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q.M. Rafael Sampere Morales	_____
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	_____
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	_____ 
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Patricia Jeane Domínguez Quiñones	_____
2do. SUPLENTE	E.F.H.C. Elisa Pedraza Vázquez	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Desarrollo y caracterización de microagujas poliméricas de poli metil vinil éter del ácido maleico cargadas con ceftriaxona como alternativa novedosa para el tratamiento de infecciones en heridas crónicas.

Que presenta el pasante: **Diego Alonso Pérez Gutiérrez**
Con número de cuenta: **417056715** para obtener el título de: **Licenciado en Farmacia.**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de noviembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q.M. Rafael Sampere Morales	
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	
1er. SUPLENTE	Q.F.B. Patricia Jeane Domínguez Quiñones	
2do. SUPLENTE	E.F.H.C. Elisa Pedraza Vázquez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

EL M. C. E.
FACULTAD DE ESTUDIOS
ASUNTO: **VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**



**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis**

Desarrollo y caracterización de microagujas poliméricas de poli metil vinil éter del ácido maleico cargadas con ceftriaxona como alternativa novedosa para el tratamiento de infecciones en heridas crónicas.

Que presenta el pasante: **Diego Alonso Pérez Gutiérrez**
Con número de cuenta: **417056715** para obtener el título de: **Licenciado en Farmacia.**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de noviembre de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>I.Q.M. Rafael Sampere Morales</u>	_____
VOCAL	<u>M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	_____
SECRETARIO	<u>Dr. José Juan Escobar Chávez</u>	_____
1er. SUPLENTE	<u>Q.F.B. Patricia Jeane Domínguez Quiñones</u>	_____
2do. SUPLENTE	<u>E.F.H.C. Elisa Pedraza Vázquez</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/cga*

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme formar parte de la máxima casa de estudios del país y brindarme las herramientas necesarias para garantizar mi desarrollo como futuro profesionalista.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por darme la mejor educación profesional y haberme permitido vivir una de las mejores etapas de mi vida.

Al Dr. José Juan Escobar Chávez, por darme la oportunidad de unirme a su equipo de investigación y ser un apoyo constante a lo largo del desarrollo del proyecto. De igual manera, por ser un excelente académico que impulsa la formación de sus estudiantes y el deseo por la investigación.

Al Dr. Pablo Serrano Castañeda, por compartirme sus conocimientos y ser un pilar fundamental en el desarrollo de este proyecto.

A mis padres y hermana, por todo su amor y apoyo constante, por siempre estar ahí.

Al Dr. Gregorio Pérez Orozco y la Dra. Verónica Gutiérrez Reséndiz, por ser los mejores ejemplos en educación e investigación.

A Hana, por ser mi cómplice, amiga y confidente, por tanto amor y tanto cariño.

A Fernando, Lia, Cass, Ramos, Miriam y Rodrigo, por haber sido la mejor compañía en laboratorio y a lo largo de esta etapa.

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM clave: CG100220 Folio: 017621. Agradezco a la DGAPA-UNAM por la beca recibida.

De igual manera, a los proyectos:

- **PAPIIT IG 100220:** Síntesis y manufactura de nanoestructuras poliméricas para el desarrollo y fabricación de materiales biomédicos útiles en ingeniería de tejidos y liberación controlada de agentes terapéuticos.

-**CONACyT CF-19 clave:140617:** Desarrollo y fabricación de materiales poliméricos nanoestructurados para ingeniería de tejidos y liberación controlada de agentes terapéuticos.

Dedicatoria

A mis papás, que siempre han sido el mejor ejemplo de perseverancia y esfuerzo. Gracias por siempre guiarme, acompañarme a lo largo de este camino y, principalmente, por siempre creer en mí. Mi éxito se los debo a ustedes.

Contenido

Contenido.....	9
1. Introducción	12
2. Marco teórico.....	15
2.1 La piel	15
2.1.1 Anatomía y fisiología de la piel	15
2.1.2 Epidermis.....	16
2.1.3 Dermis	18
2.2 Vía tópica y transdérmica.....	20
2.2.1 Ventajas y desventajas de la vía transdérmica	20
2.2.2 Absorción percutánea	21
2.3 Sistemas transdérmicos	22
2.3.1 Características de fármacos implicados en la absorción percutánea	22
2.3.2 Factores biológicos implicados en la absorción percutánea.....	23
2.3.3 Promotores de absorción.....	24
2.4 Microagujas	25
2.4.1 Principales características	25
2.4.2 Ventajas y desventajas	26
2.4.3 Tipos de microagujas.....	27
2.4.4 Microagujas poliméricas	29
2.4.4.1 PMVEMA-Ac y Kollicoat MAE 100P	30
2.4.4.2 Mecanismos de liberación a través de una matriz polimérica.....	32
2.4.4.3 Elaboración de microagujas poliméricas.....	36
2.4.5 Potencial de las microagujas en la regeneración tisular	37
2.5 Regeneración tisular.....	38
2.5.1 Etapas del proceso de cicatrización	38
2.5.1.1 Factores de crecimiento involucrados en la cicatrización.....	40
2.6 Heridas crónicas	41
2.6.1 Factores que generan obstáculos en la cicatrización.....	42
2.6.2 Tratamiento en heridas crónicas.....	43
2.6.3 Infecciones en heridas crónicas	44
2.6.3.1 Uso de antibióticos en heridas crónicas.....	45
2.6.3.2 Ceftriaxona	47

2.6.4	Microagujas en heridas crónicas	48
3.	Objetivo e Hipótesis	50
3.1	Objetivo General	50
3.2	Objetivos Particulares	50
3.3	Hipótesis.....	50
4.	Metodología	51
4.1	Etapa I- Optimización de las microagujas poliméricas biodegradables	51
4.1.1	Diseño Experimental	51
4.1.2	Preparación de los lotes	52
4.1.3	Caracterización Físicoquímica	53
4.2	Etapa II- Caracterización de la formulación optimizada	61
4.3	Etapa III- Estudios de permeación <i>ex vivo</i>	62
4.3.1	Preparación del tejido	62
4.3.2	Permeación <i>ex vivo</i>	62
5.	Resultados y discusión	65
5.1	Etapa I - Optimización de las microagujas poliméricas biodegradables	65
5.1.1	Diseño Experimental	65
5.1.1.1	Bioadhesión y Bioadhesión Posthumectación (Y1- Y2).....	70
5.1.1.2	Resistencia a la ruptura (Y3).....	71
5.1.1.3	pH (Y4).....	72
5.1.1.4	Eritema (Y5).....	72
5.1.1.5	TEWL (Y6)	73
5.1.1.6	Hidratación (Y7).....	74
5.1.1.7	Liberación a los 50 min (Y8)	74
5.2	Etapa II – Caracterización de la formulación optimizada.....	76
5.2.1	Caracterización de las microagujas	76
5.2.2	Perfil de liberación	81
5.2.2.1	Cinéticas de liberación	83
5.2.3	Microscopia	85
5.3	Etapa III – Estudios de permeación <i>ex vivo</i>	86
5.3.1	Permeación <i>ex vivo</i>	86
6.	Conclusiones.....	90
7.	Perspectivas	91

8.	Referencias.....	92
9.	Anexo 1.....	99
9.1	Ensayo de contenido Químico.....	99
10.	Anexo 2.....	100
10.1	Validación del método analítico.....	100
10.1.1	Especificidad.....	100
10.1.2	Linealidad del sistema	101
10.1.3	Precisión del sistema	103
10.1.4	Linealidad del método.....	103
10.1.5	Exactitud y repetibilidad.....	106
10.1.6	Precisión intermedia	107

1. Introducción

Una herida puede definirse como la interrupción de la continuidad celular y anatómica; al proceso que restaura dicha continuidad se le conoce como cicatrización. Dentro del proceso de cicatrización se encuentran bien definidas 4 etapas: hemostasis, inflamación, proliferación y remodelación.¹ En condiciones favorables, las heridas sanan de manera rápida y sin complicaciones debido a las excelentes propiedades regenerativas de la piel. Pero en la presencia de ciertos factores, se puede estancar este proceso, deteriorar la herida y, por consiguiente, desencadenar problemas adyacentes.

A este tipo de heridas se les clasifica como “heridas crónicas”. Independientemente del origen o causa, éstas comparten ciertas características que las hacen progresar a dicho estado crónico. Esta situación no solo genera dolor constante, incomodidad y limitaciones en la movilidad, si no que impacta en distintos ámbitos del paciente como el emocional y social. Aunado a esto, los sistemas de salud también se ven afectados ya que la atención de estas heridas implica una importante inversión económica.

En México, estudios epidemiológicos llevados a cabo en 2018, estimaron un gasto mensual en atención hospitalaria de \$ 1,864,124,436.89 MXN y de \$ 46,563, 070.76 MXN en atención ambulatoria, siendo las heridas traumáticas las más costosas, seguidas de las úlceras de pie diabético. Estas últimas resultan ser la principal lesión en heridas crónicas, esto se relaciona con la elevada prevalencia de diabetes mellitus en México.²

Aunque es importante dirigir el tratamiento hacia los factores etiológicos responsables de la herida, los factores que generan un impedimento para la cicatrización deben de identificarse y, si es posible, corregirse. Algunos de los impedimentos clínicos más significativos que generan esta interrupción en la cicatrización son: hipoxia, presencia de tejido necrótico, una deficiencia nutricional, tumores, desordenes metabólicos como la diabetes e infecciones.³ Si estos se identifican y manejan adecuadamente, se promoverá una cicatrización en un menor periodo de tiempo y así se podrán evitar futuras complicaciones.

Las heridas crónicas, aparte de encontrarse en un prolongado y excesivo estadio en la etapa inflamatoria, se ven caracterizadas por infecciones persistentes.⁴ El tejido muerto proporciona un medio de crecimiento para las bacterias, aumentando la probabilidad de infección en la herida. Todas las heridas contaminadas crónicamente contienen una flora bacteriana tisular, aunque un correcto desbridamiento de la herida ayuda a controlar el crecimiento bacteriano, esto no siempre resulta suficiente.

Las infecciones han demostrado afectar la contracción de la herida, tanto en heridas agudas como crónicas.⁵ La presencia de bacterias en este entorno da lugar a poblaciones con una densidad suficientemente altas, las cuales se organizan como biopelículas. Estas estimulan aún más la elevación prolongada de mediadores proinflamatorios, citocinas y degradan algunos factores de crecimiento involucrados en el proceso de cicatrización.⁶ Por lo tanto, se ha sugerido que la cronicidad en las heridas comienza con bacterias.⁷

El factor introducido más importante que se adopta en cuanto a manejo de infecciones es el uso de antibióticos. La administración de estos agentes a buen tiempo, por la ruta indicada y en la dosis terapéutica necesaria debería, teóricamente, ser capaz de tratar una infección por parte de organismos susceptibles al agente administrado. Independientemente de que sea un factor usualmente presente en este tipo de heridas, la primera pregunta que se debería realizar es si hay presencia de infección. La respuesta a esta pregunta requiere una evaluación clínica cuidadosa de los signos, síntomas de infección y el uso de pruebas de diagnóstico seleccionadas.⁸

Es incorrecto pensar que una herida debe ser estéril para sanar correctamente. Todas las heridas deberían de considerarse contaminadas, pero se ha demostrado que el número crítico de bacterias capaces de causar una infección es de 10^5 bacterias por gramo de tejido para la mayoría de estas ⁹. Se ha demostrado que los tratamientos para *P. aeruginosa* y otras bacterias previenen la aparición de infecciones crónicas.¹⁰

Los antibióticos sistémicos se consideran esenciales para el tratamiento de heridas clínicamente infectadas. Las guías internacionales no suelen sugerir el uso de antibióticos tópicos, o en casos ni los mencionan.¹¹ La vía tópica se sugiere en cuanto al uso de antisépticos, los cuales son usados primeramente para prevenir una infección de la herida, pero no para la administración de antibióticos. Esto se ve reforzado en las guías para úlceras de pie diabético, donde recomiendan únicamente el uso de antibióticos sistémicos.¹² El uso rutinario de antibióticos tópicos en tratamiento de pacientes que presentaban úlceras en piernas no resultaron beneficiosas, al contrario, fomentaron la colonización por organismos resistentes.¹³

Este escenario se debe a la compleja situación en las heridas crónicas. La escara o el exudado resultan ser un factor limitante para las terapias tópicas, ya que no permiten difundir el fármaco para acceder a las células sanas. Adicionalmente, algunas heridas se encuentran continuamente exudando, lo cual puede eliminar una parte significativa del activo, todo esto genera baja biodisponibilidad del fármaco, contrario de lo que se esperaría al ser tópico.¹⁴

Ya que la falta de efecto antimicrobiano y demás complicaciones, se ve relacionado a la ineficiente penetración de la biopelícula,¹⁵ la introducción de microagujas acopladas a

sistemas transdérmicos podría significar la respuesta a este principal inconveniente. Estas son agujas de tamaño micrométrico que se utilizan para abrir agujeros en la piel y crear microcanales para la posterior administración de medicamentos.¹⁶ Aunque estas están originalmente diseñadas para atravesar el estrato córneo, su principio puede aplicarse como una posible alternativa novedosa para la administración de antibióticos vía transdérmica, penetrando la biopelícula, reduciendo la distancia entre las células sanas y el punto de administración, y específicamente entregando el fármaco a la zona afectada. Siendo también una respuesta para las heridas isquémicas con una mala penetración de los antibióticos sistémicos³, obteniéndose como resultado una mejora en la cicatrización de la herida.

Aunado a esto, múltiples ventajas se esperan al utilizar esta vía de administración: concentraciones altas y sostenidas del agente antimicrobiano en el sitio de la infección, potencial limitado de absorción y toxicidad sistémica, opción de utilizar un agente novedoso no disponible para esta vía, reducción del desarrollo de resistencia antibacteriana al evitar uso de antibióticos sistémicos, evitar el efecto del primer paso y mejorar la adherencia al tratamiento.¹⁷ Finalmente, estos ayudarían a evitar ciertos aspectos contraproducentes que se muestran en terapias sistémicas de antibióticos, desde la presencia de múltiples efectos secundarios, limitaciones en cuanto a tiempo de uso, presencia de hipersensibilidad al mismo e interacciones, hasta posibles riesgos hepatotóxicos y la generación de resistencia bacteriana debido a un mal uso.

2. Marco teórico

2.1 La piel

La piel, fuera de ser un envoltorio natural, es un órgano complejo que se encuentra en un continuo estado de renovación. Una piel sana la podemos describir como bella, suave, tersa y a la vez resistente y protectora contra el ambiente. Este es el órgano más grande del cuerpo, ya que representa un 6-10% del peso corporal, dentro de solo 1cm² podemos encontrar 5 folículos pilosos, 15 glándulas sebáceas, 100 glándulas sudoríparas, 4m de nervios, 1m de vasos, 5000 orgánulos sensitivos y 6 millones de células.¹⁸

Esta es una cubierta indispensable para un adecuado funcionamiento del organismo. Su falta, como ocurre en algunas enfermedades, pone en peligro la vida. La piel la podemos considerar como un espejo de la salud e incluso de las emociones, ya que muchas enfermedades pueden manifestarse en la piel o sus anexos. Este es un órgano importante para el mantenimiento de la homeostasis del cuerpo, especialmente en términos de su composición, regulación del calor, control de la presión arterial y funciones excretoras.¹⁹

2.1.1 Anatomía y fisiología de la piel

La piel cuenta con distintas funciones, dentro de las cuales encontramos las siguientes: termorreguladora, queratínica, melánica, sudoral, sebácea, protección (calor, radiación UV, traumatismos), función de barrera (sustancias químicas, bacteriana, pérdida de agua transepidermal), sensorial e inmunológica.

El grosor de la piel varía según las regiones y el estado nutricional del individuo, por ejemplo en los párpados tiene un grosor de 0.7 a 1mm, mientras que en la espalda, palmas y plantas, el espesor puede llegar hasta 3 mm.²⁰ La piel cuenta con distintos anexos cutáneos, como son las glándulas ecrinas y apocrinas, uñas, complejo pilosebáceo. Desde el punto de vista histológico, podemos distinguir tres capas: epidermis, dermis y la hipodermis o tejido subcutáneo.

La epidermis (aproximadamente 100 µm de espesor) se divide en dos capas, el estrato córneo (epidermis no viable) y el estrato germinativo (epidermis viable). La dermis contiene una densa red de vasos sanguíneos, que proporciona un soporte constante para el tejido germinativo y un papel importante en la regulación de la temperatura corporal; la unión entre estas dos no es una línea continua, sino que presenta ondulaciones. La hipodermis o tejido celular subcutáneo está formado por lóbulos de adipocitos, que son células redondas

con núcleo periférico y citoplasma lleno de lípidos, que sirven como reserva energética y aislantes de calor; dichos lóbulos están separados por tabiques de tejido conjuntivo.

2.1.2 Epidermis

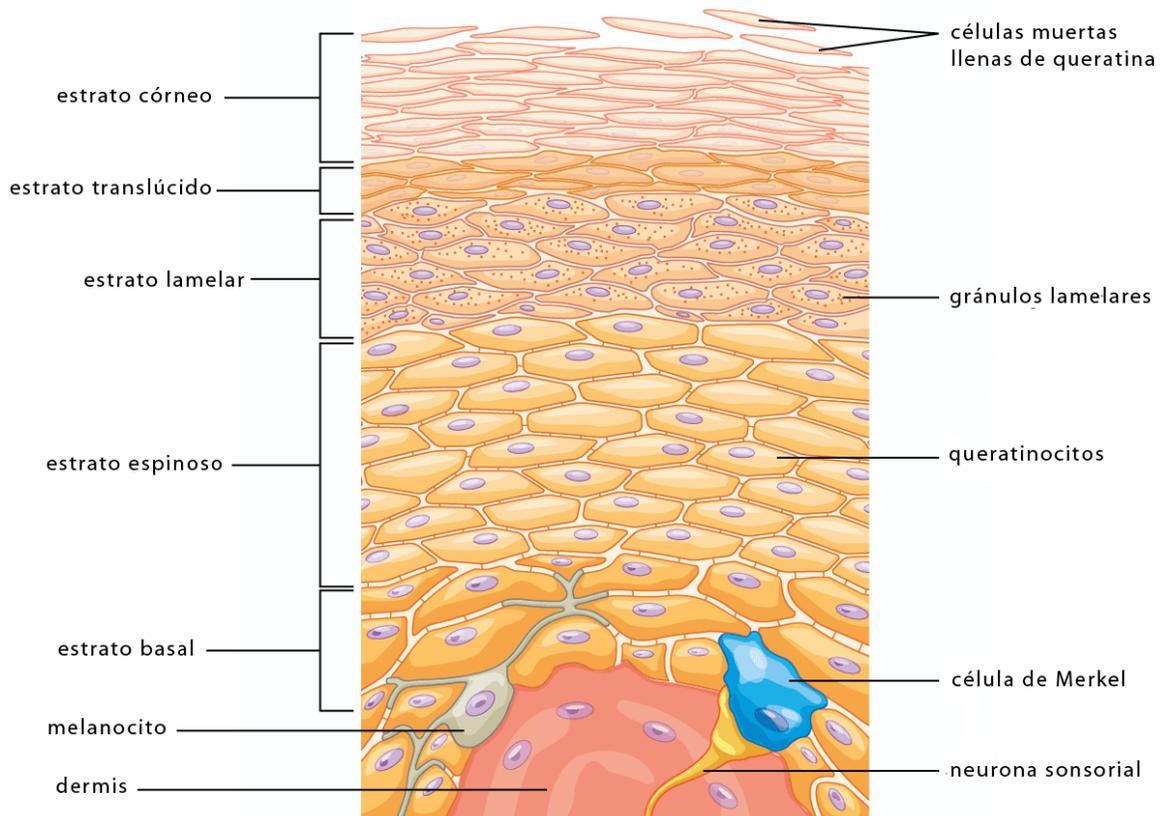


Figura 1. La epidermis descansa sobre una fina membrana basal y está constituida por 5 estratos. Tomado de: <https://curiosoando.com/capas-de-la-piel>

La epidermis es un epitelio plano, estratificado, queratinizado y, como se mencionó anteriormente, se divide en: epidermis viable (estrato germinativo) y no viable (estrato córneo). El pH de la epidermis es de 5.5, debido al manto ácido junto con el gaseoso; este manto contiene algunos aminoácidos producto de la desintegración de la capa córnea. En general la piel de la mujer es más alcalina que la del hombre. Existen zonas más alcalinas en el cuerpo, por ejemplo: axilas, regiones genitales, palmas, plantas, región umbilical, pabellones auriculares.²⁰

Como se muestra en la figura 1, la epidermis está constituida por 5 estratos (del interior hacia la superficie): Basal o germinativo, Espinoso o de Malpighi, Granuloso, Lúcido, Córneo; siendo que los primeros cuatro conforman el estrato germinativo (epidermis viable), mientras que el estrato córneo conforma la epidermis no viable.

El estrato córneo es la capa más externa, presenta una baja hidratación del 15-20% en comparación con el 70% habitual de la masa corporal total y tiene un grosor de aproximadamente 10 a 20 μm , consta de 15 a 25 células aplanadas, apiladas, hexagonales, sin núcleo, que contienen una proteína fibrilar (la queratina) y se encuentran incrustadas en lípidos intercelulares; la región intercelular se compone principalmente de lípidos y desmosomas para la cohesión de los córneocitos queratinizados.¹⁹ Las células del estrato córneo se originan en la epidermis viable y pasan por distintos cambios morfológicos antes de la descamación (Cuadro 1), al llegar a este estrato ya no se consideran viables; la descamación total y su regeneración ocurren de dos a tres semanas.¹⁹

El estrato lucido solo se presenta en piel muy gruesa, como la de las palmas y plantas. El Granuloso consta de células con granulaciones de queratohialina (precursor de la queratina) hematxilínicas, mientras que el espinoso se compone por varias capas de células poliédricas unidas entre sí por puentes intercelulares o desmosomas. Por último, se encuentra el estrato basal, este se constituye por una hilera de células cilíndricas basófilas, los queratinocitos.¹⁸

Cuadro 1. Cambios morfológicos de las células presentes en los diferentes estratos que conforman a la epidermis (del interior hacia la superficie).¹⁹

Estrato viable (granuloso)	<p style="text-align: center;">- Estrato basal</p> <p>Constituido por una sola hilera de células cilíndricas, de núcleos basófilos, dispuestos perpendicularmente a la dermis, con frecuentes mitosis y en constante reproducción. Se observan en esta capa:</p> <ul style="list-style-type: none"> *Células de Merkel- células no queratinocíticas. *Células de Langerhans- células dendríticas sin pigmento. *Melanocitos- células dendríticas de citoplasma claro. *Dos tipos principales de células queratínicas. El primero funciona como célula madre con capacidad de dividirse y producir nuevas células, el segundo sirve para anclar la epidermis a la membrana basal. <p style="text-align: center;"><u>Las células del estrato córneo derivan de aquí</u></p>
	<p style="text-align: center;">- Estrato espinoso</p> <p>Está formado por varias capas de células poliédricas, dispuestas en mosaico. Se observa en esta capa:</p>

	<p>*Queratinocitos- Célula fundamental de la epidermis. Cuando las células del estrato basal maduran generan puentes de proteína entre ellas (desmosomas), eso genera una comunicación célula-célula y un contorno espinoso; comienzan a sintetizar queratina.</p> <p>Los desmosomas dan coherencia a la epidermis; cuando se destruyen, las células se separan y sufren importantes alteraciones, proceso conocido como acantolisis.</p>
	<p>- Estrato granuloso</p> <p>A medida que las células se acercan a su superficie se aplanan y cambian de dirección, de perpendiculares en la capa basal se hacen horizontales en las capas granulosa y córnea. Las células comienzan a generar paquetes de lípidos, lo cual genera una apariencia granular.</p>
	<p>- Estrato lucido</p> <p>Los paquetes de lípidos son exocitados y el contenido de lípidos lo cual genera los lípidos intercelulares. Las células pierden su núcleo y se vuelven transparentes.</p>
Estrato no viable	<p>➤ Estrato Córneo</p> <p>Se observan en esta capa:</p> <p>*Córneocitos queratinizados- Conforme forman el estrato córneo, las células ya no se consideran viables.</p> <p>La descamación total del estrato córneo y su regeneración toma de dos a tres semanas.</p> <p>Las células de la capa córnea se hallan fuertemente pegada entres si, formando una membrana dura y flexible.</p>

2.1.3 Dermis

Está constituida por un almacén de tejido conjuntivo; una extensa red vascular, terminaciones nerviosas sensoriales (Cuadro 2) y anexos de la piel. Es un componente crítico del cuerpo ya que, además de apoyar la epidermis con nutrimentos y el sistema inmune, esta juega un papel importante en la temperatura, presión y regulación del dolor. La dermis presenta un pH de 7 a 7.2,²⁰ tiene un grosor que varía de 0.1 a 0.5 cm y consiste en fibras de colágeno (70%), proporcionando un andamio de soporte y amortiguación, y tejido

conectivo elástico, que proporciona elasticidad, en una matriz semigel de mucopolisacáridos.¹⁹

Cuadro 2. Terminaciones nerviosas sensoriales en la dermis y sus funciones.

Nociceptores	Neuronas sensoriales que responden al estímulo mandando señales a la médula espinal y cerebro que provocan la percepción del dolor. Pueden responder a estímulos mecánicos, térmicos o químicos
Corpúsculos de Pacini	O corpúsculos lamelares, son responsables de la sensibilidad a la vibración y presión.
Corpúsculos de Meissner	Responsables de la sensibilidad al tacto ligero.

La dermis se divide entre: dermis superficial (papilar), dermis media (reticular) y dermis profunda.¹⁸ La dermis superficial está formada por fascículos delgados orientados perpendicularmente a la epidermis, la orientación cambia en la dermis media y se mantiene en la dermis profunda, aunque en esta última son más gruesas. Dentro de las capas papilares de la dermis existe, como una red densa y plana, el sistema linfático; este es un componente importante de la piel en la regulación de la presión intersticial, la movilización de los mecanismos de defensa y la eliminación de desechos.

La dermis está formada por 3 distintas clases de fibras, siendo las de colágeno las más abundantes, estas son producidas por los fibroblastos (Cuadro 3). El colágeno no es una identidad homogénea, está formada por diferentes subtipos genéticos del I a VII de acuerdo con su morfología, composición y propiedades físicas. En la dermis predomina el tipo I.²¹ Las fibras elásticas y reticulares son menos abundantes y se mezclan con las fibras de colágeno. Estas dan resistencia, cohesión y elasticidad en la piel.

Cuadro 3. Principales células de la Dermis y su función

Fibroblastos	Producen, en sus ribosomas, las fibras de colágeno, reticulares, las elásticas y la sustancia intersticial.
Histiocitos	Corresponden a monocitos tisulares derivados del sistema reticuloendotelial con gran movilidad y poder fagocitario
Mastocitos	Productoras de histamina, heparina y otros mediadores de la inflamación
Melanocitos	Productoras del pigmento melanina

2.2 Vía tópica y transdérmica

La piel representa el órgano más grande y de más fácil acceso del cuerpo y su uso para la administración tópica y transdérmica de fármacos ha sido bien documentado. Ambos términos suelen emplearse indistintamente, pero estas son vías de administración con distintas metas y, por lo tanto, debe reconocerse lo que las diferencia.

“Transdérmico” significa a través de la piel. Por lo tanto, un producto transdérmico se aplica sobre la superficie de esta con el fin de entregar un fármaco a la circulación sistémica. Esto es opuesto a lo que se desea con uno tópico, el cual tiene como objetivo entregar el fármaco en la piel, sin la necesidad de penetrarla, obteniéndose efectos locales.

2.2.1 Ventajas y desventajas de la vía transdérmica

La vía transdérmica presenta múltiples ventajas frente a distintas vías de administración (Cuadro 4), el mayor desafío para la administración transdérmica es el número limitado de fármacos que se pueden cargar en este tipo de sistemas y esto se debe a las principales características de la piel como barrera natural. Sin embargo, esta limitación se ha visto superada por los sistemas transdérmicos de segunda y, mayormente, por los de tercera generación, permitiendo la administración transdérmica de fármacos de molécula pequeña, macromoléculas, vacunas basadas en virus y de otro tipo a través de la permeabilización dirigida del estrato córneo de la piel.²²

Cuadro 4. Principales ventajas y desventajas que presenta la vía transdérmica

Ventajas	Desventajas
Evita el efecto de primer paso en el hígado que puede metabolizar significativamente los fármacos de forma prematura	Limitado número de fármacos son susceptibles de administración por esta vía. Los medicamentos transdérmicos exitosos tienen masas moleculares que son solo de unos pocos cientos de daltons, exhiben coeficientes de partición octanol-agua que favorecen en gran medida los lípidos y requieren una dosis de miligramos por día.
Su administración no genera dolor a comparación de inyecciones hipodérmicas	
No generan desechos médicos peligrosos, lo cual evita el riesgo de transmisión de enfermedades por reutilización de las agujas	
Los sistemas transdérmicos no son invasivos	
Su aplicación no requiere de asistencia médica, pueden autoadministrarse	Metabolización del fármaco por enzimas de la piel
Pueden proporcionar liberación durante largos periodos de tiempo	La piel no sana o dañada puede resultar un inconveniente

Mínima toxicidad sistémica	
Mejoran la adherencia al tratamiento	Riesgo de reacciones alérgicas
Los sistemas son generalmente económicos	

2.2.2 Absorción percutánea

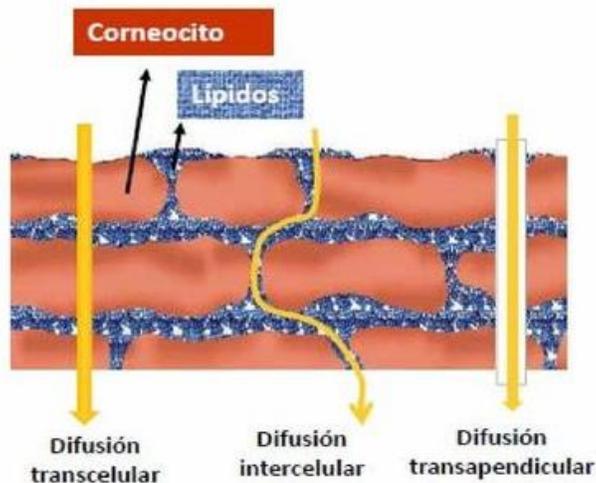


Figura 2. El fármaco puede penetrar la piel por distintas vías. Tomado de: https://docplayer.es/docs-images/46/13951956/images/page_16.jpg

El transporte de fármacos a través del estrato córneo puede darse de dos formas distintas: Transepidérmica o transapendicular.²³ Puede ocurrir que se disuelva en el sebo y difunda a través del folículo piloso, glándula sebácea y sudorípara (vía transapendicular), o bien penetre en la capa córnea (vía transepidérmica).²⁴ La vía de penetración transepidérmica la podemos dividir entre transcelular e intercelular (figura 2), mientras que la vía transapendicular se divide entre transfolicular y transudorípara.

La vía de penetración transapendicular se realiza por los folículos pilosos y las glándulas eccrinas. Específicamente hablando, la vía transfolicular se realiza por el aparato pilosebáceo y está relacionado a la presencia de un mayor o menor número de folículos pilosos; la presencia de estos dependerá del lugar anatómico donde se administre. Esta vía solo representa el 0.15-1.2% del total del volumen de difusión disponible y solo se absorben ciertas sustancias que tienen un alto coeficiente de reparto, solubles en sebo.²⁴ Por otro lado, la penetración de moléculas vía transudorípara se realiza a través de las glándulas sudoríparas eccrinas, esta se considera la vía menos importante ya que proporciona una pequeña ruta de absorción. Aunque ambas vías presenten una capacidad mínima de absorción percutánea, menos del 0.1%,²⁴ estas pueden ser más importantes para la absorción de iones y para las moléculas de gran polaridad, que tienen una permeabilidad baja a través del estrato córneo.

La vía transcelular implica el paso de la casi impenetrable matriz de córneoocitos compuesta por queratina y queratohialina, se presenta un reparto repetido del fármaco entre los compartimentos hidrófilos y lipofílicos. El estrato córneo se hidrata, acumula el agua cerca de la superficie de los filamentos de las proteínas, y es a través de esta agua inmovilizada por donde las moléculas polares pueden pasar a través de la piel.²³

La vía intercelular es considerada la ruta preferida de penetración a través del estrato córneo,²⁵ la difusión del fármaco se realiza por los canales lipídicos que hay entre las células del estrato córneo; esta es la ruta que eligen la mayoría de los fármacos lipofílicos para acceder a capas más profundas de la epidermis,²³ el transporte de moléculas a través del estrato córneo puede ser expresado por la ley de Fick. Las características del fármaco (coeficiente de partición, solubilidad, difusividad) van a ser los principales factores que determinen la vía de penetración.

2.3 Sistemas transdérmicos

Los productos transdérmicos son un sistema de administración no invasivo e indoloro, estos pueden clasificarse en 3 generaciones;²² la primera generación es responsable de la mayoría de parches que existen al día de hoy. Esta generación se ve limitada en primer término por la principal barrera de la piel, el estrato córneo. Como se mencionó anteriormente, el repertorio de fármacos se ve reducido debido a que solo un número limitado de moléculas son susceptibles de administrar por esta vía.

2.3.1 Características de fármacos implicados en la absorción percutánea

Para que una molécula logre penetrar el estrato córneo bajo circunstancias normales, donde este se encuentre intacto, debe de cumplir ciertas características (Cuadro 5) que resultan limitantes para la absorción percutánea.

Cuadro 5. Factores fisicoquímicos de la molécula implicados en la absorción percutánea²³

Moléculas de bajo peso molecular (< 400 Daltons)
Grado de ionización (fármaco no ionizado)
Carácter lipófilo
Coefficiente de partición de 1-3
No irritantes para la piel
Estabilidad del principio activo a temperatura ambiente

2.3.2 Factores biológicos implicados en la absorción percutánea

El estado de la piel puede generar una gran variabilidad en la absorción percutánea. Aunque el sexo no resulte ser un factor determinante de la penetración cutánea de fármacos, factores como la raza, edad, hidratación (Cuadro 6) parecen generar un efecto significativo en la absorción del activo.

Cuadro 6. Factores biológicos que presentan efectos significativos sobre la penetración cutánea.²⁶

Edad	*La permeabilidad de la piel cambia conforme la edad. En individuos jóvenes la permeabilidad es mayor que en edades más avanzadas.
Raza	*La permeabilidad de la piel se ve afectada por la raza. Personas de raza negra presentan una menor permeabilidad de la piel, debido al grosor de esta.
Zona de aplicación	*el espesor de la piel depende de la zona de aplicación. Las palmas de las manos y los pies presentan un mayor espesor en el estrato córneo.
Flujo sanguíneo	*la permanencia del activo en la dermis va a variar dependiendo del flujo sanguíneo. La absorción del fármaco va a disminuir cuando el flujo sanguíneo disminuye.
Hidratación	*La permeabilidad se ve afectada por la hidratación del estrato córneo. Cuando se trata de fármacos polares, una buena hidratación incrementa la permeabilidad.
Temperatura	*La penetración del activo se ve afectada por la temperatura. Existe una relación directamente proporcional entre la relación temperatura- penetración del activo, esto se debe a que se genera un aumento del coeficiente de difusión.
Patologías	*Algunas patologías generan alteraciones en la permeabilidad de la piel.

Ciertas patologías generan modificaciones en la piel.

2.3.3 Promotores de absorción

La segunda generación de sistemas transdérmicos reconoce que los promotores de la absorción cutánea son necesarios para ampliar el catálogo de fármacos disponibles para este tipo de sistemas. El promotor de absorción ideal debería 1) aumentar la permeabilidad de la piel al alterar reversiblemente la estructura del estrato córneo, 2) proporcionar una fuerza impulsora adicional para el transporte a la piel y 3) evitar lesiones en tejidos profundos.²²

Esta generación alcanzó distintas metas, tanto en la rama clínica como en la dermatológica y cosmética, mejorando la administración de moléculas pequeñas para aplicaciones localizadas; el uso de promotores químicos, iontoforesis y ultrasonido no cavitacional entran en el panorama de promotores de absorción para los sistemas transdérmicos. La tercera generación mostró una administración transdérmica de fármacos aún más eficaz debido a que dirige sus efectos al estrato córneo, esto permite una alteración más fuerte de la principal barrera de la piel y, por lo tanto, una mayor penetración del activo. Esta última generación introdujo nuevos potenciadores químicos, la electroporación, el ultrasonido cavitacional y, más recientemente, las microagujas; el uso de estos promotores (Cuadro 7) ha permitido la administración de macromoléculas.

Cuadro 7. Promotores de la absorción en sistemas transdérmicos

Promotores químicos. ²⁷	Características	Ejemplos
<p>Sustancias químicas que actúan reversiblemente a nivel del estrato córneo, desestructurando y facilitando que el fármaco permee más rápidamente hacia los tejidos viables.</p> <p>Mecanismos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Acción sobre los lípidos ➤ Acción sobre las proteínas ➤ Acción sobre el coeficiente de reparto 	<ul style="list-style-type: none"> *Inerte y estable *Producir efectos reversibles *Ser compatible con el fármaco *No alergénico, no tóxico, no irritante *Ser unidireccional 	<ul style="list-style-type: none"> - Agua - Sulfoxidos y similares (Ej. Dimetilsulfoxido) - Ureas - Pirrolidonas y derivados (Ej. 2-pirrolidona) - Tensioactivos (Ej. Lauril sulfato sódico) - Terpenos (Ej. Mentol) - Alcoholes (Ej. Etanol) - Ácidos grasos (Ej. Ácido oleico)

Promotores físicos. ²⁸	Características	Ejemplos
Métodos físicos que actúan por remoción o franqueo del estrato córneo, esto lo logran por medio de una fuerza eléctrica, uso de ultrasonido o ya sea de manera mecánica.	<ul style="list-style-type: none"> *Aumentan la difusividad del fármaco *Efecto reversible *No generan efecto farmacológico *No alergénico, no tóxico, no irritante 	<ul style="list-style-type: none"> -Microagujas -Sonoforesis -Iontoforesis -Electroporación -Magnetoforesis

2.4 Microagujas

Las microagujas se introdujeron como promotores físicos de la absorción percutánea. Estas son agujas de tamaño micrométrico que tienen como objetivo penetrar la piel, a través del estrato córneo y la epidermis viable, evitando el contacto con fibras nerviosas y capilares sanguíneos, los cuales residen primeramente en la dermis, creando microcanales para la posterior administración de medicamentos. Por lo tanto, el principal beneficio por parte de las microagujas es la administración, libre de dolor, de activos de bajo y alto peso molecular.

2.4.1 Principales características

Estos sistemas presentan una serie de condicionantes importantes. Aunque ciertas características puedan cambiar dependiendo del objetivo del tratamiento, la mayoría de estas permanecen como características base de este tipo de sistemas transdérmicos (Cuadro 8).

Cuadro 8. Principales características a cumplir.²⁹

Longitud de 100-1000 μm y un diámetro de 200-300 μm
Bajo punto de fusión
Elevada actividad intrínseca
Incorporación de dosis bajas de fármaco
No inducir respuestas alérgicas
Características mecánicas necesarias para penetrar el estrato córneo. Especialmente en las

microagujas poliméricas, requieren un diseño apropiado para insertarse en la piel sin romperse ni doblarse.

Base flexible

2.4.2 Ventajas y desventajas

Las áreas de aplicación de los sistemas transdérmicos se han ampliado debido a la llegada de las microagujas, especialmente con las biodegradables o solubles, estas proporcionan ventajas atractivas como la autoadministración mínimamente invasiva, el tratamiento localizado y la ausencia de creación de desechos punzo cortantes biopeligrosos (Cuadro 9). Se han llegado a mencionar ciertas desventajas sobre este tipo de sistemas transdérmicos, pero con los avances en investigaciones y los nuevos diseños de microagujas estas van quedando atrás.

Cuadro 9. Principales ventajas y desventajas que presentan las microagujas. ³⁰

Ventajas	Desventajas
Incrementan la permeabilidad de la piel	Tamaño
Pueden impulsar activamente los medicamentos a través de la piel	Tiempo de fabricación
Mejora la biodisponibilidad del fármaco	Deformación de las microagujas por influencia de la temperatura (en microagujas biodegradables)
Dirigen sus efectos al estrato córneo	Obstrucción por tejidos o fluidos biológicos (en microagujas huecas)
Tratamiento localizado	Posibilidad de que las microagujas solidas se rompan y queden insertadas en la piel (en microagujas metálicas o aquellas elaboradas a base de materiales no solubles o biodegradables)
Mínimamente invasivas	
Evita molestia alguna en el paciente	
Su administración no requiere asistencia	
Mejora la adherencia al tratamiento	
Se puede lograr una liberación modificada del activo	

2.4.3 Tipos de microagujas

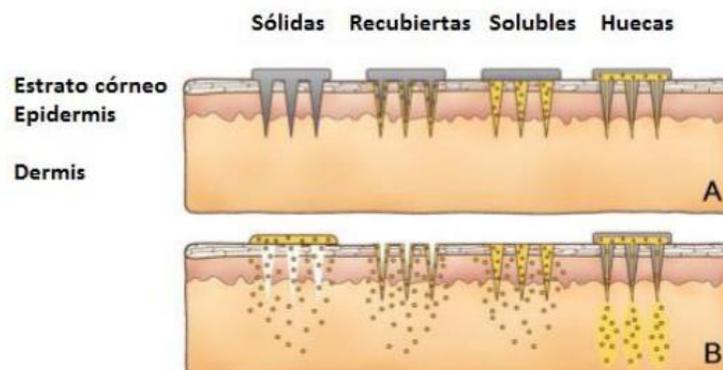


Figura 3. Las microagujas se clasifican en microagujas sólidas, microagujas huecas, microagujas recubiertas y microagujas solubles. Tomado de: Avances En Tecnología Farmacéutica: Parches Transdérmicos De Microagujas. Fac. Farm. Univ. Complut. 4, 5–7 (2017)

Dependiendo de la forma de administración del fármaco podemos separar a las microagujas en la siguiente clasificación: microagujas sólidas, microagujas huecas, microagujas recubiertas y microagujas solubles (figura 3).²⁹ Cada una de estas incorporan el fármaco de distinta manera (Cuadro 10), su elección dependerá del objetivo del tratamiento. Su fabricación puede llevarse a cabo con una amplia variedad de materiales (Cuadro 11), los cuales les brindaran diversas propiedades a las microagujas; estos deben presentar una naturaleza inerte, ausencia de inmunogenicidad, alta resistencia a la tracción, naturaleza no frágil, buena resistencia mecánica, baja tasa de corrosión, biocompatibilidad, estabilidad, facilidad de disponibilidad y bajo costo.³¹

Cuadro 10. Clasificación de microagujas y forma en la que incorporan el fármaco.¹⁶

Microagujas sólidas	<p><i>"Poke and patch"</i></p> <p>Penetran en la piel y generan micro canales por los cuales difunde el fármaco.</p>
Microagujas huecas	<p><i>"Poke and flow"</i></p> <p>Liberan el fármaco asemejando una micro inyección.</p>
Microagujas recubiertas	<p><i>"Coat and poke"</i></p> <p>La microagujas se recubren con el fármaco y posteriormente insertadas en la piel.</p> <p>Una vertiente es el método <i>"Dip and scrape"</i>, en el cual las microagujas se sumergen en una solución del fármaco y posteriormente se introducen a la piel.</p>
Microagujas solubles/biodegradables	<p><i>"Poke and release"</i></p>

	Para microagujas fabricadas con polímeros o polisacáridos, liberan el fármaco conforme se disuelven las microagujas.
--	--

Cuadro 11. Materiales empleados para la fabricación de microagujas. ³¹

Silicon	<p>Genera microagujas con buena fuerza mecánica que permite perforar la piel con éxito.</p> <p>Se puede utilizar para la producción de microagujas sólidas, huecas y recubiertas.</p>
Metales	<p>Presentan deseables propiedades mecánicas que permite una fácil penetración del estrato córneo. Los metales más comunes para utilizar en microagujas metálicas son:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Acero inoxidable ➤ Titanio ➤ Paladio ➤ Níquel ➤ Platino ➤ Aleaciones (paladio-cobalto, aleación de aluminio 5754, acero de aleación AISI 4340, aleación Ti-6Al-4V)³² ➤ Oro <p>Los metales se utilizan para la producción de microagujas sólidas, huecas y como base para las microagujas recubiertas.</p>
Cristal	<p>Las microagujas de cristal de diversas geometrías perforan con éxito la piel y han demostrado una buena biocompatibilidad, aunque estas son de naturaleza frágil.</p> <p>Se utiliza comúnmente para microagujas hueca y solidas.</p>
Cerámica	<p>Los materiales comúnmente utilizados incluyen alúmina, fosfato de calcio y sulfato de calcio.</p> <p>Se utilizan para producir microagujas sólidas, huecas y recubiertas.</p>
Polímeros	<p>Estos ofrecen una gran ventaja por su naturaleza biodegradable y su biocompatibilidad. Los polisacáridos empleados con frecuencia incluyen:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) ➤ Ácido hialurónico ➤ Carboximetilcelulosa (CMC) ➤ Poli (metil vinil éter -alt- ácido maleico) (PMVEMA-AC) ➤ Alcohol polivinílico ➤ Polivinilpirrolidona (PVP) ➤ Ácido poliglicólico <p>Se utilizan en la elaboración de microagujas sólidas, solubles, biodegradables y huecas.</p>

Azúcares	<p>Producen microagujas capaces de atravesar el estrato córneo. Sin embargo, presentan inconvenientes como inestabilidad y la necesidad de altas temperaturas de procesamiento. Los más usados son:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Maltosa ➤ Trehalosa ➤ Rafinosa ➤ Manitol ➤ Xilitol ➤ Galactosa <p>Se utilizan para microagujas solubles.</p>
----------	---

2.4.4 Microagujas poliméricas

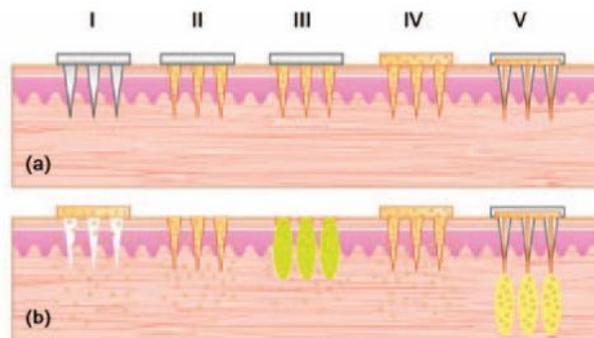


Figura 4. Las microagujas poliméricas se aplican en la piel (A) y posteriormente liberan el fármaco a nivel de la dermis (B); (I) microagujas sólidas, (II) microagujas de polímeros biodegradables, (III) microagujas de polímeros solubles, (IV) microagujas y parche de polímero solubles, (V) microagujas huecas. Tomado de: *Polymer microneedles for transdermal drug delivery. J. Drug Target. 21, 211-223 (2013)*

Las microagujas poliméricas se pueden clasificar en 5 grupos distintos. Las de tipo I engloban a las microagujas sólidas, debido a que el fármaco no se encuentra encapsulado en las microagujas, se requieren de dos procesos para penetrar la piel y aplicar el fármaco. Las microagujas que encapsulan al fármaco se engloban en los Tipos II (microagujas de polímeros biodegradables), III (microagujas de polímeros solubles) y IV (microagujas y parche de polímero solubles); mientras que las microagujas huecas se encuentran en el tipo V (Figura 4).³³

Las microagujas obtenidas de polímeros presentan diversas ventajas frente a las múltiples opciones de materiales (Cuadro 12). Aunque estas presentan propiedades mecánicas inferiores, si las comparamos con las obtenidas en metal, silicón y cristal, incluso si se rompen en la piel estas se degradan en el tejido de forma segura; las microagujas poliméricas superan las generaciones anteriores de microagujas sólidas en términos de seguridad y producción en masa.³³

Cuadro 12. Principales ventajas que presentan las microagujas poliméricas.³³

Costos	Son más costeables a comparación de las de silicón y cristal. Aunque el metal es un buen material para fabricar, las microagujas de polímeros resultan menos costosas
Aplicaciones	En comparación con las de silicón, cristal y metal; los polímeros ofrecen ventajas para aplicaciones exigentes. Estas tienen una ventaja por su propiedad viscoelástica.
Fabricación	Las microagujas poliméricas pueden fabricarse en moldes reusables, obteniéndose una ventaja económica en la producción.
Seguridad	Los polímeros biodegradables pueden degradarse en el tejido de forma segura.
Liberación del activo	Las propiedades de los polímeros pueden proporcionar una liberación controlada del activo.
Propiedades	Los polímeros ofrecen el beneficio de manipular sus propiedades mecánicas y las características de disolución.
Cantidad de fármaco	A comparación con otro tipo de microagujas, las microagujas poliméricas permiten una carga de fármaco comparativamente alta. ³⁰
Absorción percutánea	Algunos de los polímeros exhiben una mejora de la penetración percutánea. ³⁴

2.4.4.1 PMVEMA-Ac y Kollicoat MAE 100P

➤ Poli [metil vinil éter- alt- ácido maleico] (PMVEMA-Ac)

Los copolímeros del ácido maleico y el metil vinil éter son una serie de copolímeros derivados del poli [metil vinil éter -alt- anhídrido maleico] (PMVEMA-AN).³⁵ El Poli [metil vinil éter -alt- ácido maleico] se obtiene mediante la hidrólisis del PMVEMA-AN, como se puede observar en la figura 5.

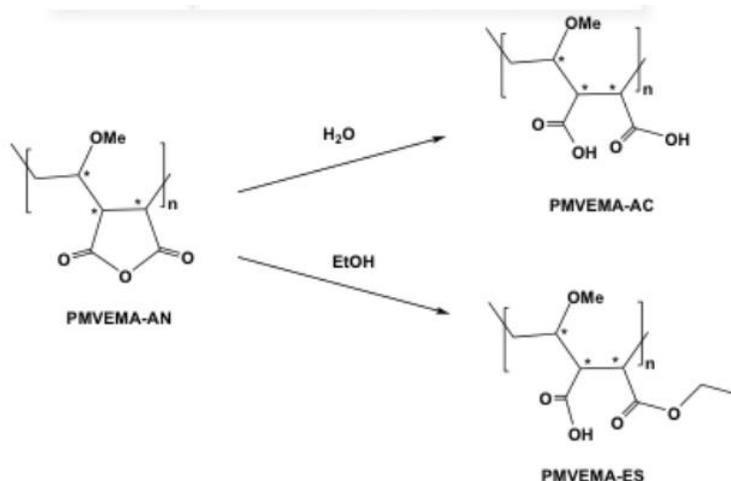


Figura 5. Copolímeros del Poli [metil vinil éter-alt- anhidrido maleico] (PMVEMA-AN): Poli [metil vinil éter-alt- ácido maleico] (PMVEMA-AC) y Poli [metil vinil éter-alt- ácido maleico monoetil éster] (PMVEMA-ES). Tomado de: Arias, Á. Nanofibras poliméricas con ácido 5-aminolevulínico: preparación, caracterización y estudio de liberación in vitro. (2015)

El PMVEMA-Ac es el ácido libre de la forma anhidra, es soluble en agua y etanol, la viscosidad de la disolución polimérica es un parámetro modificable ya que depende de la concentración de la disolución e interacciones iónicas, las propiedades reológicas se ven muy afectadas por cationes divalentes y trivalentes; la viscosidad es un parámetro importante en la elaboración de microagujas debido a la necesidad de un correcto llenado del molde y, por lo tanto, a la formación del arreglo completo de estas mismas. La temperatura de transición vítrea, dependiendo de la masa molecular, varía entre 139-154°C y con ella se puede saber cuándo disminuye su densidad, dureza y rigidez y también donde disminuye su porcentaje de elongación en función de la temperatura.³⁶

El uso del polímero aplica para realizar liberaciones controladas de fármacos. Estos sistemas son capaces de retener activos por diversos mecanismos como los siguientes:³⁷

- La disolución o atrapamiento dentro de la estructura macromolecular o matriz
- La unión covalente del fármaco con los grupos anhídrido del polímero
- Procesos de adsorción mediados por enlaces débiles

Este presenta una baja toxicidad, una alta biocompatibilidad, buenas propiedades bioadhesivas y biodegradables, lo que lo hace considerarse como un excelente candidato para el diseño de polímeros terapéuticos. Aunado a esto, su precio en mercado y la fácil obtención lo hacen un buen polímero para su uso en la tecnología farmacéutica.³⁶

- Kollicoat MAE 100P (Copolímero de ácido metacrílico-acrilato de etilo (1: 1) Tipo B [Ph.Eur.]

Este es un polvo blanco redispersable con un ligero olor característico. Los grupos carboxilo parcialmente neutralizados en el polvo facilitan la redispersión en agua sin otros auxiliares. Es un copolímero débilmente ácido que se disuelve a un pH superior a 5.5, también es soluble en soluciones alcalinas diluidas. El Kollicoat MAE 100P presenta el beneficio de formar poros para formulaciones de liberación sostenida para fármacos altamente solubles en agua.³⁸

En cuanto a su seguridad, los copolímeros de los polimetacrilatos son usados ampliamente como formadores de películas en formulaciones orales. De igual manera, son usados en formulaciones tópicas y generalmente se les atribuye características de materiales no tóxicos y no irritantes.³⁹

2.4.4.2 Mecanismos de liberación a través de una matriz polimérica

Los polímeros, dependiendo de sus propiedades físicas, químicas y estructurales, presentan la posibilidad de generar sistemas de liberación modificada. El mecanismo por el cual se libere la sustancia activa de la matriz polimérica será determinante para la velocidad de liberación y este va a depender directamente del tipo de polímero empleado. Los polímeros, según sus propiedades químicas, podemos clasificarlos en polímeros solubles en agua, polímeros biodegradables y polímeros no biodegradables.⁴⁰

En el caso de los polímeros solubles en agua, la liberación del activo es a corto plazo debido a que la velocidad de disolución del polímero actúa como el factor limitante. Por otro lado, los polímeros biodegradables tienen como factor limitante la cantidad y tipo de enlaces lábiles y su accesibilidad, ya que es necesario una reacción química para disolverse o desintegrarse y liberar la sustancia. Por último, la velocidad de liberación en polímeros no biodegradables dependerá de mecanismos de difusión ya que estos son inertes a su entorno y, debido a esto, logran liberaciones muy prolongadas de la sustancia activa.

El mecanismo de liberación de una sustancia a partir de un dispositivo depende de una serie de factores y procesos; dependiendo del tipo de sistema será el mecanismo predominante. Dentro de los tipos de sistemas en matrices poliméricas podemos encontrar: Sistemas de control por difusión, Control por contacto con un solvente, Control químico (Cuadro 13).⁴¹ Por lo tanto, dependiendo del tipo de polímero y de sistema se pueden obtener formulaciones con comportamientos diferentes.⁴¹

Cuadro 13. Tipos de sistemas y sus mecanismos de liberación a través de una matriz polimérica. ⁴¹

Tipo de sistema		Mecanismo de liberación
<p>Control por difusión</p> <p><i>-La velocidad de difusión determina su velocidad de liberación</i></p> <p>La sustancia es liberada del dispositivo por permeación desde su interior hacia el medio externo, difundiendo a través de una membrana o de una matriz polimérica, retardando o regulando su liberación. En este caso se asume que el polímero no sufre cambios.</p>	<p><u>Dispositivos de reserva</u></p> <p>Consisten en una membrana inerte que rodea a la sustancia que será liberada.</p>	<p>La sustancia se difunde a través de la membrana con una velocidad finita y definida.</p>
	<p><u>Sistemas monolíticos</u></p> <p>El principio activo se encuentra uniformemente distribuido en toda la matriz polimérica.</p>	<p>Difusión a través de una masa de polímero. La velocidad de liberación está determinada por la carga o concentración del agente disperso, la naturaleza de los componentes y la geometría del dispositivo.</p>
<p>Control por contacto con un solvente</p> <p><i>-La velocidad de liberación es afectada por la velocidad con que el polímero absorbe el agua del entorno y por la difusión misma del activo.</i></p> <p>En este tipo de sistemas el polímero absorbe parte del solvente del entorno y se hincha, lo cual afecta su forma, volumen y cinética de liberación.</p>	<p><u>Por hinchamiento</u></p> <p>En algunos sistemas la absorción del solvente obedece la ley de Fick, pero en otros, el proceso es más complicado e involucra además el hinchamiento del polímero y la relajación de sus cadenas</p>	<p>Absorción del solvente y relajación de cadenas.</p>

Control químico <i>- la velocidad de liberación del agente activo será controlada por: su difusión a través de la matriz, por la disolución, erosión química o biológica del polímero o por una combinación de estos mecanismos.</i> Puede darse el caso de que la matriz polimérica se hinche, se disuelva o sea erosionada en el medio; esto puede ocurrir por acción de reactivos químicos, pH o microorganismos	<u>Por erosión</u> La liberación por erosión de la matriz depende del área superficial del dispositivo.	Degradación química y/o física de la matriz.
	<u>Rompimiento de enlaces</u> El activo se encuentra unido químicamente a la matriz polimérica; ya sea por interacción iónica o enlace covalente.	Hidrólisis de enlace polímero- agente activo

2.4.4.1.1 Cinéticas de liberación

Las formas farmacéuticas convencionales se caracterizan porque liberan sus componentes activos de manera inmediata hacia el lugar de absorción, implicando que la velocidad de liberación es mayor que la de absorción. El propósito de los sistemas de liberación controlada es mantener la concentración de fármaco en la sangre o en los tejidos diana en un valor deseado el mayor tiempo posible, siendo que en estas formas la constante de absorción es mayor que la de liberación. Para ello, generalmente, el sistema de liberación controlada libera inicialmente parte de la dosis contenida para alcanzar rápidamente la concentración terapéutica eficaz del fármaco. Entonces, la cinética de liberación del fármaco sigue un comportamiento bien definido para suministrar la dosis de mantenimiento que permite alcanzar la concentración de fármaco deseado.⁴²

El uso de modelos matemáticos resulta muy útil ya que este enfoque permite, en el mejor de los casos, la predicción de la cinética de liberación antes de que se realicen los sistemas de liberación. De manera general, estos modelos permiten dos cosas: a) imaginar y comprender los mecanismos de transporte que ocurren en estos procesos y b) predecir los efectos, a través de diferentes mecanismos matemáticos y poder resolver así los distintos

parámetros que introducen en las fórmulas.⁴³ Respecto de los modelos matemáticos, se deben elegir aquellos que mejor representen los mecanismos de liberación implicados en el arreglo polimérico. Para analizar el mecanismo de la cinética de velocidad de liberación del fármaco, los resultados de los perfiles de liberación *in vitro* pueden graficarse en varios modelos cinéticos, tales como orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer- Peppas.

➤ Orden 0

Describe sistemas en donde la velocidad de liberación del fármaco es constante durante un periodo de tiempo. La disolución del fármaco a partir de formas de dosificación que no se disgregan y liberan el fármaco lentamente se puede representar mediante la ecuación:

$$Q_t = Q_0 + K_0t$$

Donde Q_t es la cantidad de fármaco disuelto en un tiempo "t", Q_0 es la cantidad inicial de fármaco en la solución (la mayoría del tiempo, $Q_0 = 0$) y K_0 es la constante de orden 0 que expresa unidades de concentración/tiempo.

Este modelo se puede utilizar para la disolución del fármaco de varios tipos de formas farmacéuticas de liberación modificada, como en el caso de algunos sistemas transdérmicos, así como comprimidos de matriz con fármacos poco solubles en formas recubiertas, sistemas osmóticos, etc.⁴²

➤ Orden 1

En la cinética de liberación de primer orden típica, la velocidad de liberación del fármaco depende de su concentración. Este modelo ha sido usado para describir la absorción y/o eliminación de algunos fármacos, la liberación de fármacos que siguen la cinética de orden 1 puede expresarse por la ecuación:

$$\frac{dC}{dt} = -Kc$$

Donde K es la constante de primer orden expresada con las unidades de time^{-1} . De manera lineal, se puede expresar de la siguiente manera:

$$\text{Log } C = \text{log } C_0 - Kt/2.303$$

Donde C_0 es la concentración inicial del fármaco, K es la constante de primer orden, y t es el tiempo. Esta relación aplica para describir la disolución del fármaco en formas de dosificación que contengan fármaco hidrosoluble en matrices porosas.⁴²

➤ Higuchi

Este fue el primer modelo matemático para describir la liberación de fármacos en sistemas matriciales, Higuchi desarrolló varios modelos teóricos para estudiar a liberación de

fármaco solubles en agua y con baja solubilidad incorporados en matrices semisólidas y/o sólidas. Este modelo se basa en la hipótesis de que (i) inicialmente la concentración del fármaco en la matriz es mucho más grande que la solubilidad de este; (ii) la difusión del fármaco se lleva a cabo en una dimensión; (iii) las partículas del fármaco son mucho más pequeñas que lo ancho del sistema; (iv) el hinchamiento de la matriz y la disolución son insignificantes; (v) la difusividad del fármaco es constante; y (vi) se consiguen condiciones *sink* perfectas en el ambiente de liberación. De manera general, el modelo de Higuchi se simplifica de la siguiente forma:

$$f_t = Q = K_H * t^{1/2}$$

Donde, K_H es la constante de disolución de Higuchi. Esta relación aplica para la descripción de la disolución de fármacos desde varias formas de dosificación de liberación modificada, como en el caso de sistemas transdérmicos y matrices de tabletas con fármacos hidrosolubles.⁴²

➤ Korsmeyer - Peppas

Korsmeyer estableció una relación simple que describe la liberación del fármaco a partir de una ecuación de sistema polimérico. Para encontrar el mecanismo de liberación del fármaco, se toma únicamente en cuenta hasta el 60% liberado ($M_t/M_\infty < 0.6$) en la siguiente ecuación:

$$M_t/M_\infty = Kt^n$$

Donde M_t/M_∞ es la fracción de fármaco liberado a tiempo t . k es la constante de liberación y n es el exponente. El valor del exponente es usado para caracterizar diferentes liberaciones desde una matriz cilíndrica. En este modelo, el valor de n determina el mecanismo de liberación del fármaco; $0.45 \leq n$ corresponde a un mecanismo de difusión Fickiano, $0.45 < n < 0.89$ a un transporte no Fickiano, $n = 0.89$ a Caso II y $n > 0.89$ a super Caso II.⁴²

2.4.4.3 Elaboración de microagujas poliméricas

Las microagujas poliméricas se fabrican principalmente mediante un proceso fotolitográfico o un proceso de micro moldeo.³³ El proceso fotolitográfico se usa principalmente para obtener microagujas sólidas y huecas, mientras que las microagujas solubles y biodegradables se obtienen por un proceso de micro moldeo. Existen varios métodos de moldeo para fabricar microagujas con diferentes polímeros: moldeo por inyección utilizando un molde de material duro, moldeo del polímero fundido usando un molde de

caucho de silicona y el moldeo del polímero solubilizado empleando un molde de caucho de silicona.³³

Aunque todos los procesos de micro moldeo presentan la característica de ser de bajo costo y presentar un proceso sencillo, el moldeo del polímero solubilizado presenta la ventaja de no involucrar altas temperaturas en su proceso de fabricación. La principal limitación de este último método es la pérdida de resistencia mecánica debido a la formación de poros por un mal llenado del molde; para darle solución a este problema, es necesario añadir ciertos pasos al proceso. La centrifugación,⁴⁴ secado al vacío⁴⁵ o desgasificación a presión reducida⁴⁶ ha demostrado desarrollar microagujas poliméricas con la forma adecuada y con propiedades mecánicas satisfactorias.

2.4.5 Potencial de las microagujas en la regeneración tisular

Las heridas libres de cicatrices han sido objetivo de muchas investigaciones, ya que las cicatrices tienen el potencial de ejercer un profundo impacto físico y psicológico en el paciente. Más allá de las consideraciones estéticas y la posible desfiguración, las cicatrices pueden resultar en una restricción del movimiento y una reducción de la calidad de vida. Más de 100 millones de pacientes adquieren cicatrices cada año y, por el momento, las investigaciones han permitido el desarrollo de terapias reductoras de cicatrices con una efectividad mínima.⁴⁷

Uno de los procedimientos más eficaces y prometedores para reducir las cicatrices y optimizar la apariencia de la piel es la inducción percutánea de colágeno, la cual consiste en realizar micropunciones en la piel con el objetivo de estimular el colágeno y la elastina, creando más sujeción en el tejido, esta normalmente se lleva a cabo mediante dispositivos de punción médica de 3 mm. Se ha demostrado que los mismos beneficios, capacidad regenerativa y potencial de reducir la cicatriz, se pueden lograr mediante una sola aplicación usando microagujas de 1 mm e incluso podrían dar mejores resultados al repetir las sesiones.⁴⁸ Además, la hinchazón e inflamación resultantes no son tan graves en comparación con las de dispositivos de punción médica de 3mm y debido a la longitud reducida de las microagujas no es necesario el uso de anestesia.

Un posible mecanismo mediante el cual las microagujas facilitan la reparación de la piel sin dejar cicatrices se basa en la proliferación celular inducida por señales eléctricas. Estas conducen a una mayor motilidad de las células epiteliales y endoteliales en el área de la herida y, posteriormente, a la expresión de factores de crecimiento que facilitan la curación. Además de cicatrices por lesiones, se han obtenido muy buenos resultados en cicatrices por acné, quemaduras y en la reducción de la hiperpigmentación.⁴⁹

2.5 Regeneración tisular

La cicatrización es un mecanismo de supervivencia que comienza inmediatamente después de sufrir una lesión, esta requiere de una interacción compleja y coordinada entre células inflamatorias y mediadores. El proceso de cicatrización consiste en la eliminación de los tejidos dañados o destruidos por una lesión y la posterior restauración del tejido, esto puede ocurrir por regeneración espontánea del tejido o mediante la reparación del tejido conectivo; el modo de reparación va a depender principalmente de la profundidad del tejido afectado.⁵⁰

Cuando la lesión no es profunda, afecta únicamente a la epidermis y existe una mínima pérdida de tejido; la regeneración del tejido es rápida, ocurre durante las primeras 12-24 horas, a este tipo de cicatrización se le conoce como de primera intención o primaria. Sin embargo, cuando la herida es profunda, y se ve implicada una pérdida de tejido dérmico y anexos cutáneos, no se alcanza a regenerar la arquitectura normal de la piel debido a la pérdida extensiva del tejido, ya sea por un trauma severo o quemadura, a este tipo de cicatrización se le conoce como de segunda intención o secundaria y el tiempo de cicatrización estará en función de la extensión de la herida, en esta situación el proceso de cicatrización dependerá de la formación de tejido conectivo para llenar el déficit de la herida.⁵¹ Estas últimas son más propensas a complicaciones como infecciones y suelen darse en pacientes con comorbilidades, estos son factores que generan las heridas crónicas.

2.5.1 Etapas del proceso de cicatrización

El proceso de cicatrización se divide principalmente en 3 fases : (1) fase inflamatoria, (2) fase proliferativa (angiogénesis, granulación, re-epitelización), (3) fase de remodelación (remodelación de la matriz extracelular).⁵² Sin embargo, algunos autores hacen hincapié en mencionar el proceso de hemostasia como un primer paso y no como subfase de la fase inflamatoria, destacando la importancia de las respuestas vasculares, dando como resultado la división del proceso de cicatrización en cuatro fases (Cuadro 14).⁵⁰ En heridas normales (no crónicas) el proceso de cicatrización se completa en aproximadamente de 3 a 14 días.⁵³

El proceso se ve caracterizado por el movimiento de células especializadas hacia el sitio de la herida. Las primeras células en llegar al sitio de la lesión son las plaquetas y las células inflamatorias, proporcionan funciones clave y “señales” necesarias para la llegada de

células del tejido conectivo y un nuevo suministro de sangre. Estas señales químicas se conocen como citocinas o factores de crecimiento.

Cuadro 14. Proceso de cicatrización.⁵²

<p>Hemostasis</p> <p>Sucede dentro de los primeros 5 a 15 minutos.</p>	<p>La primera respuesta en tejido vascularizado es la hemostasis, esta ocurre mediante la vasoconstricción y la activación mediada por plaquetas de la cascada de coagulación intrínseca, una función secundaria pero igualmente importante de las plaquetas es iniciar el proceso de cicatrización mediante la liberación de quimio atrayentes y factores de crecimiento. El coágulo resultante proporciona apoyo para la infiltración de células inflamatorias. Cuando se controla el sangrado, las células inflamatorias migran a la herida (quimiotaxis) y promueven la fase inflamatoria.</p> <p>En esta fase, las plaquetas y los macrófagos son las fuentes principales de citocinas y de factores quimiotácticos.</p>
<p>Fase inflamatoria</p> <p>Sucede dentro de las primeras 24 a 48 hrs y puede persistir hasta las 2 semanas en algunos casos</p>	<p>A una fase de vasoconstricción rápida, indispensable para la hemostasia inmediata, sigue una vasodilatación que permite que las células circulantes lleguen al foco de la herida.⁵⁴ La inflamación se caracteriza por la ruptura del andamiaje tisular preexistente y la limpieza de restos celulares, extracelulares y patógenos. La descomposición de la matriz también permite la migración de neutrófilos, macrófagos, células epidérmicas y fibroblastos al sitio de la lesión, lo que permite la reparación. Los macrófagos se consideran las células reguladoras más importantes en la reacción inflamatoria.</p> <p>Los signos de inflamación incluyen enrojecimiento, hinchazón y calor.</p>
<p>Fase proliferativa</p> <p>Sucede dentro de 3 a 4 días después de la lesión hasta los 21 días.</p>	<p>En esta fase la actividad celular predomina. Esta se compone de distintos procesos: generación de una barrera permeable (re-epitelización), el establecimiento de un suministro de sangre apropiado (angiogénesis) y el refuerzo del tejido lesionado (granulación).</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>Re-epitelización</u>: Es el proceso de restaurar una epidermis intacta después de una lesión cutánea. Se desarrolla en varias fases: migración de las células epiteliales a partir de los bordes o de los anejos, multiplicación y diferenciación de la epidermis formada. La epitelización es determinante en las heridas poco profundas como las quemaduras superficiales o las dermoabrasiones.⁵⁴ • <u>Granulación</u>: La reconstitución del tejido se ve caracterizada por la formación de tejido de granulación y la acumulación de

	<p>fibroblastos, llamada fibroplasia. Los fibroblastos sintetizan una nueva matriz extracelular que en un principio está formada sobre todo por colágeno III y colágeno I, fibronectina y proteoglicanos.⁵⁴</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>Angiogénesis</u>: Es un proceso clave para el proceso de cicatrización. Consiste en el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes.
<p>Fase de remodelación</p> <p>Sucede pocos días después de la lesión hasta los 2 años.</p>	<p>La fase de remodelación implica la deposición de la matriz y sus posteriores cambios a través del tiempo.</p> <p>Ocurre durante todo el proceso de reparación de la herida como un coágulo de fibrina formado en la fase inflamatoria temprana, que luego es reemplazado por el tejido de granulación en la fase proliferativa. Posteriormente, el tejido de granulación también se reemplaza por una cicatriz de colágeno</p>

2.5.1.1 Factores de crecimiento involucrados en la cicatrización

Esta cascada de eventos en la cicatrización se conduce por los factores del crecimiento, estos son generados por las células implicadas en el proceso como queratinocitos, fibroblastos y células inflamatorias. Dependiendo de la etapa en la que se encuentre el proceso de cicatrización se destaca la actividad de ciertos factores de crecimiento (Cuadro 15 y 16).

Cuadro 15. Principales factores de crecimiento que se ven implicados durante el proceso de cicatrización.⁵¹

Fase inflamatoria	<p>Se destaca la actividad del:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Factor de crecimiento transformante <i>beta</i> (TGF <i>B</i>) - Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) - Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) - Junto con interleucinas implicadas en la inflamación
Fase proliferativa	<p>Sobresalen:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Factor de crecimiento epidermal (EGF) - Factor de crecimiento de los queratinocitos (KGF) - Factor de crecimiento de los fibroblastos básico (b FGF) - Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)

	<ul style="list-style-type: none"> - Factor de crecimiento nervioso (NGF) - Factor de crecimiento insulínico (IGF)
Fase de remodelación	Conducida por factores como: <ul style="list-style-type: none"> - Factor de crecimiento de los hepatocitos ((HGF) - Factor de crecimiento de los queratinocitos (KGF) - Factor de crecimiento epidermal (EGF) - Factor de crecimiento de los fibroblastos básico (b FGF) - Factor de crecimiento transformante <i>beta</i> (TGF <i>B</i>) - Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)

Cuadro 16. Principales actividades de los factores de crecimiento.⁵⁴

Factor de crecimiento	Células productoras	Actividad
TGF <i>B</i>	Plaquetas, macrófagos, linfocitos, fibroblastos	Proliferación de los fibroblastos y de las células endoteliales, síntesis de matriz extracelular
PDGF	Plaquetas, queratinocitos, células endoteliales, fibroblastos	Migración y proliferación de los fibroblastos, síntesis de colágeno. Quimiotáctico para neutrófilos y monocitos
b FGF	Queratinocitos, fibroblastos, plaquetas	Angiogénesis Epitelización
VEGF	Queratinocitos, macrófagos, plaquetas	Angiogénesis
KGF	Fibroblastos	Migración y proliferación de los queratinocitos
EGF	Plaquetas, queratinocitos, macrófagos	Migración y proliferación de los queratinocitos Proliferación de las células endoteliales y de los fibroblastos

2.6 Heridas crónicas

La inducción de los procesos de curación depende de factores locales de la herida, mediadores sistémicos, posibles enfermedades subyacentes y el tipo de lesión de piel. Dependiendo del sutil equilibrio de los factores implicados, se puede producir una forma fisiológica de curación (heridas agudas) o una cicatrización patológicamente retrasada (herida crónica), en este último caso la cascada de curación se detiene; para que una herida se considere crónica debe permanecer abierta por más de 90 días.⁵⁵ Las heridas crónicas se

ven caracterizadas por encontrarse estancadas en la fase inflamatoria, mediada por citoquinas proinflamatorias; mientras que en las heridas agudas la fase inflamatoria dura de días a semanas, las heridas crónicas pueden permanecer en esta fase por meses o años.

Existen diferentes tipos de heridas crónicas, como úlceras de pie diabético, úlceras venosas en las piernas y úlceras por presión. En México, las úlceras de pie diabético representan la principal lesión de este tipo, lo cual puede relacionarse con la elevada prevalencia de diabetes mellitus en nuestro país.² Una úlcera se considera crónica si no alcanza una curación completa en seis semanas o no se obtiene respuesta adecuada a un cambio de tratamiento.

Mientras que el principal reto en las heridas agudas es prevenir la contracción excesiva y la generación de cicatriz, en heridas crónicas el mayor obstáculo es el promover el cierre de la herida, debido a que múltiples complicaciones pueden derivar de la herida y poner en riesgo la vida del paciente. Las heridas que no cicatrizan requieren de un abordaje multidisciplinario integrado, si bien se han introducido varios factores terapéuticos para el tratamiento de heridas crónicas, su éxito clínico ha sido limitado debido a la entrega ineficaz al lecho de la herida.⁵⁶ Este impedimento surge por la presencia del *biofilm* y el tejido necrótico, ya que separan las células sanas del interior de la piel al exterior.

2.6.1 Factores que generan obstáculos en la cicatrización

Múltiples factores pueden provocar una cicatrización deficiente de las heridas. Los factores que influyen en el proceso de cicatrización se pueden clasificar en locales y sistémicos.⁵⁷ Los factores que influyen directamente en las características de la herida son conocidos como factores locales, mientras que el estado general de salud o enfermedad del individuo que afectan la capacidad de curación son los factores sistémicos (Cuadro 17). El tratamiento de las heridas crónicas debe dirigirse contra los principales factores etiológicos responsables de la herida. Sin embargo, los factores que impiden la curación deben identificarse y corregirse para que se produzca una correcta cicatrización.

Cuadro 17. Factores locales y sistémicos que afectan el proceso de cicatrización.⁵⁷

Factores locales	<ul style="list-style-type: none">• Oxigenación• Infecciones• Cuerpos extraños en la lesión• Insuficiencia venosa• pH de la herida
Factores sistémicos	<ul style="list-style-type: none">• Edad y género• Hormonas sexuales

	<ul style="list-style-type: none"> • Estrés • Isquemia • Enfermedades (por ejemplo: diabetes, queloides, fibrosis, trastornos de curación hereditarios, etc.) • Obesidad • Medicamentos (por ejemplo: AINE's, quimioterapia, glucocorticoides, etc.) • Hábitos de estilo de vida (Alcohol y cigarro) • Condiciones inmunocomprometidas (por ejemplo: cáncer, SIDA, terapia por radiación, etc.) • Nutrición
--	---

2.6.2 Tratamiento en heridas crónicas

Guías para la prevención de úlceras por presión y heridas crónicas presentan dos tipos de curas: secas o húmedas:

- Cura seca:

Se usa poco debido a que retrasa la cicatrización. Esta consiste en mantener la herida limpia y seca para prevenir infecciones, siendo la responsable de:⁵⁸

- Disminuir la temperatura en el lecho ulceral, provocando que las células sanas se sequen y mueran.
- Eliminar la humedad, originando que las células epidérmicas emigren hacia el interior, retrasando el proceso de cicatrización.
- Originar una costra, que se fija en planos inferiores mediante fibras de colágeno, impidiendo la aparición del nuevo tejido.
- Exponer la herida a contaminantes externos.

- Cura húmeda:

Esta debe mantener un ambiente húmedo y caliente, lo que genera una buena cicatrización. Consiste en mantener la herida húmeda, y la piel perilesional seca. Estudios han demostrado mayor efectividad clínica y mejores resultados coste/beneficio de esta técnica en ambiente húmedo frente a la cura tradicional. Algunas de las propiedades de la cura en ambiente húmedo son:^{58,59}

- Aumento del aporte de oxígeno y nutrientes a través de la angiogénesis.

- Acidificación del pH de la zona, creando un ambiente bacteriostático que disminuye el riesgo de infección.
- Facilidad para la migración celular.
- Control del exudado sin perjudicar la piel periulceral.
- Protección de las heridas de la contaminación.
- Reducción de los tiempos de cicatrización.
- Reducen el dolor. Renovaciones fáciles y espaciadas.

2.6.3 Infecciones en heridas crónicas

Las heridas crónicas, aparte de encontrarse en un prolongado y excesivo estadio en la etapa inflamatoria, se ven caracterizadas por infecciones persistentes.⁴ Una vez que la piel se lesiona, los microorganismos que normalmente se encuentran en la superficie de la piel obtienen acceso a los tejidos subyacentes. Además, el tejido muerto proporciona un medio de crecimiento para las bacterias, aumentando la probabilidad de infección en la herida. El estado de infección y el estado de replicación de los microorganismos determina si la herida se clasifica como contaminada, colonizada, infección local/colonización crítica o infección invasiva diseminada (Cuadro 18).⁵⁷

Es incorrecto pensar que una herida debe ser estéril para sanar correctamente. Todas las heridas deberían de considerarse contaminadas, pero se ha demostrado que el número crítico de bacterias capaces de causar una infección es de 10^5 bacterias por gramo de tejido para la mayoría de estas.⁹ En ausencia de una descontaminación eficaz, la inflamación puede prolongarse y, si esto continua, la herida puede entrar en un estado crónico y no sanar. Las bacterias en las heridas se presentan en forma de *biofilm* y conforme estas maduran desarrollan un microambiente protegido y son más resistentes al tratamiento antibiótico convencional.

El *biofilm* (biopelícula) es la agrupación de un tipo o más de microorganismos que quedan envueltos en una estructura polimérica creando una barrera por medio de la cual los microorganismos se protegen de las amenazas externas.⁶⁰ Esta adhesión a una superficie húmeda es de carácter irreversible, por lo tanto, el biofilm no logra ser removido mediante lavado suave.⁶¹ Estas estimulan aún más la elevación prolongada de mediadores proinflamatorios, citocinas y degradan algunos factores de crecimiento involucrados en el proceso de cicatrización.⁶ La mayoría de las heridas crónicas presentan *biofilm* en una parte del lecho de la herida, la eliminación y el bloqueo de la formación de nuevo *biofilm* constituyen partes esenciales del tratamiento y la modalidad más eficaz para lograrlo es el

desbridamiento; aunque un correcto desbridamiento de la herida ayuda a controlar el crecimiento bacteriano, esto no siempre resulta suficiente.

Estafilococo. P. aeruginosa y *Staphylococcus* parecen desempeñar un papel importante en la infección bacteriana de las heridas, múltiples úlceras crónicas no se curan debido a la presencia de *biofilm* que contienen *S. aureus*; entre los pacientes hospitalizados, entre el 8 y el 10% son susceptibles a la infección por bacterias patógenas oportunistas como *P. aeruginosa* y *S. aureus*, que son conocidas por formar infecciones crónicas basadas en biopelículas en sus huéspedes.⁶

La naturaleza crónica de muchas heridas está directamente relacionada con las altas concentraciones bacterianas en los tejidos de la herida.³ Como se mencionó anteriormente, todas las heridas crónicas se deben considerar colonizadas, pero solo la mitad se deben considerar clínicamente infectadas. Un diagnóstico definitivo de infección se realiza por la presencia de material purulento que sale de la herida o la generación de una inflamación mayor que la inflamación normal presente en el proceso de cicatrización, también puede hacerse a partir del número de bacterias por gramo de tejido de la herida.⁶²

El factor introducido más importante que se adopta en cuanto a manejo de infecciones es el uso de antibióticos, los expertos sugieren que estos tienen un papel importante a desempeñar en el tratamiento de las heridas crónicas clínicamente infectadas. La administración de estos agentes a buen tiempo, por la ruta indicada y en la dosis terapéutica necesaria debería, teóricamente, ser capaz de tratar una infección por parte de organismos susceptibles al agente administrado. Los antibióticos solo deben de usarse para las heridas clínicamente infectadas y estos deben de suspenderse cuando los signos clínicos de infección se hayan resuelto, en lugar de esperar hasta que la úlcera sane, lo cual podría llevar meses.

Cuadro 18. Diferentes estados de infección en una herida.⁵⁷

Contaminación	Presencia de organismos que no se replican en una herida.
Colonización	Presencia de microorganismos que se replican en la herida sin dañar el tejido.
Infección local/ colonización crítica	Es una etapa intermedia, con la replicación de microorganismos y el comienzo de respuestas de tejidos locales.
Infección invasiva	Presencia de organismos que se replican de una herida con una lesión posterior del huésped

2.6.3.1 Uso de antibióticos en heridas crónicas

Antes de que la terapia con antibióticos estuviera disponible, las úlceras de pie diabético resultaban en amputaciones importantes de las extremidades y mortalidad ocasional, por lo tanto, las intervenciones quirúrgicas eran el pilar del tratamiento. El uso de antibióticos ciertamente está asociado a varios efectos adversos potencialmente importantes, por lo que su uso se debe restringir a situaciones donde estos sean necesarios. Muchos médicos prescriben antibióticos cuando no están seguros de la presencia de una infección, actualmente no hay evidencia de que la terapia con antibióticos para heridas clínicamente no infectadas reduzca el riesgo de desarrollar una infección o mejore la cicatrización de heridas.¹¹

El Grupo de trabajo internacional sobre pie diabético (IWGDF, por sus siglas en inglés), recomiendan la implementación de antibióticos de amplio espectro en presencia de infecciones. La lista de regímenes sugeridos incluye ampicilina / sulbactam, ticarcilina / clavulánico, co-amoxiclav, clindamicina y una quinolona, cefalosporina de segunda o tercera generación y una quinolona, y metronidazol con una quinolona.¹²

Como regla general, el uso de antibióticos sistémicos se justifica cuando el grado de infección de la herida excede lo que se puede controlar con intervenciones locales como el desbridamiento, limpieza de la herida y uso de antisépticos. Algunas guías internacionales sugieren que los agentes tópicos ocasionalmente pueden ser útiles, pero no los apoyan firmemente, mientras que otros consensos nacionales ni siquiera los mencionan.

¿Deberían de ser considerados los antibióticos tópicos como terapia para heridas infectadas?

El uso de antibióticos tópicos en un tratamiento por infección en herida crónica presenta potenciales ventajas frente a una terapia sistémica (Cuadro 19). Tradicionalmente, los antimicrobianos tópicos se han formulado como ungüentos, cremas y, más recientemente, apósitos con fibras de alginato, andamios, espumas y esponjas.¹⁷ Al mencionar agentes antimicrobianos se engloban tanto los antisépticos como los antibióticos, los antisépticos tópicos entran dentro de las primeras recomendaciones pero para el tratamiento de heridas clínicamente infectadas se sugiere evitar el uso de antibióticos tópicos y más si estos están disponibles para la terapia sistémica.

Cuadro 19. Potenciales ventajas al usar antibióticos tópicos en infecciones de heridas crónicas.¹⁷

Concentración alta y sostenida de antimicrobiano en el sitio de la infección
Menor cantidad del antimicrobiano necesario a cargar

Potencial limitado de absorción sistémica y toxicidad
Uso de agentes nuevos no disponibles para esta vía
Reducción del desarrollo de resistencia antibacteriana al evitar el uso de antibióticos sistémicos
Fácil aplicación al ser paciente ambulatorio, lo que reduce potencialmente la necesidad de atención médica
Mejor adherencia al tratamiento
Evita efecto del primer paso
Mejora la biodisponibilidad del antimicrobiano en el sitio de acción en casos de heridas isquémicas

El principal argumento en contra del uso de antibióticos tópicos es la falta de pruebas adecuadas de eficacia y esto se debe a que tales sistemas ignoran la fisiopatología de las heridas crónicas, donde hay presencia de tejido necrótico o escara; esto representa un desafío en la penetración del fármaco ya que la molécula debe difundir a través de la escara para acceder a las células sanas. Además, el exudado de las heridas puede lavar los agentes terapéuticos administrados tópicamente o desactivarlos debido a la presencia de diversas enzimas y proteínas. Por lo tanto, estos sistemas generan una baja disponibilidad del activo en el sitio de acción.¹⁴

Los sistemas físicos como la iontoforesis, los inyectores de chorro líquido y las microagujas son fáciles de operar y pueden superar algunos de los desafíos enumerados anteriormente para mejorar la concentración y biodisponibilidad de los agentes terapéuticos en el lecho de la herida. Entre ellos, las microagujas son una de las plataformas más robustas disponibles para la administración de diversos fármacos y células al lecho de la herida.⁵⁶

2.6.3.2 Ceftriaxona

La Ceftriaxona es usada para el tratamiento de ciertas infecciones provocadas por bacterias como la gonorrea, enfermedad pélvica inflamatoria, meningitis e infecciones de los pulmones, oídos, piel, tracto urinario, sangre, huesos, articulaciones y abdomen. Esta es una cefalosporina de "tercera generación". Las cefalosporinas son agentes antibacterianos que pertenecen al grupo de los β -lactámicos; estas, al igual que el resto de los antibióticos

β -lactámicos, ejercen su actividad antibacteriana inhibiendo la síntesis del peptidoglicano, produciendo finalmente lisis bacteriana.⁶³ La ceftriaxona tiene un amplio espectro de actividad contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.

- Bacterias Gram positivas

La ceftriaxona generalmente inhibe el 90% de las cepas de *Staphylococcus aureus* en una concentración de 3 a 7 mg/L y fue igualmente activo contra cepas sensibles a la penicilina y resistentes a la penicilina. *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes* (grupo A) son muy sensibles a ceftriaxona, y la mayoría de los aislamientos se inhiben en 0,1 y 0,2 mg / L o menos, respectivamente. Concentraciones tan bajas como 0.025 mg / L frecuentemente inhiben muchos de estos organismos.⁶⁴

- Bacterias Gram negativas

Como cefalosporina de "tercera generación", la ceftriaxona exhibe un espectro de actividad más amplio y una mayor potencia contra los organismos gram negativos que las cefalosporinas de "primera generación" y "segunda generación". Numerosos estudios *in vitro* han demostrado que muchos organismos Gram negativos, incluida *Escherichia coli*. Especies de *Klebsiella*, *Proteus mirabilis*. Especies de *Providencia*, Especies de *Serratia*, *Haemophilus influenzae*. *Neisseria gonorrhoeae*. *Neisseria meningitidis*, *Citrobacter diversus*. y las especies de *Salmonella* y *Shigella*, son muy susceptibles a la inhibición por ceftriaxona (valores de concentración mínima inhibitoria 90 [CMI 90] generalmente de 1 mg /L o menos). La actividad de ceftriaxona contra *Pseudomona aeruginosa* ha variado ampliamente entre laboratorios (valores de CMI 90 de 16 a 200 mg / L) y, en general, se requieren al menos 32 mg / L para inhibir la mayoría de los aislados.⁶⁴

- Ceftriaxona en infecciones de piel, tejidos blandos, huesos y articulaciones

La ceftriaxona se ha utilizado con éxito en infecciones óseas, en heridas infectadas de la piel y tejido subcutáneo como celulitis, abscesos o úlceras necrotizantes. Cuando se combinaron los datos de más de 150 pacientes clínicamente evaluables, aproximadamente el 88% de las infecciones óseas y el 91% de las infecciones de piel o tejidos blandos mejoraron o se curaron por completo, incluidos los de 56 de 60 pacientes que se autoadministraron su medicación después del alta del hospital.⁶⁴

2.6.4 Microagujas en heridas crónicas

El tratamiento de heridas crónicas se ha mantenido como un problema de salud importante y su tratamiento sigue siendo un reto al día de hoy; el uso de microagujas ha demostrado ser una herramienta atinada de acuerdo a la fisiopatología de las heridas crónicas,⁵⁶ ya que

son capaces de penetrar la biopelícula y específicamente entregar el fármaco a la zona afectada.¹⁴ Además, el uso de polímeros, como material de fabricación, les confieren ciertas ventajas en la liberación del activo. Por lo tanto, este tipo de sistemas se sitúa sobre los demás, donde el éxito de la terapia se ve limitada por la entrega ineficiente en el lecho de la herida.

Dicho esto, el uso de microagujas puede ser un cambio de paradigma efectivo de los métodos actuales utilizados en las practica clínicas de cuidado de heridas. Cabe mencionar que las microagujas no resultan ser un tratamiento definitivo para las heridas crónicas. Las heridas que presentan patologías en tejido profundo, como infecciones que han llegado a hueso, no deben ser tratadas con microagujas ya que requieren otro tipo de intervención.

3. Objetivo e Hipótesis

3.1 Objetivo General

Desarrollar un arreglo de microagujas poliméricas cargadas con ceftriaxona mediante el uso de polímeros biodegradables y pruebas fisicoquímicas y biofarmacéuticas de caracterización con el fin de generar una alternativa al tratamiento sistémico de infecciones en heridas cónicas.

3.2 Objetivos Particulares

- Desarrollar microagujas poliméricas biodegradables mediante la selección de polímeros que presenten mejores propiedades físicas y químicas con la finalidad de generar una alternativa para el tratamiento de heridas crónicas.
- Realizar pruebas biofarmacéuticas al sistema transdérmico mediante la determinación del perfil de liberación, mecanismo de liberación y pruebas de permeación para garantizar la liberación de ceftriaxona.
- Llevar a cabo la optimización de la formulación mediante el uso de softwares especializados en el diseño de experimentos para obtener un sistema con respuestas predecibles y reproducibles.
- Realizar la validación de un método espectrofotométrico para cuantificar ceftriaxona acorde a la normatividad nacional o internacional vigente, así como guías, para la determinación de contenido químico en las microagujas.

3.3 Hipótesis

Si las características físicas y químicas de las microagujas (dureza, resistencia a la ruptura, bioadhesión, bioadhesión posthumectación y contenido químico) son óptimas, al igual que sus características biofarmacéuticas (perfil y mecanismo de liberación), entonces se podrá garantizar la estabilidad y liberación de ceftriaxona y con ello obtener una nueva forma farmacéutica como alternativa novedosa para el tratamiento de infecciones en heridas crónicas.

4. Metodología

4.1 Etapa I- Optimización de las microagujas poliméricas biodegradables

4.1.1 Diseño Experimental

Para la optimización de las microagujas poliméricas biodegradables se empleó un diseño Box Behnken completamente aleatorizado. La cantidad de D-pantenol (X1) y Colágeno (X2) se eligieron como variables independientes, utilizando dos niveles, bajo y alto denotados por los valores codificados: -1 y 1, respectivamente (Tabla 1). Se adicionaron tres réplicas del punto central codificado como 0. Se obtuvieron 12 corridas, incluyendo 3 puntos centrales por bloque (Tabla 2).

Tabla 1. Variables independientes, dependientes y niveles utilizados en el diseño experimental

Variables independientes	Niveles codificados		
	-1	0	1
X1 D-pantenol (%)	2	4	6
X2 Colágeno (mg)	250	375	500
Variables dependientes (respuestas)			
Y1 = bioadhesión (g.f)		Y5 = Irritabilidad	
Y2 = bioadhesión posthumectación (g.f)		Y6 = TEWL	
Y3 = resistencia a la ruptura (g.f)		Y7 = Hidratación	
Y4 = pH		Y8 = Liberación a 50 min (%)	

Tabla 2. Matriz de diseño para microagujas poliméricas biodegradables

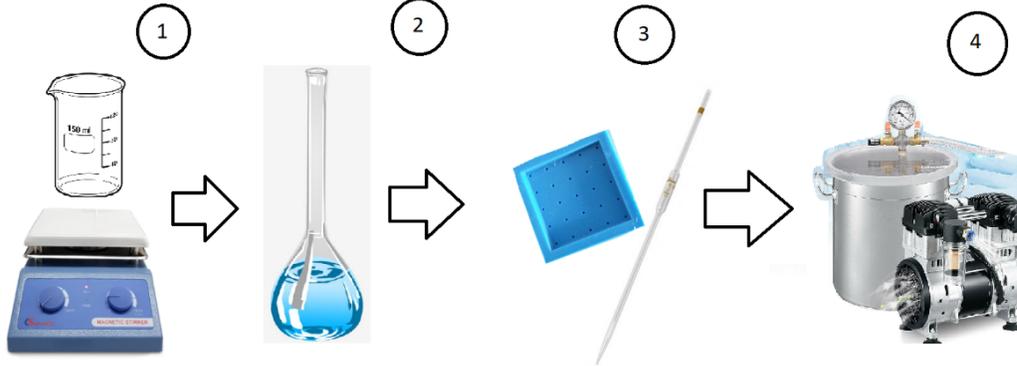
Formulación	X1	X2
	%	Mg
1	6	375
2	4	375
3	4	500
4	4	375
5	6	500
6	6	250

Formulación	X1	X2
	%	mg
7	2	375
8	2	500
9	4	250
10	4	375
11	4	375
12	2	250

4.1.2 Preparación de los lotes

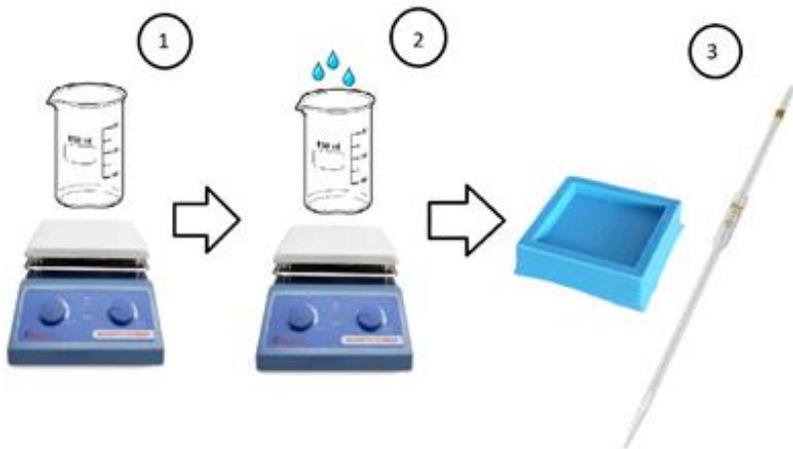
Las microagujas poliméricas biodegradables se prepararon siguiendo el método descrito en la Figura 6.

A- Preparación de las microagujas cargadas (Kollicoat 100P)



- 1.- Solución Kollicoat 100P (8% p/v), 340 mcl propilenglicol, Metabisulfito potásico (1% p/v) y 500 mg Ceftriaxona
- 2.- Llevar a la marca de aforo en un matraz volumétrico de 25 ml
- 3.- Adicionar 1 ml de la solución a los moldes para microagujas
- 4.- Someter a vacío por 1 hr, dejar secar

B- Preparación de la base (PMVEMA)



- 1.- Solución PMVEMA (6% p/v), D-pantenol (x1), Colágeno (x2), Antioxidante 1%, 150 mcl Propilenglicol. En un volumen total de 5 ml.
- 2.- Neutralización de la solución con NaOH
- 3.- Adición de la solución al molde (1 ml, hasta completar los 5 ml)

Figura 6. Representación esquemática de la preparación de las microagujas poliméricas biodegradables. (A) Preparación de las microagujas cargadas (Kollicoat 100P). (B) Preparación de la base (PMVEMA).

4.1.3 Caracterización Físicoquímica

Tabla 3. Pruebas Físicoquímicas e instrumentos de medición empleados en la caracterización de las microagujas poliméricas biodegradables.

Prueba	Instrumento de medición	Valores de referencia
Resistencia a la ruptura	Texturómetro (Analizador de textura) Marca: Brookfield Modelo: CT3 	10.20 - 305.91 g.f ⁶⁵ = Fuerza mínima necesaria para penetrar el estrato córneo.
Bioadhesión		1570±195.19 g.f ⁶⁶ = Buena bioadhesión
Bioadhesión posthumectación		1503.4±249,65 g.f ⁶⁶ = Buena bioadhesión posthumectación

Figura 7. Texturometro Brookfield CT3 empleado en las pruebas mencionadas



Figura 8. Montaje para la determinación de resistencia a la ruptura



Figura 9. Montaje para la determinación bioadhesión y bioadhesión posthumectación



Figura 10. Acomodo de microaguja para prueba de bioadhesión y bioadhesión posthumectación

Las tres pruebas se realizaron en un Analizador de textura Brookfield CT3 (Figura 7)

➤ **Resistencia a la ruptura:**

Condiciones de trabajo:

- Tipo de test: Ruptura
- Objetivo Test:
Target types: Stop @ Load
Corrección: 304 g
Espera t.: 0 s

- Parametros generales de test:
Carga activacion: 304 g
Vel. Test: 0.50 mm/seg
Volver a: Velocidad Post-Test
Sonda: TA-AACC38
Elemento: TA-RT-KIT
- Test multiple ciclo:
Contador ciclos: 1
Tpo. Recuperación: 0 s

Para la realizacion de la prueba se colocó el arreglo de microagujas sobre la plataforma circular (Figura 8), de manera en que las microagujas quedaran expuestas a la sonda acoplada al pistón, finalmente se inició el análisis en el modo de resistencia a la ruptura.

➤ **Bioadhesión:**

Condiciones de trabajo:

- Tipo de test: Tensión
- Objetivo Test:
Target types: Distancia
Valor meta: 30 mm
Espera t.: 0 s
- Parametros generales de test:
Carga activacion: 6.8 g
Vel. Test: 0.50 mm/seg
Volver a: Velocidad Post-Test
Sonda: TA-AACC38
Elemento: TA-RT-KIT
- Test multiple ciclo:
Contador ciclos: 1
Tpo. Recuperación: 0 s

Para la lectura, el arreglo de microagujas se colocó en la parte interior del brazo (Figura 10) y este se descansó en la plataforma circular del Texturómetro para evitar movimientos bruscos (Figura 9). Se fijó a la sonda del Texturómetro cinta doble cara y finalmente se inició el análisis en el modo de bioadhesión.

	<p>➤ Bioadhesión Posthumectación:</p> <p>Condiciones de trabajo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tipo de test: Tensión - Objetivo Test: Target types: Distancia Valor meta: 30 mm Espera t.: 0 s - Parametros generales de test: Carga activacion: 6.8 g Vel. Test: 0.50 mm/seg Volver a: Velocidad Post-Test Sonda: TA-AACC38 Elemento: TA-RT-KIT - Test multiple ciclo: Contador ciclos: 1 Tpo. Recuperación: 0 s <p>Previo a la lectura. Se atomizaron 3 veces, con agua destilada, a una distancia de 30 cm y se dejaron reposar por 10 min. Posteriormente, se colocaron en el brazo como se menciona en la prueba de Bioadhesión (Figura 9 y 10). Se fijó a la sonda del Texturómetro cinta doble cara y finalmente se inició el análisis en el modo de bioadhesión.</p>	
Liberación	<p>Disolutor Marca: Mayasa</p>  <p><i>Figura 11. Disolutor Mayasa empleado en la prueba mencionada</i></p> <p>La prueba de liberación se realizó en un aparato de disolución USP tipo II (MAYASA) (Figura 11). Cada arreglo</p>	--

de microagujas se colocó sobre un anillo metálico cubierto de teflón, a continuación, se cubrió con una porción de malla metálica de tal manera que únicamente el arreglo de microagujas se encontrara en contacto con el medio de disolución.

Condiciones de trabajo:

- 37°C
- 50 rpm
- 500 ml c/vaso
- Medio de buffer fosfatos pH=7.4

Se tomaron alícuotas de 2 ml. Se realizó el muestreo a los: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 195 min. Se sometió a la misma prueba un sistema placebo, el cual se usó como blanco.

Espectrofotómetro UV/Vis

Marca: VelaQuin

Modelo: VE 5100UV



Figura 12. Espectrofotometro VelaQuin VE 5100UV empleado para las lecturas de las muestras de liberación

Condiciones de trabajo:

- Longitud de onda - 274 nm
- Blanco - Placebo

Para la interpretación de las respuestas obtenidas en el espectrofotómetro (Figura 12), se empleó una curva de calibración de Ceftriaxona en medio de fosfatos.

Hidratación	Corneometer*	<30 = muy seco
-------------	--------------	----------------

	<p>Marca: C+K Electronic Modelo: CM 825</p>  <p><i>Figura 13. Córneometer CM 825 empleado en la prueba mencionada</i></p> <p>La medición con el Corneometer CM 825 (Figura 13) se basa en la medición de la capacitancia de un medio dieléctrico. Cualquier cambio en la constante dieléctrica debido a variación de la hidratación de la epidermis altera la capacitancia de un condensador de precisión. La medición puede detectar incluso los más ligeros cambios en el nivel de hidratación. La reproducibilidad de la medición es muy elevada y el tiempo de medición es mínimo (1 seg.)⁶⁷</p> <p>Superficie de medición: 49 mm Frecuencia: 0,9 - 1,2 MHz Precisión: ± 3% Dimensiones: 10,7 cm x Ø cm</p> <p>Para la lectura de hidratación, se colocaron las microagujas sobre la cara interior del brazo. La lectura se realizó después de una hora de exposición, se retiraron las microagujas y se tomaron las lecturas directamente en la zona de aplicación.</p>	<p>30-40 = seco</p> <p>>40 = suficiente humedad⁶⁸</p>
<p>TEWL (pérdida de agua transepidermal)</p>	<p>Tewameter* Marca: C+K Electronic Modelo: TM 300</p>  <p><i>Figura 14. Tewameter TM 300 empleado en la prueba mencionada</i></p>	<p>(g/h/m²)</p> <p>0-10 = muy saludable</p> <p>10-15 = saludable condición</p> <p>15-25 = piel tensa</p>

	<p>La medición con el Tewameter TM 300 (Figura 14) evalúa la Pérdida de agua transepidérmica (TEWL), parámetro indispensable para analizar la función barrera de la piel. El gradiente de evaporación del agua de la piel se obtiene indirectamente y resulta igual a la cantidad de agua (TEWL) expresada en g/h/m².⁶⁹</p> <p>Reproducibilidad: $\pm (0.15 \text{ g/h/m}^2 + 1.0 \%)$ Incertidumbre (max.): $\pm (0.5 \text{ g/h/m}^2 + 5.0 \%)$ Condiciones de operación: (T^a) 10-40° C; (HR) 30-70 % Dimensiones: (cámara) 2 cm x Ø 1 cm; (sonda) 17 cm (largo)</p> <p>La lectura se realizó directamente sobre la base de las microagujas.</p>	<p>>30 = condición crítica⁶⁸</p>
<p>pH</p>	<p>Skin-pH-meter* Marca: C+K Electronic Modelo: PH 905</p>  <p><i>Figura 15. Skin-pH-meter PH 905 empleado en la prueba mencionada</i></p> <p>Las mediciones con el Skin-pH-Meter PH 905 (Figura 15) se realizaron utilizando una sonda que consiste en un única varilla de vidrio que contiene todos los elementos del sensor. El diseño plano del cabezal de la sonda permite realizar mediciones directas sobre el arreglo de microagujas. Las mediciones comienzan presionando un botón situado en un lateral de la empuñadura de la sonda y los resultados aparecen de forma inmediata mostrando hasta dos decimales.⁷⁰</p> <p>Dimensiones: 22.8 cm Superficie de medición: 1 cm diam. (plana) Rango de medición: pH 0 a pH 12 Precisión: $\pm \text{pH } 0.1$ Resolución: pH 0.1</p>	<p>pH epidermis = 5.5</p> <p>pH dermis = 7-7.2²⁰</p>

	La lectura se realizo directamente sobre la base de las microagujas.	
Eritema	<p>Mexameter* Marca: C+K Electronic Modelo: MX 18</p>  <p><i>Figura 16. Mexameter MX 18 empleado en la prueba mencionada</i></p> <p>La medición con el Mexameter MX 18 (Figura 16) se basa en la absorción/reflexión. La sonda emite luz de 3 longitudes de onda específicas. Un receptor mide la luz reflejada por la piel. Las posiciones del emisor y el receptor garantizan que únicamente se mide la luz difusa y dispersa. Para la medición del eritema también se utilizan longitudes de onda específicas, correspondientes al máximo nivel de absorción espectral de la hemoglobina y evitando otras influencias de colores.⁷¹</p> <p>Superficie de medición: \varnothing 5 mm \approx 19,6 mm² Precisión: \pm 5% Longitud de onda (nm): verde: λ=568; rojo: λ=660; infrarrojo: λ=870 Dimensiones: 13 cm x \varnothing 2,4 cm (largo x diámetro)</p> <p>Para la lectura del eritema, se colocaron las microagujas sobre la cara interior del brazo. La lectura se realizó después de una hora de exposición, se retiraron las microagujas y se tomaron las lecturas directamente en la zona de aplicación.</p>	<p>0-170 = No eritema</p> <p>170 - 330 = Eritema mínimo</p> <p>330 - 450 = Enrojecimiento difuso</p> <p>450 – 570 = Alto eritema</p> <p>>570 = Eritema extremo⁶⁸</p>

***Sondas acopladas a Sistema Multi Probe Adapter (MPA) (Figura 17)**

Marca: C+K Electronic

Modelo: MPA 2



Figura 17. Sistema Multi Probe Adapter MPA 2 al cual se acoplan las sondas mencionadas

4.2 Etapa II- Caracterización de la formulación optimizada

Se aplicaron las mismas pruebas fisicoquímicas mencionadas en la Tabla 2. Las pruebas se realizaron por triplicado.

- **Contenido Químico**

Se realizó la cuantificación empleando un método espectrofotométrico validado (Anexo 2), por triplicado, se utilizó un espectrofotómetro UV/VIS modelo VE 5100UV (Figura 10). La valoración del producto terminado se llevó a cabo mediante una comparación con un estándar de ceftriaxona, este se hizo a una longitud de onda de 274 nm, empleando un placebo del producto como blanco (Anexo 1).

En la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos se especifica que el contenido químico para sistemas transdérmicos debe ubicarse entre el intervalo de 85.0 y 115.0 % y ninguna fuera del intervalo de 75.0 a 125.0 % de la cantidad declarada en el marbete y el coeficiente de variación no debe ser mayor a 6.0 %, esto aplica tanto a sistemas matriciales como a sistemas tipo reservorio.

- **Microscopia**

Microscopio binocular

Marca: VELAB

Modelo VE-B1/B0



Figura 18. Microscopio VELAB empleado en prueba de microscopia

Previo a la prueba, con la ayuda de un bisturí, se cortó una aguja de la base de arreglos de microagujas. La muestra de aguja se observó a microscopio (Figura 18) a 40X.

4.3 Etapa III- Estudios de permeación *ex vivo*

Los estudios de permeación *ex vivo* se realizaron utilizando piel de abdomen humana.

4.3.1 Preparación del tejido

El tejido de abdomen humano se obtuvo de una donación (Ángeles Inn Chapultepec) y se mantuvo en congelación (-20°C) para evitar su descomposición. Se realizó la limpieza y acondicionamiento, es decir, se separó la piel del tejido adiposo (Figura 19). Se cortaron porciones de 3.2 x 3.2 cm, aproximadamente.



Figura 19. Preparación de piel humana para prueba de permeación.

4.3.2 Permeación *ex vivo*

Para el estudio de permeación *ex vivo*, se establecieron dos condiciones: Piel sana y piel dañada, cada una por triplicado, además montando un cuarto sistema con un placebo de la

formulación con el fin de usarlo como blanco, dando un total de 4 sistemas por condición establecida; esto con el fin de ver si existía un aumento en la permeación del fármaco a causa de una lesión en la piel. Para la condición de piel sana, se utilizaron las porciones de piel tal cual se obtuvieron en la previa preparación del tejido; se montó el tejido entre los dos compartimentos de las celdas difusoras (Figura 21), previamente se midió el volumen del compartimento receptor y se colocó una marca, con el fin de no variar el volumen total del medio (Figura 20).

Ya montado el sistema, se adicionó el medio hasta la marca previamente establecida, asegurándose un buen sellado y que no existiera presencia de burbujas que afectaran la prueba, y se mantuvieron en agitación constante a una temperatura de 37°C. Los tiempos de muestreo fueron los siguientes: 2, 4, 6, 8, 24, 26, 28, 30 y 32 hrs; por lo tanto, la prueba tuvo una duración de dos días. Las alícuotas que se tomaron fueron de 2 ml, siempre reponiéndose con el mismo medio para mantener las condiciones iniciales, y estas se leyeron a 274 nm, previamente ajustando a 0 con la alícuota correspondiente del sistema placebo. Como medio se empleó un Buffer de HEPES de pH=7.4, con el fin de establecer condiciones similares al pH fisiológico.

Para la condición de piel dañada, a las porciones de piel que se obtuvieron en la preparación previa del tejido, se les realizó un raspado con bisturí (Figura 22) para comprometer la condición inicial del estrato córneo y simular una lesión en la piel. Posteriormente, se llevó a cabo el mismo proceso de montaje mencionado anteriormente.



Figura 20. Celdas difusoras de Franz

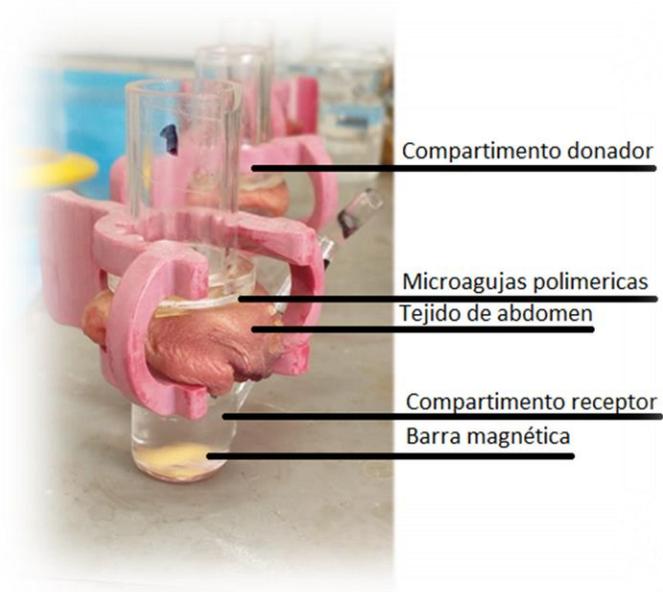


Figura 21. Elementos del sistema empleado para el estudio de permeación

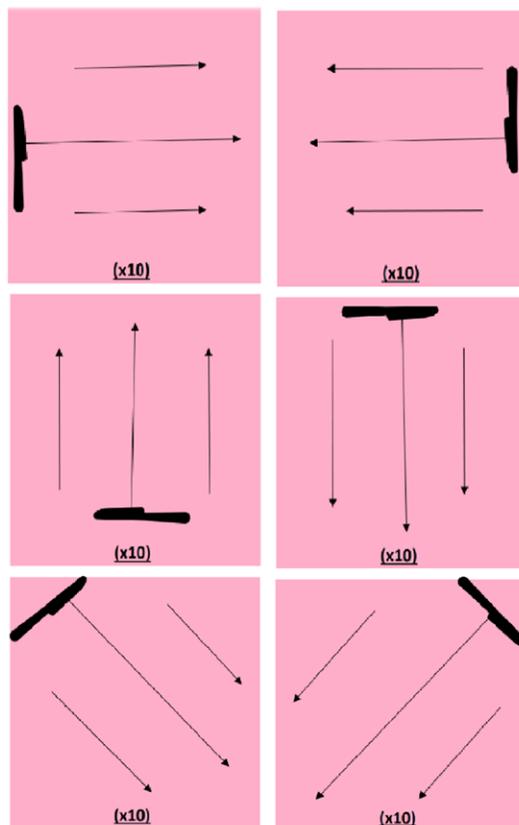


Figura 22. Proceso de raspado en el tejido para simular una lesión en la piel

5. Resultados y discusión

5.1 Etapa I - Optimización de las microagujas poliméricas biodegradables

5.1.1 Diseño Experimental

El diseño de experimentos nos sirve para planear un experimento de tal forma que se recaben datos adecuados que puedan analizarse con métodos estadísticos que lleven a conclusiones validas y objetivas.⁷² Para desarrollar un diseño de experimentos, se realizan una serie de pruebas en las cuales se inducen cambios deliberados en las variables de entrada de un proceso o sistema, de manera que se pueda observar e identificar las causas de los cambios en la respuesta de salida; por lo tanto, este se encarga de asegurar que los datos experimentales contengan el máximo de información para su posterior análisis. Estos nos brindan múltiples beneficios, como: información precisa de manera eficiente, identificación de la interacción entre factores, predicción del comportamiento del proceso dentro del espacio de diseño, optimización de respuestas múltiples, etc.

Dentro de los diseños para la optimización de procesos podemos encontrar el diseño Box Behnken, nos ayuda a obtener una estimación eficiente de coeficientes de primer y segundo orden, además de la estimación de interacciones, este diseño resulta más eficiente y económico que los diseño 3^K ; el diseño Box- Behnken (BBD) establece puntos experimentales equidistantes del punto central, por lo tanto, se obtienen menos experimentos manejando mismas cantidades de factores. Además, en el diseño se llevó a cabo una réplica con el fin de aumentar la precisión, evaluar la varianza del error experimental y la variabilidad en la medición de la respuesta; con el fin de aumentar la validez de las estimaciones de la varianza de los errores experimentales, se realizó la aleatorización del programa experimental.

La elección de estas variables como factores de entrada (X_i) se debe a la gran influencia que genera el D-pantenol y el Colágeno sobre las propiedades del polímero (dureza, plasticidad, densidad), las cuales impactan sobre la calidad final del producto. Los niveles de cada factor, que se examinaron en el experimento, se establecieron con base en observaciones previas durante la etapa de preformulación.

Se evaluaron los efectos de las variables de entrada o factores de estudio (X_i) sobre las variables de respuesta (Y_i) en el programa estadístico Statgraphics Centurion, los resultados de la caracterización fisicoquímica de las 12 formulaciones del diseño experimental se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la caracterización fisicoquímica de las microagujas poliméricas biodegradables

Formulación	D-pantenol (X1)	Colágeno (X2)	bioadhesión (Y1)	bioadhesión posthumectación (Y2)	resistencia a la ruptura (Y3)
	%	mg	g.f	g.f	g. f
1	6	375	479	939.5	0
2	4	375	655	760	4491
3	4	500	569	677.5	4494
4	4	375	656.5	702.5	4459
5	6	500	684	701	0
6	6	250	584	918.5	0
7	2	375	610.5	913	4551
8	2	500	565	1130	4549
9	4	250	548.5	1038	4528
10	4	375	811.5	1347	4450
11	4	375	572	1203.5	4460
12	2	250	954	1081	4567

pH (Y4)	Irritabilidad (Y5)	TEWL (Y6)	Hidratación (Y7)	Liberación 50 min (Y8)
				%
4.86	439	0.6	80.7	27.91
4.98	214	0.4	46.5	24.45
4.88	209	0	46.5	30.12
4.72	241	0	36.2	21.32
5.31	256	0.5	60.5	25.88
5.2	251	1	60.7	34.09
5.84	226	0.2	52.6	32.74
5.05	279	0.4	39.5	32.44
5.15	216	0	35.4	54.50
5.39	216	0	39.8	29.43
5.45	258	0	50.9	31.18
6.14	250	0.6	50.2	41.37

En la tabla 5, se muestra un resumen del valor de P para cada una de las variables de respuestas con respecto a los factores de estudio y sus interacciones (X1 y X2). Con base en los valores obtenidos se puede realizar el contraste de las siguientes hipótesis:

- Ho: Las respuestas no son afectadas de manera significativa por los factores
- Ha: Las respuestas se ven afectadas de manera significativa por los factores ($Y_i = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_{11}X_{12} + \beta_{22}X_{22} + \beta_{12}X_1X_2 + \epsilon_i$)

Donde Y_i representa la respuesta predicha, β_0 es la ordenada al origen, β_1 y β_2 son los coeficientes de regresión de los términos lineales, β_{11} y β_{22} son los coeficientes para los términos cuadráticos de la ecuación, β_{12} es el efecto de la interacción y ϵ_i es el término del error experimental.

Mediante este valor estadístico se busca determinar que no hay diferencia entre valores, más que el atribuible a la variación aleatoria. Cuanto más pequeña sea la probabilidad de que la diferencia observada ocurra por azar, menos probable será que la hipótesis nula (Ho) sea verdadera. Ho se rechaza cuando la probabilidad de que dicha diferencia observada ocurra de manera azarosa es menor que 1 en 20 veces (es decir, menor a 0.05 o 5%), en este caso se dice que la diferencia es significativa al nivel 0.05 (o 5%).⁷³

Por lo tanto, al presentarse un valor de P menor a 0.05 podemos concluir que el factor está impactando de manera significativa sobre las variables de respuesta; en la tabla 5 se muestran de color amarillo los valores de P que presentan un impacto estadísticamente significativo del factor estudiado sobre la respuesta medida; obteniéndose un efecto importante en las respuestas de resistencia a la ruptura, TEWL, Hidratación y Liberación (Y3, Y6, Y7 y Y8). El estadístico R-cuadrada (coeficiente de determinación) indica que el modelo, así ajustado, explica el 99.99%, 79.92%, 80.11% y 69.82%, respectivamente, de la variabilidad en las respuestas evaluadas.

En la Figura 22 se muestran los efectos principales de los factores estudiados (X1 y X2) y sus tendencias, de manera visual se puede determinar el comportamiento de la respuesta conforme se modifica el valor de los factores. Cuando la línea se encuentra paralela al eje X no hay efecto principal, por lo tanto, cada nivel del factor afecta la respuesta de la misma manera y la media de respuesta es la misma para todos los niveles de los factores; cuando la línea no es horizontal hay un efecto principal, los diferentes niveles del factor afectan la respuesta de manera diferente, puede ser tanto de manera positiva como negativa.⁷⁴

Tabla 5. Resumen del valor de probabilidad de las variables de respuesta con respecto a los factores estudiados

Y1 = Bioadhesión		Y2 = Bioadhesión Posthumectación		Y3 = Resistencia a la ruptura	
Fuente	Valor-P	Fuente	Valor-P	Fuente	Valor-P
A: Dpantenol	0.2413	A: Dpantenol	0.5235	A: Dpantenol	0
B: Colágeno	0.3967	B: Colágeno	0.5485	B: Colágeno	0.3285
AA	0.9532	AA	0.9572	AA	0
AB	0.088	AB	0.7054	AB	0.6679
BB	0.8098	BB	0.7901	BB	0.0893

Y4 = pH		Y5 = Irritabilidad		Y6 = TEWL	
Fuente	Valor-P	Fuente	Valor-P	Fuente	Valor-P
A: Dpantenol	0.0644	A: Dpantenol	0.2274	A: Dpantenol	0.1151
B: Colágeno	0.1394	B: Colágeno	0.8555	B: Colágeno	0.2019
AA	0.1394	AA	0.0843	AA	0.0091
AB	0.0921	AB	0.8429	AB	0.4805
BB	0.9064	BB	0.2372	BB	0.6272

Y7 = Hidratación		Y8 = Liberación 50 min	
Fuente	Valor-P	Fuente	Valor-P
A: Dpantenol	0.0202	A: Dpantenol	0.2839
B: Colágeno	0.9919	B: Colágeno	0.0398
AA	0.0102	AA	0.5417
AB	0.5239	AB	0.9582
BB	0.1367	BB	0.0553

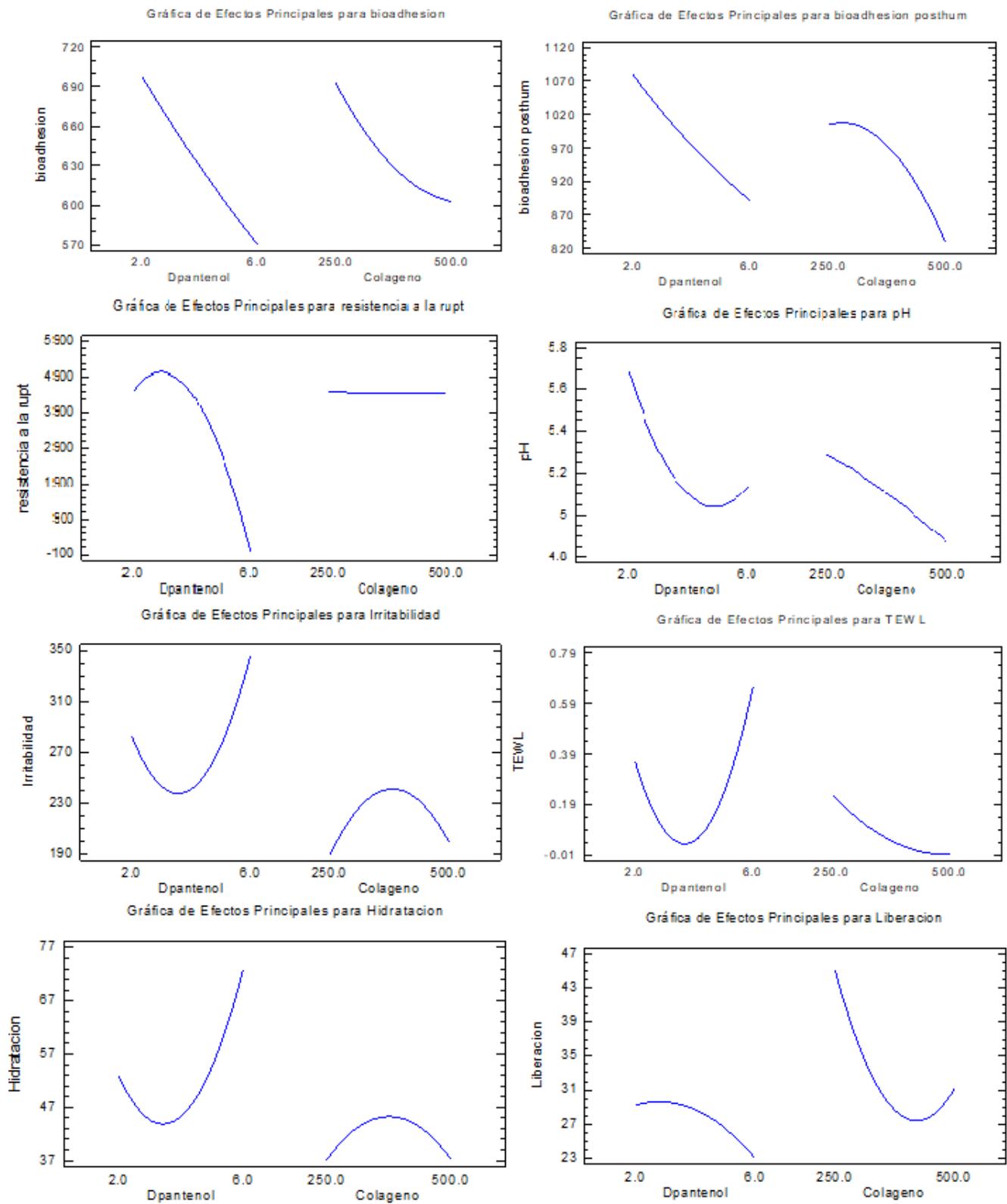


Figura 23. Gráficas de efectos principales de las respuestas evaluadas en función de los factores estudiados

5.1.1.1 Bioadhesión y Bioadhesión Posthumectación (Y1- Y2)

La bioadhesión implica la unión de un sistema portador de fármacos a una ubicación biológica específica, por ejemplo, tejido epitelial. Estudios han demostrado que estos sistemas bioadhesivos no solo aumentan la actividad terapéutica local, sino que también aumentan la disponibilidad sistémica de los fármacos al aumentar el tiempo de residencia en el lugar de aplicación.⁷⁵ En general, los polímeros muestran buenas propiedades bioadhesivas debido a la presencia de numerosos grupos funcionales hidrófilos (por ejemplo: grupo carboxilo, hidroxilo, amida y sulfato)⁷⁶, estos se han utilizado con objetivos terapéuticos.⁷⁷

En la respuesta de Bioadhesión, mediante la gráfica de efectos principales presente en la Figura 23, se puede observar que el factor D-pantenol sigue una tendencia lineal con signo negativo, dando a entender que la respuesta de bioadhesión va a tender a disminuir conforme se aumente la cantidad de D-pantenol; mientras que el factor Colágeno sigue una tendencia lineal con ligera curvatura en forma de j invertida con mismo impacto negativo en el valor de bioadhesión. Aunque se puede observar un efecto principal de los factores estudiados sobre la respuesta de Bioadhesión (Figura 23), ninguno de estos genera un impacto significativo sobre esta misma, debido a que el valor de P es mayor a 0.05 en ambos casos, incluyendo interacciones y sus efectos cuadráticos (Tabla 5).

La bioadhesión posthumectación simula la sudoración y mojado por factores ambientales externos, basándose en la primicia de mantener la formulación en la superficie biológica y así liberar el fármaco cerca de la membrana absorbente, con la consiguiente mejora de la biodisponibilidad. Aunado a esto, la bioadhesión posthumectación nos puede dar una idea del comportamiento del sistema ante el proceso de mucoadhesión, el cual es un fenómeno complejo que implica la humectación, adsorción e interpenetración de cadenas poliméricas.⁷⁵

En la respuesta de Bioadhesión Posthumectación, mediante la gráfica de efectos principales presente en la Figura 23, se puede observar que el factor D-pantenol sigue una tendencia lineal con pendiente negativa, teniendo la misma relación inversamente proporcional entre la cantidad de D-pantenol y el valor de la respuesta que se presenta en bioadhesión; mientras que el factor Colágeno comienza con una ligera tendencia a aumentar, pero al predominar el componente lineal, se genera inmediatamente una pendiente negativa, dando resultado a una misma relación inversamente proporcional entre el factor y el valor de respuesta. Aunque se puede observar un efecto principal de los factores estudiados sobre la respuesta de Bioadhesión (Figura 23), ninguno de estos genera un impacto

significativo sobre esta misma, debido a que el valor de P es mayor a 0.05 en ambos casos, incluyendo interacciones y sus efectos cuadráticos (Tabla 5).

5.1.1.2 Resistencia a la ruptura (Y3)

Aunque se han propuesto muchos diseños de microagujas, no todas son capaces de insertarse en la piel, por lo tanto, las características mecánicas del producto son un parámetro crítico de calidad. La prueba de resistencia a la ruptura es de súbita importancia, debido a que la matriz de microagujas debe tener una resistencia adecuada para penetrar en el estrato córneo y crear los canales que permitan la liberación del fármaco, o en este caso, penetrar la escara presente en la herida.

En la respuesta de Resistencia a la ruptura, mediante la gráfica de efectos principales presente en la Figura 23, a bajos niveles del factor D-pantenol se observa una relación directamente proporcional con la respuesta, llegando a un efecto de meseta, seguida de un efecto inversamente proporcional entre estos dos, se observa inicialmente el comportamiento cuadrático, pero predomina el lineal; se resalta un efecto mayormente negativo, a los niveles trabajados, del factor sobre la respuesta. Con base en el valor de P obtenido (Tabla 5), se demuestra un impacto significativo del D-pantenol sobre la respuesta de resistencia a la ruptura con un nivel de confianza del 95%, tanto el componente lineal como cuadrático ($0.0000 < 0.05$), con un ajuste que explica el 99.99% de la variabilidad en la resistencia a la ruptura.

El D-pantenol se considera un agente humectante y emoliente, por lo tanto, tiene la función de sellar la humedad y crear una barrera oclusiva en la superficie. En cuanto al sistema polimérico, si la absorción de agua es importante en cantidad, se producirá una variación dimensional o hinchamiento en un porcentaje en función del tipo de polímero. En el caso de PMVEMA, este factor actúa como plastificante, efectuando un cambio de propiedad importante como la resistencia a la ruptura. La influencia del agua hace que cambie la temperatura de transición vítrea (T_g) del polímero en función de la humedad, debido a que el solvente es compatible con el polímero se da un descenso de la T_g , haciendo que alcance su estado elastomérico;⁴⁰ como resultado extremo puede darse la hidrólisis, originando una rotura de cadenas moleculares, pérdida de peso molecular y, por lo tanto, pérdida de propiedades del polímero, siendo un proceso irreversible.⁷⁸

En el factor Colágeno no se logra observar un efecto principal sobre la respuesta, debido a que se observa una línea paralela con el eje x, por lo tanto, cada nivel del factor afecta la

respuesta de la misma manera y la media de respuesta es la misma para todos los niveles de los factores.

5.1.1.3 pH (Y4)

Debe existir un correcto manejo del pH de la formulación debido a que este debe adaptarse a la zona de aplicación, debido a que existe correlación entre el pH de la superficie de la piel y ciertas afecciones dermatológicas. Un mal manejo puede derivar en la alteración del estrato córneo, colonización y crecimiento de bacterias, inducción de eccema, acné e infecciones.⁷⁹

En la respuesta de pH, mediante la gráfica de efectos principales presente en la Figura 23, se puede observar que el factor D-pantenol genera una curva en J invertida, sigue una relación inversamente proporcional en un inicio a niveles bajos del factor, a nivel alto comienza a cambiar la relación entre factor-respuesta, se observa un predominio del comportamiento lineal; mientras que el factor Colágeno presenta una tendencia lineal con pendiente negativa. Aunque se puede observar un efecto principal de los factores estudiados sobre la respuesta de pH (Figura 23), ninguno de estos genera un impacto significativo sobre esta misma, debido a que el valor de P es mayor a 0.05 en ambos casos, incluyendo interacciones y sus efectos cuadráticos (Tabla 5).

5.1.1.4 Eritema (Y5)

El eritema es un trastorno de la piel que se produce cuando hay un exceso de riego sanguíneo por vasodilatación. Provoca enrojecimiento e inflamación y es un síntoma de varias enfermedades infecciosas y de la piel. En dermatología, se utiliza esta prueba para la realización de diagnósticos clínicos objetivos, pruebas de alergia y de contacto y mediciones del melanoma y color de cicatrices. Resulta indispensable en pruebas de eficacia y como apoyo a publicidad en productos cosméticos y farmacéuticos.⁷¹

En la respuesta de Eritema (Irritabilidad), mediante la gráfica de efectos principales presente en la Figura 23, se puede observar que el factor D-pantenol presenta una curva en forma de U, siendo que a niveles bajos se presenta una relación inversa y a niveles altos una relación directamente proporcional entre el factor y la respuesta, se observa un predominio del comportamiento cuadrático; para el factor Colágeno se presenta una curva con forma de campana, teniendo que a niveles bajos se presenta una relación directa y a niveles altos

una relación inversamente proporcional con la respuesta de Eritema, de igual manera, predomina el comportamiento cuadrático. Aunque se puede observar un efecto principal de los factores estudiados sobre la respuesta de Eritema (Figura 23), ninguno de estos genera un impacto significativo sobre esta misma, debido a que el valor de P es mayor a 0.05 en ambos casos, incluyendo interacciones y sus efectos cuadráticos (Tabla 5).

5.1.1.5 TEWL (Y6)

La prueba de TEWL evalúa la Pérdida de agua transepidérmica (TEWL), parámetro indispensable para analizar la función barrera de la piel. El fundamento del proceso es la difusión del agua en el estrato córneo. La medida de TEWL permite evaluar la función barrera intrínseca del estrato córneo. Un valor elevado de TEWL indica una disfunción o un deterioro de la función barrera, como ocurre en las pieles con psoriasis o tratadas con tensioactivos.⁸⁰

En la respuesta de TEWL, mediante la gráfica de efectos principales presente en la Figura 22, se puede observar que el factor D-pantenol genera una curva en forma de U, a niveles bajos se observa como genera una disminución de la respuesta mientras que a niveles altos se presenta un aumento de esta misma; se resalta un efecto mayormente positivo, a los niveles trabajados, del factor sobre la respuesta. Con base en el valor de P obtenido (Tabla 5), se demuestra un impacto significativo del D-pantenol (efecto cuadrático) sobre la respuesta de TEWL con un nivel de confianza del 95% con un ajuste que explica el 79.92% de la variabilidad en la resistencia a la ruptura.

Un agente humectante, como el D-pantenol, tiene la característica de absorber agua del medio ambiente, de esta forma brinda la humectación necesaria a la piel; en productos humectantes se han establecido límites máximos para estos agentes debido al efecto cuadrático que pueden presentar, sobrepasando dicho límite, estos pueden generar un efecto contrario al deseado llegando a absorber la humedad de la propia piel.⁸⁰ Este efecto puede observarse en el D-pantenol, siendo que a niveles altos comienza a observarse un aumento en la pérdida de agua transepidermal.

En el factor Colágeno predomina el componente lineal, ya que la línea tiene una curvatura apenas perceptible, se presenta un efecto principalmente negativo sobre la respuesta de TEWL. Aunque se puede observar un efecto principal del factor estudiado sobre la respuesta de TEWL (Figura 23), no genera un impacto significativo sobre esta misma, debido a que el valor de P es mayor a 0.05, incluyendo interacciones y sus efectos cuadráticos (Tabla 5).

5.1.1.6 Hidratación (Y7)

En dermatofarmacia, la prueba de hidratación se aplica como un estudio de eficacia para demostrar la acción hidratante de principios activos o productos acabados sobre la piel y el cabello. Bajos resultados en la prueba demuestran un estado de deshidratación, lo cual genera una piel que se muestra apagada, rugosa, tirante y con falta de flexibilidad. Puede también producir sensación de tirantez y presentar escamas diseminadas por toda su superficie y arrugas finas, apareciendo a menudo, picor y escozor.⁸¹

En la respuesta de Hidratación, mediante la gráfica de efectos principales presente en la Figura 23, se puede observar que el efecto del factor D-pantenol sobre la respuesta asemeja una curva en forma de U debido al componente cuadrático, a bajos niveles del factor se observa una relación inversamente proporcional con la respuesta, llegando a un efecto de meseta, seguida de un incremento exponencial de la respuesta expresando una relación directamente proporcional entre estos dos; se resalta un efecto mayormente positivo, a los niveles trabajados, del factor sobre la respuesta. Con base en el valor de P obtenido (Tabla 5), se demuestra un impacto significativo del D-pantenol sobre la respuesta de resistencia a la ruptura con un nivel de confianza del 95%, tanto el componente lineal como cuadrático ($0.0000 < 0.05$), con un ajuste que explica el 80.11% de la variabilidad en la resistencia a la ruptura.

Como se mencionó anteriormente, el D-pantenol es una sustancia higroscópica que posee la propiedad de absorber agua del ambiente. Un buen humectante debe tener el grado de higroscopicidad suficiente para absorber humedad de la atmósfera y retenerla ante posibles fluctuaciones de humedad de ésta. El D-pantenol, de manera comercial, se utiliza en concentraciones del 0.5-5% con el fin de obtener una mayor migración y proliferación celular, debido a su efecto humectante en la piel.⁸¹

En el factor Colágeno se observa la predominancia del efecto cuadrático, se presenta una curva en forma de campana para la relación factor-respuesta. Aunque se puede observar un efecto principal del factor estudiado sobre la respuesta de Hidratación (Figura 23), no genera un impacto significativo sobre esta misma, debido a que el valor de P es mayor a 0.05, incluyendo interacciones y sus efectos cuadráticos (Tabla 5).

5.1.1.7 Liberación a los 50 min (Y8)

La prueba de liberación determina el comportamiento del polímero en cuanto a la forma de liberar el fármaco, los materiales poliméricos presentan sistemas de liberación

controlada. La velocidad de liberación de la sustancia deseada está prácticamente controlada por las propiedades del polímero, aunque, por otra parte, existen otros factores de menor influencia, tales como el pH del medio en el que se va a realizar la liberación.⁴⁰

En la respuesta de Liberación, mediante la gráfica de efectos principales presente en la Figura 23, se puede observar que en el factor D-pantenol predomina el componente lineal debido que se presenta una tendencia lineal negativa con una curva ligeramente perceptible. Aunque se puede observar un efecto principal del factor estudiado sobre la respuesta de Liberación (Figura 23), no genera un impacto significativo sobre esta misma, debido a que el valor de P es mayor a 0.05, incluyendo interacciones y sus efectos cuadráticos (Tabla 5).

En el factor Colágeno se observa una curva en J invertida, predominando una tendencia lineal negativa a niveles bajos, seguido de un comportamiento exponencial positivo a niveles altos del factor. Con base en el valor de P obtenido (Tabla 5), se demuestra un impacto significativo del Colágeno (componente lineal) sobre la respuesta de liberación con un nivel de confianza del 95% con un ajuste que explica el 69.82% de la variabilidad en la liberación.

Estudios han determinado que el Colágeno puede generar sistemas de liberación sostenida al jugar con la proporción de colágeno – polímero.⁸² De igual manera, se han elaborado parches transdérmicos de Colágeno, empleándolo como material para controlar la liberación del fármaco.⁸³ Esto se debe a las matrices entrecruzadas que genera el Colágeno en el sistema. Este es capaz de generar múltiples puentes de hidrógeno, estos enlaces son mucho más fuertes que los de van der Waals y, aunque son más débiles que los covalentes, al tomar en consideración un elevado número de ellos entre las cadenas poliméricas, resultan en mayores fuerzas de atracción en los polímeros.⁸⁴

Con base en los valores de referencia (Tabla 3), los resultados del diseño (Tabla 4) y tomando en cuenta el valor de deseabilidad de la formulación resultante, se determinaron las metas a lograr de cada respuesta para la optimización de la formulación (Tabla 6).

Tabla 6. Metas establecidas en las respuestas a evaluar para la formulación optimizada

Respuesta	Deseabilidad		Meta
	Baja	Alta	
Bioadhesión posthumectación	677.5	1347	1012.25
Bioadhesión	479	954	Maximizar
Hidratación	35.4	80.7	Maximizar
Irritabilidad	209	439	Minimizar

Liberación	21.3184	54.4993	37.9088
pH	4.72	6.14	Maximizar
TEWL	0	1	0.5
Resistencia a la ruptura	0	4567	Maximizar

En la tabla 7 se muestran los niveles óptimos de cada factor a emplear en la etapa de optimización. De igual manera, se presenta la deseabilidad que se obtuvo para esos niveles establecidos para optimización; una deseabilidad de 0.76848, con base en las directrices de Harrington (Tabla 8), muestra un valor correspondiente a “Aceptable y bueno” en equivalente de calidad.

Tabla 7. Optimización de los factores

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Dpantenol	2	6	2
colágeno	250	500	288.043
Deseabilidad = 0.76848			

Tabla 8. Versión abreviada de las directrices de Harrington para la transformación de los niveles de calidad a la escala de deseabilidad.⁸⁵

Deseabilidad	Equivalente de la calidad
0.00	Completamente inaceptable
0.00-0.30	Inaceptable
0.30-0.40	Límite de aceptación
0.40-0.63	Aceptable pero mediocre
0.63-0.80	Aceptable y bueno
0.80-1.00	Aceptable y excelente
1.00	Mejora adicional no tiene valor apreciable

5.2 Etapa II – Caracterización de la formulación optimizada

5.2.1 Caracterización de las microagujas

En la tabla 9 se presentan los resultados obtenidos en la caracterización de la formulación optimizada, siguiendo la metodología planteada en la Tabla 3.

Tabla 9. Valores obtenidos en la caracterización de la formulación óptima

	Resistencia a la ruptura (g.f)	Bioadhesión (g.f)	Bioadhesión posthumectación (g.f)	Hidratación	TEWL (g/h/m ²)
1	1636.00	2320.00	2285.00	67.30	1.20
2	1696.00	2571.00	2730.00	77.60	1.80
3	1355.00	2571.00	2125.00	75.60	2.70
Promedio	1562.33 ± 182.04	2487.33 ± 144.91	2380.00 ± 313.48	73.50 ± 5.46	1.90 ± 0.75

	pH	Eritema	Contenido Químico (%)
1	5.76	228.00	96.29
2	5.76	227.00	95.67
3	6.02	226.00	94.57
Promedio	5.85 ± 0.15	227.00 ± 1.0	95.51 ± 0.87

Tabla 10. Valores obtenidos en piel previo a la realización de pruebas

	Valores medidos en piel
Humectación	38.2 ± 1.58
pH	5.88 ± 0.21
Eritema	214 ± 2.39

- Resistencia a la ruptura

En la Figura 24, se puede observar la gráfica obtenida para uno de los sistemas preparados, el primer pico de fuerza presente en la gráfica se relaciona al impacto con las microagujas, el último pico se debe al impacto con la base del sistema; por lo tanto, se tomó el valor del primer pico para evaluar la fuerza necesaria para quebrar o achatar las microagujas.

Se obtuvo un valor promedio de 1562.33 g.f., con base en el valor de referencia (Tabla 3), se puede determinar que las microagujas obtenidas son aptas para poder penetrar el estrato córneo. Sin embargo, cabe mencionar que el objetivo en el presente proyecto no es la penetración de esta capa per se, debido a que esta ya se encuentra comprometida en

una herida, sino que se pretende penetrar la biopelícula y específicamente entregar el fármaco a la zona afectada. Estudios donde se determinaron las propiedades mecánicas de biopelículas, producidas por *E. Coli* de cepas tanto Gram positivas como Gram negativas, demostraron necesitar tan solo una fuerza de 1.407×10^{-3} g.f. y 3.6709×10^{-4} g.f., respectivamente, para penetrar la película;⁸⁶ por lo tanto, el arreglo se considera apto para la penetración del biofilm.

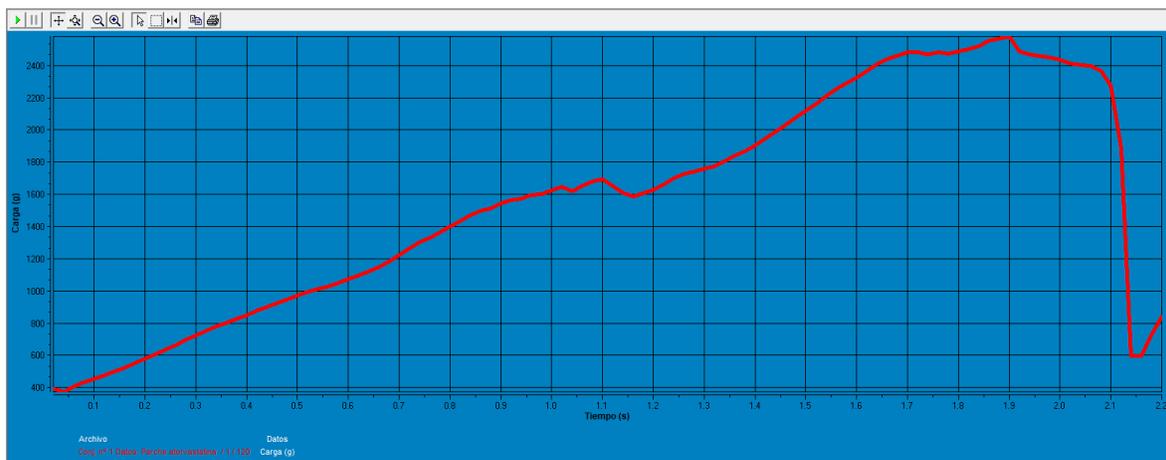


Figura 24. Gráfica de carga (g) en función del tiempo (s) para resistencia a la ruptura

- Bioadhesión y bioadhesión posthumectación

En la Figura 25 y 26 se puede observar los gramos fuerza necesarios para desprender el sistema de microagujas de la piel, en condiciones de bioadhesión y bioadhesión posthumectación, en esta prueba se toma el valor máximo de carga presente en la gráfica.

Para la prueba de bioadhesión se obtuvo un valor promedio de 2487.33 g.f., con base en el valor de referencia (Tabla 3), se puede determinar que el sistema de microagujas cuenta con una buena bioadhesión. Cabe mencionar que previamente se ha demostrado que el PMVEMA-Ac cuenta con buenas propiedades bioadhesivas,⁸⁷ esto se debe a sus distintas características como la presencia de grupos carboxílicos, alto peso molecular, alta flexibilidad y la concentración que se emplea en la formulación.⁷⁵

Para la prueba de bioadhesión posthumectación se obtuvo un valor promedio de 2380.33 g.f., con base en el valor de referencia (Tabla 3), de igual manera, se puede determinar una buena bioadhesión posthumectación. Los polímeros hidrofílicos que contienen grupos carboxílicos poseen excelentes propiedades bioadhesivas, estos se han utilizado ampliamente para diseñar sistemas de administración de mucoadhesivos basados en su capacidad para exhibir fuertes enlaces de hidrógeno con la mucina presente en la mucosa.⁷⁷

Esta propiedad es de especial interés debido a las condiciones de uso esperadas, estos probablemente entraran en contacto con un ambiente húmedo en la herida, dejando a la bioadhesión como un punto crítico para la eficacia del tratamiento. ⁷⁷

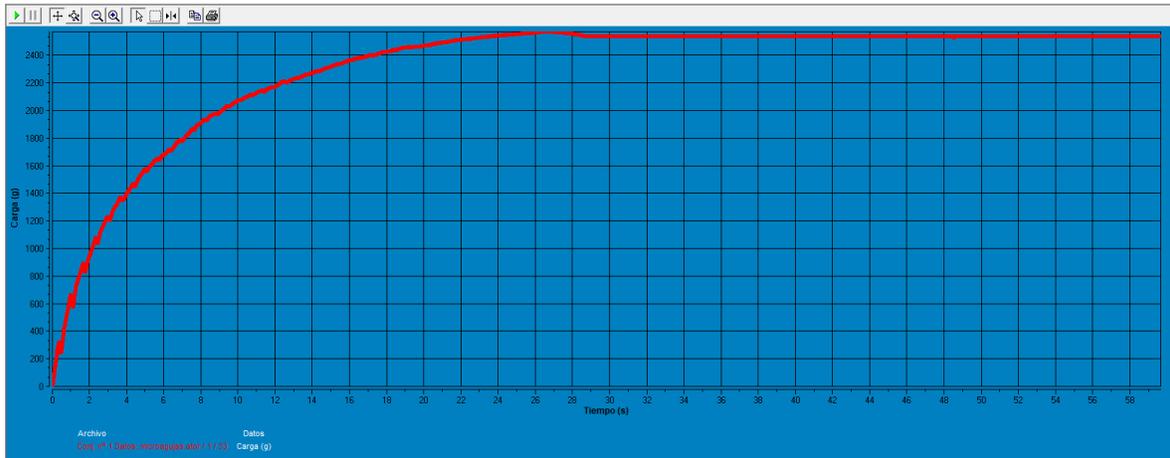


Figura 25. Gráfica de carga (g) en función del tiempo (s) para bioadhesión

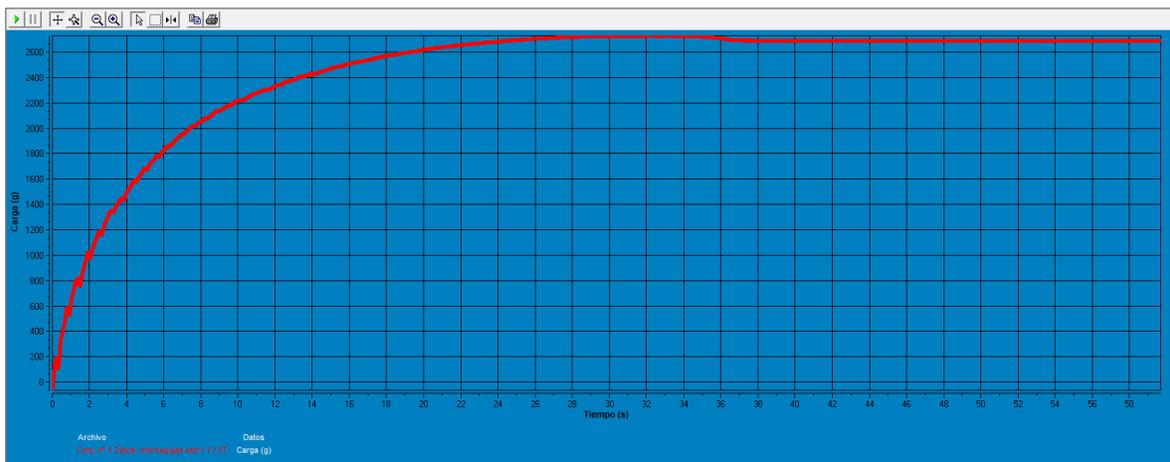


Figura 26. Gráfica de carga (g) en función del tiempo (s) para bioadhesión posthumectación

- Hidratación

Previo a la realización de la prueba, se tomó el valor de la piel en la misma zona a aplicar el tratamiento (Tabla 10). De manera inicial, la piel mostró valores de 38.2, dando a entender que el estado inicial se consideraba “seco”, tomando como referencia los valores establecidos en la Tabla 3. Posterior al tratamiento, se obtuvo un valor promedio de 73.5, aumentando considerablemente la humectación en la zona de aplicación, dando como resultado una “suficiente humedad” (Tabla 3).

El tratamiento integral del paciente con heridas crónicas sea cual sea la etiología de éstas, debe abordar ciertos cuidados generales. Se encuentra altamente recomendado la aplicación de sustancias hidratantes, tanto para el cuidado de la herida como en la prevención de nuevas lesiones, obteniéndose una mejora en la cicatrización y una disminución del dolor; ⁵⁹ por lo tanto, el resultado obtenido se considera prometedor para el cuidado de heridas.

- TEWL

Para la prueba de TEWL se obtuvo un valor promedio de 1.90, lo cual demuestra que se generan pérdidas de agua que entran dentro del rango “muy saludable” (Tabla 3). Este resultado muestra un buen efecto del D-pantenol en cuanto a su función de oclusión, manteniendo la humedad necesaria sobre la piel y/o herida, generándose pérdidas de agua mínimamente apreciables. Esto demuestra la capacidad que tiene el arreglo de evitar la deshidratación de la piel, siendo este un factor importante en el tratamiento de heridas.⁵⁸

- pH

Para la medición de pH se obtuvieron dos valores a comparar, el valor de pH de la piel (zona del antebrazo) y el valor del arreglo de microagujas. Dentro de la literatura se menciona un valor de pH de la epidermis de 5.5, siendo bastante parecido al que se obtuvo de manera experimental de 5.88 (Tabla 10). En el arreglo de microagujas se obtuvo un valor promedio de 5.85, el cual asemeja bastante al fisiológico, obteniéndose una buena compatibilidad del sistema y la zona de aplicación.

En cuanto a la dermis, tratándose de posibles heridas que generasen un daño completo de la epidermis, se encuentra un pH que va de 7-7.2. Se ha reportado que el crecimiento de la biopelícula en una herida genera un cambio de pH en la epidermis, de valores ácidos a un pH más alcalino,⁸⁸⁻⁸⁹ siendo este un indicador temprano de una infección; por lo tanto, se sugirió que el reducir los niveles de pH mejoraría la condición en la herida.⁹⁰ Estudios clínicos llevados a cabo en pacientes diabéticos con heridas, demostraron una buena correlación entre la reducción de carga bacteriana y la aplicación de ungüentos ácidos.⁹¹ Dicho lo anterior, el pH que maneja el arreglo de microagujas no afectaría de manera negativa en situaciones donde la dermis se encuentre expuesta, siendo lo contrario, podría ayudar a reducir las complicaciones a presentarse.

- Eritema

Previo a la prueba de eritema, se realizó una medición en la misma zona de aplicación, se obtuvo un valor de 214. Posterior al tratamiento, se obtuvo un valor promedio de 227, restando el primer valor se obtiene que solo aumentó 13 unidades, lo cual significa que no se generó eritema alguno. Esto demuestra la compatibilidad del pH del arreglo y el de la

piel, así mismo, la no irritación de los distintos excipientes, a las cantidades que se manejan, en la formulación.

- Contenido químico

Para la prueba de contenido químico se obtuvo un promedio de 95.51 ± 0.87 , ubicándose dentro del intervalo permitido de 75.0 a 125.0% estipulado en la FEUM para sistemas transdérmicos. Esto es importante debido a que en la uniformidad de contenido debe de asegurarse que los lotes producidos contengan la cantidad de fármaco indicada en la especificación.

5.2.2 Perfil de liberación

En la tabla 12, se presentan los perfiles de liberación obtenidos para la formulación optimizada, de igual manera, en la Figura 27 se presentan las Gráfica del % liberado en función del tiempo (min) para perfiles de liberación.

Tabla 12. Perfiles de liberación en microagujas poliméricas biodegradables

T(min)	Sistema 1		Sistema 2		Sistema 3	
	mg liberados	% liberado	mg liberados	% liberado	mg liberados	% liberado
2	0.51	2.97	0.43	2.50	0.61	3.56
4	0.88	5.15	0.82	4.80	0.79	4.60
6	1.03	6.03	1.02	5.94	0.87	5.07
8	1.28	7.50	1.41	8.22	0.98	5.70
10	1.45	8.48	1.35	7.86	1.10	6.43
12	1.77	10.33	1.45	8.47	1.30	7.60
14	1.77	10.32	1.61	9.41	1.34	7.81
16	1.87	10.90	1.79	10.46	1.41	8.23
18	1.98	11.57	1.92	11.23	1.54	9.01
20	2.38	13.87	2.07	12.06	1.68	9.82
25	2.50	14.62	2.44	14.22	1.99	11.62
30	2.94	17.17	2.80	16.37	2.35	13.70
35	3.21	18.72	3.18	18.54	2.65	15.48
40	3.62	21.16	3.67	21.42	3.08	17.95
45	3.94	23.02	4.05	23.64	3.47	20.26
50	4.29	25.07	4.44	25.91	3.80	22.16
55	4.62	26.98	4.82	28.14	4.11	23.98
60	5.03	29.35	5.27	30.75	4.51	26.36
80	6.38	37.22	6.52	38.04	5.88	34.30
100	7.55	44.08	7.54	44.01	7.05	41.14

120	8.61	50.24	8.56	49.95	7.97	46.51
150	10.14	59.22	9.98	58.27	9.58	55.94
180	10.90	63.65	11.14	65.04	10.69	62.43
195	11.13	64.99	11.76	68.65	11.28	65.84

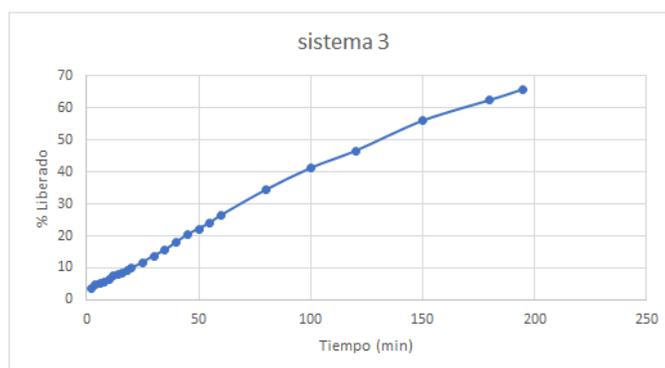
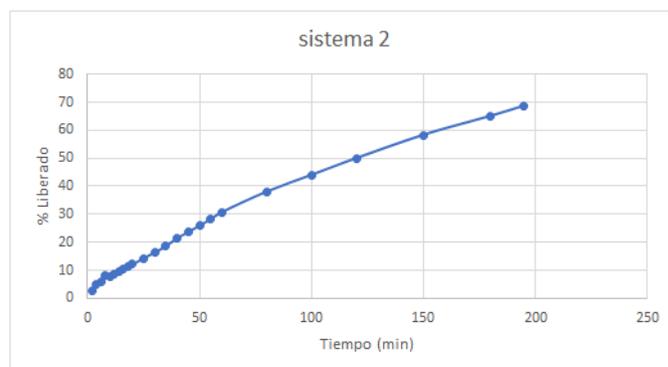
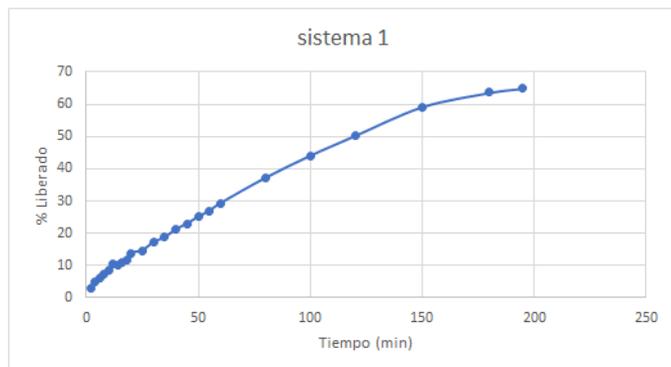


Figura 27. Gráfica del % liberado en función del tiempo (min) para perfiles de liberación

Tomando en consideración que la CMI₉₀ de la Ceftriaxona para *Staphylococcus aureus*, una de las bacterias más prevalentes aisladas en este tipo de heridas,⁹² es de 38.5 µg/mL,⁹³ se considera una cantidad efectiva la que el arreglo libera desde un inicio (2 min = 0.516667 ± 0.224032 mg); así mismo, se puede observar una liberación prolongada por parte de la matriz polimérica. Con el fin de caracterizar su liberación y determinar el modelo cinético que permita calcular constantes que nos brinden información relacionada con el mecanismo mediante el cual ocurre el proceso de liberación, se trataron los datos según el modelo de Orden 0, Orden 1, Higuchi y Peppas.

5.2.2.1 Cinéticas de liberación

Los coeficientes de determinación obtenidos en todos los casos evidenciaron que las formulaciones presentan mayormente un ajuste al modelo de Peppas (Tabla 13); de igual manera, se presentan buenos coeficientes para los modelos de Orden 0 y Higuchi.

Tabla 13. Coeficiente de determinación para los distintos modelos cinéticos

	Sistema 1	Sistema 2	Sistema 3
	Coeficiente de determinación		
Orden 0	0.9803	0.9834	0.9919
Orden 1	0.7769	0.7681	0.8344
Higuchi	0.9834	0.9843	0.9695
Peppas	0.9938	0.991	0.963
	Exponente "n" Peppas		
	0.6841	0.7174	0.6931

Tabla 14. Interpretación para determinar el mecanismo de liberación desde una matriz polimérica.⁴²

Exponente (n)	Mecanismo de transporte del fármaco	Tasa en función del tiempo
0.5	Difusión fickiana	$t^{-0.5}$
$0.45 < n < 0.89$	Transporte no Fickiano (anómalo)	t^{n-1}
0.89	Transporte Caso II	liberación orden cero
$0.89 < n$	Transporte Super Caso II	t^{n-1}

Cuando se analizan los resultados obtenidos luego de ajustar el modelo de Korsmeyer Peppas, podemos apreciar como los valores de "n" calculados para las formulaciones determinan que el mecanismo de transporte del fármaco es "no Fickiano" (o transporte anómalo, Tabla 13 y 14), dando a entender que otros factores interfieren en la liberación del fármaco, además del mecanismo de difusión, a partir de la matriz polimérica.

Bajo el mecanismo de difusión, el fármaco viaja a través de la matriz polimérica de manera controlada debido a las cadenas poliméricas que forman una barrera de difusión. Al estarse empleando un polímero biodegradable se presenta un mecanismo de liberación por erosión, la cual se da por una degradación de las moléculas del polímero al entrar en

contacto con el medio, que hace que el fármaco se vaya liberando, esta erosión puede darse de dos maneras: erosión de superficie y erosión de bulk.⁹⁴

La erosión de superficie puede deberse a distintos factores como: procesos de lipólisis enzimática, hidrólisis o solubilización por ionización, que se da en las moléculas de la capa externa del polímero; en la erosión por bulk, las moléculas de agua entran hasta el seno del polímero degradando las moléculas del interior, siendo un proceso de erosión más complejo que el anterior. Este último tipo de erosión es una característica principal de los polímeros hidrofílicos, como el PMVEMA-Ac, que tienen la capacidad de hincharse en el medio acuoso y de liberar el fármaco disperso en ellos a una velocidad constante; la migración del fármaco al medio implica un proceso de absorción de agua o fluido biológico, y otro simultáneo de desorción del fármaco.⁴⁰

Matrices poliméricas únicamente de PMVEMA-Ac obtuvieron una liberación completa del activo a las 2 horas,⁸⁷ mientras que en el presente arreglo de microagujas libera apenas el 50% del activo cargado a ese tiempo. Esto se debe a la presencia del MAE 100P y sus propiedades, su presencia en la matriz polimérica afecta el grado de hinchamiento del sistema y del entrecruzamiento,⁴⁰ por lo tanto, genera una liberación del activo aún más prolongada, además del factor Colágeno como retardante para la liberación.

El ajuste al modelo cinético de Orden 0 se debe a que este indica el comportamiento de sistemas transdérmicos y matriciales que liberan el fármaco lentamente. En este tipo de sistemas el fármaco se encuentra disperso en una matriz polimérica, en este caso una matriz hidrofílica, haciendo que la velocidad de liberación del fármaco se encuentre controlada por procesos de difusión y erosión, como se explicó en el mecanismo de transporte obtenido según el modelo de Peppas. De igual manera, este describe sistemas en donde la velocidad de liberación del fármaco es constante durante un periodo de tiempo, lo cual se puede observar en los perfiles de liberación obtenidos (Figura 27); con base en el análisis cinético, el modelo de orden 0 es el que se ajusta al arreglo de microagujas, apoyándose en el modelo de Peppas para explicar el mecanismo de transporte del fármaco. Cabe mencionar que, el buen ajuste al modelo de Higuchi se debe a que este ayuda explicar el comportamiento de sistemas de liberación modificada con fármacos solubles en agua, lo cual aplica para la Ceftriaxona.

Dicho esto, tanto la propiedad hidrófila como la reactividad hidrolítica en un medio hidratado, e interacciones con enzimas presentes en la piel, permiten al fármaco difundir desde las regiones hinchadas del polímero hacia el medio externo.

5.2.3 Microscopia

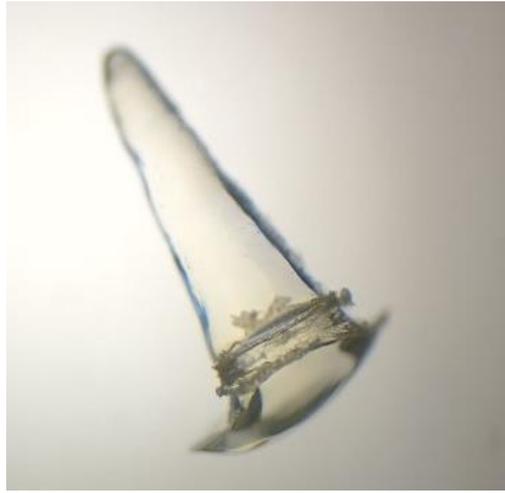


Figura 28. Vista de una microaguja a 40X

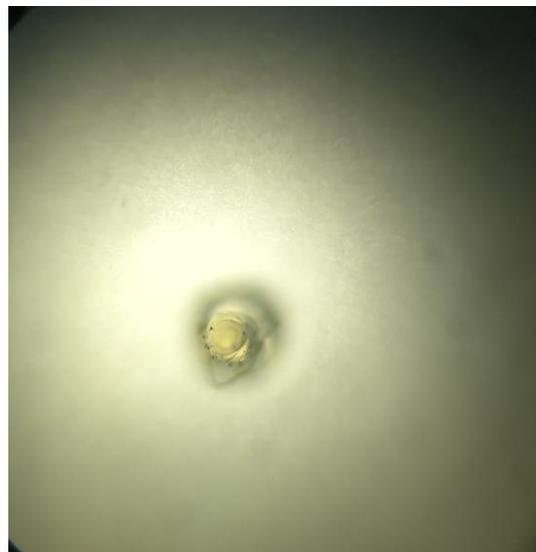


Figura 29. Vista desde plano superior de una aguja individual en un arreglo de microagujas a 40X

Esta prueba ayudó a determinar la forma y geometría de las agujas en el arreglo óptimo de PMVEMA. En las Figuras 28 y 29 se observa que estas cuentan con una geometría cónica, esto va de acorde al molde empleado en su fabricación. Derivado de la forma, se puede concluir que se lleva a cabo un correcto llenado del molde con la metodología descrita. Tomando en cuenta la geometría y la resistencia a la ruptura que presentan, las microagujas de PMVEMA presentan buenas características para penetrar el estrato córneo y la escara o biofilm en una herida donde esta primera capa ya se encuentra comprometida.

5.3 Etapa III – Estudios de permeación *ex vivo*

5.3.1 Permeación *ex vivo*

Tabla 15. Resultados de permeación *ex vivo*

Tiempo	Cantidad acumulada		Cantidad acumulada por área expuesta	
	µg		µg /cm ²	
	Piel sana	Piel dañada	Piel sana	Piel dañada
2	0.00	7.58	0.00	2.39
4	0.00	8.88	0.00	2.65
6	0.61	9.37	0.26	2.73
8	0.61	9.37	0.26	2.73
24	0.61	10.33	0.26	2.88
26	0.61	16.45	0.26	3.83
28	1.26	21.44	0.51	4.35
30	6.65	28.56	2.17	4.89
32	12.00	38.76	3.12	5.34

Tabla 16. Parámetros obtenidos de la prueba de permeación *ex vivo* en tejido de abdomen

Condición	Flujo	kp	TI
	(µg/cm ² *hr)	(cm ² *hr)	(hr)
Piel sana	1.2	7.00525E-05	28.0833333
Piel dañada	1.6	9.34034E-05	20.875

Al estarse buscando un tratamiento de antibiótico localizado, se busca una penetración local del activo, mas no una absorción sistémica. Sin embargo, al emplearse un promotor físico de la penetración se vuelve inevitable el paso del activo a torrente sanguíneo, pero se puede determinar el área a cubrir sin generar una absorción sistémica considerable, evitando o disminuyendo los posibles inconvenientes de la terapia de antibióticos por esta vía.

La figura 30 y 31 muestran los resultados experimentales para las cantidades permeadas de Ceftriaxona por área expuesta en función del tiempo. La curva de permeación acumulativa tiene dos porciones, la porción inicial de la curva representa la difusión no estacionaria (puntos azules) y la porción lineal corresponde a la difusión en estado estacionario (puntos naranjas). La parte no estable de la curva puede ser descrita matemáticamente por la segunda ley de Fick, mientras que la porción lineal puede ser expresada por la primera ley de Fick.

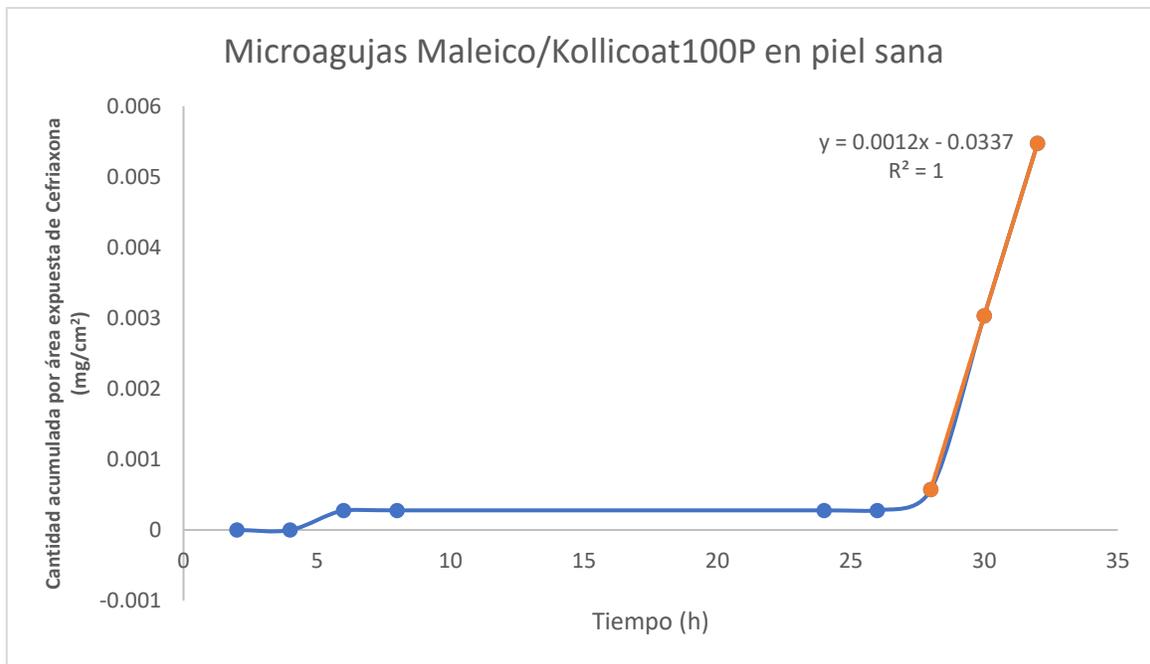


Figura 30. Gráfica de cantidad acumulada por área expuesta de Ceftriaxona vs Tiempo para la condición de piel sana

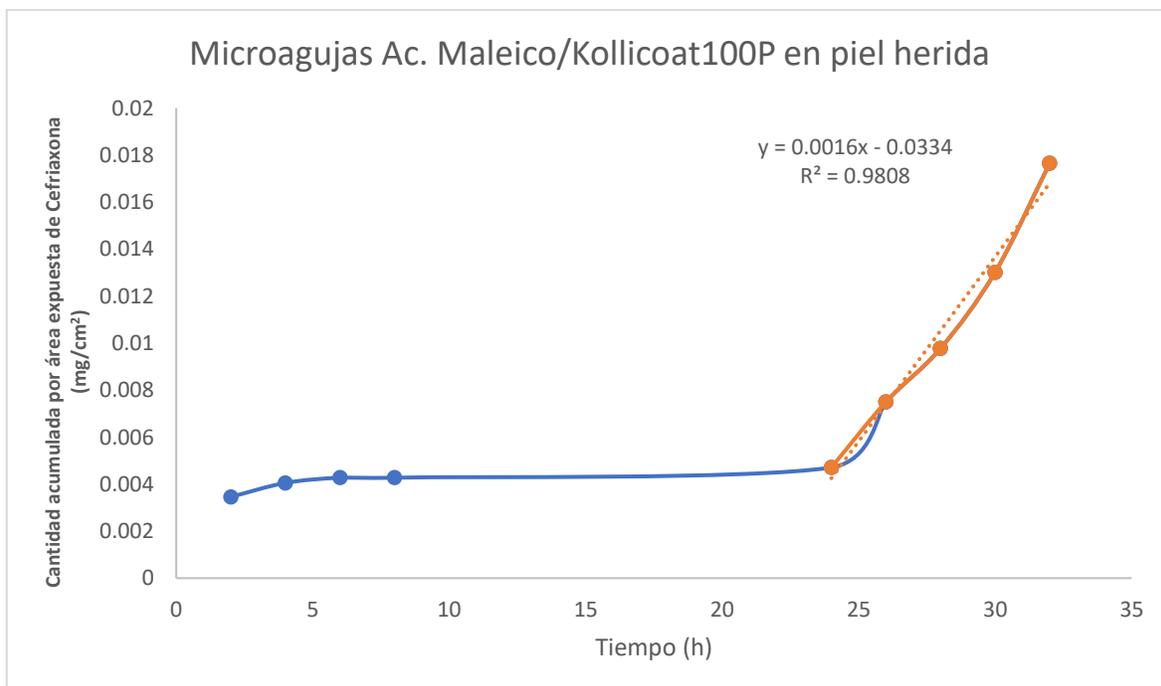


Figura 31. Gráfica de cantidad acumulada por área expuesta de Ceftriaxona vs Tiempo para la condición de piel herida

Con base en la cantidad acumulada, tanto en piel sana como dañada, (tabla 15) se puede observar que al encontrarse comprometido el estrato córneo permite un mayor paso del activo. Esto puede confirmarse con las k_p (constante de permeabilidad) reportadas (tabla 16), estas resultaron de $7.00525E-05$ y $9.34034E-05$ para piel sana y piel dañada, respectivamente. Este parámetro nos permite determinar la cantidad de sustancia activa contenida en el parche transdérmico que pasa por cada cm^2 de membrana en un momento dado (cm^2/t).

El tiempo de latencia se relaciona con el tiempo necesario para que la distribución por difusión del fármaco desde las capas más externas hacia las más internas de la piel sea invariable, alcanzando el equilibrio y el estado estacionario en el cual la relación concentración y tiempo se mantiene constante. En cuanto a la piel sana, se obtuvo un TI de 28.08 hr, mientras que para la piel dañada se obtuvo un TI de 20.87 hr; por lo tanto, se requiere aproximadamente un día para que el flujo del fármaco sea continuo a través de la piel. Esto puede observarse en las Figuras 30 y 31 al extrapolar la porción lineal de permeación al eje de tiempo.

El parámetro de flujo indica la cantidad de fármaco que atraviesa por unidad de superficie de piel y tiempo. Se obtuvo un flujo de $1.2 \mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{hr}$ y $1.6 \mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{hr}$ para piel sana y piel dañada, respectivamente. El arreglo de microagujas que se desarrolló cuenta con un área de 3.61 cm^2 (Figura 32), tomando en cuenta el flujo en piel dañada, debido a que el estado del estrato córneo en una herida se encuentra comprometido, se estaría obteniendo una cantidad sistémica de $5.77 \mu\text{g}$ de Ceftriaxona a una hora de aplicar el arreglo sobre la herida, mientras que de manera local el sistema ya habrá liberado, con base en los perfiles de liberación (Tabla 12), un promedio de $4.93 \pm 0.38 \text{ mg}$ del activo para generar el efecto localizado. Tomando en cuenta la necesidad de limpiar la herida periódicamente, planteando un tratamiento con una duración de 24 hrs, el arreglo permearía en total una cantidad de 138 mcg de Ceftriaxona, dando como resultado bajas concentraciones sistémicas del activo.

Estudios llevados a cabo en pacientes diabéticos con úlcera de pie neuropática determinaron que un tratamiento convencional (curación, desbridamiento, etc) está recomendado para heridas que miden $< 2 \text{ cm}$.⁹⁵ Tomando en cuenta una herida de ese tamaño, el arreglo cubre perfectamente el área de la herida, generando una cantidad mínima en circulación, evitando o disminuyendo posibles reacciones adversas y teniendo la capacidad de retirar el arreglo en cualquier momento que se presente una hipersensibilidad al antibiótico; cabe mencionar que en estas lesiones se encuentra afectada la sensibilidad, por lo que la implementación de microagujas no debe de ser problema. Además, el arreglo favorece la proliferación celular brindando una función de andamio y promueve el proceso

de cicatrización presentando agentes promotores de la regeneración tisular (D-pantenol y Colágeno).

Debido a la baja permeación del activo, se abre la posibilidad de generar arreglos que cubran mayor área, de ser necesario, manteniendo un efecto localizado por parte de la Ceftriaxona. Fuera de que el arreglo de microagujas se puede contemplar para los distintos tipos de lesiones que las heridas crónicas engloban, se hace hincapié en las úlceras de pie diabético debido a que estas constituyen la causa de 20% de ingresos hospitalarios de esta población; sin olvidar que el 60% de las amputaciones en extremidades inferiores que se practican en diabéticos están precedidas por una úlcera infectada.⁵⁹

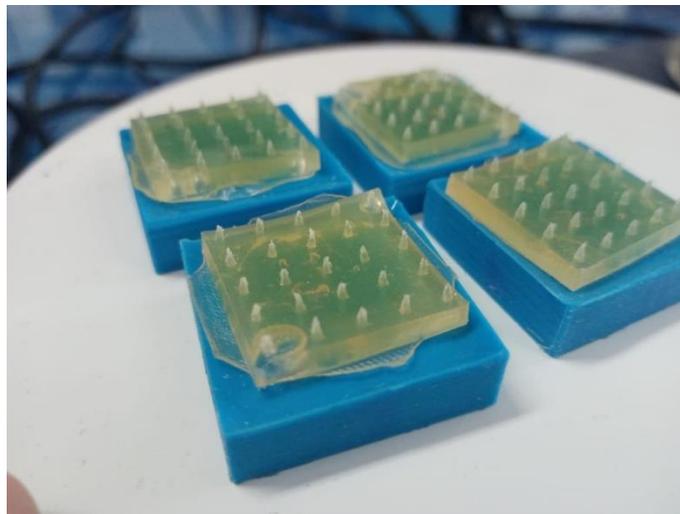


Figura 32. Arreglo de microagujas de PMVEMA- Kollicoat 100P

6. Conclusiones

- Debido a las características de la molécula de Ceftriaxona, se logró desarrollar una cefalosporina de uso tópico que permite una administración localizada y una limitada absorción sistémica.
- El PMVEMA-Ac es capaz de generar microagujas con buenas características mecánicas y bioadhesivas, demostró buena biocompatibilidad y generó un buen sistema de liberación modificada; liberando activo desde un inicio, alcanzando la CMI.
- Al haberse obtenido resultados satisfactorios en la caracterización fisicoquímica y biofarmacéutica, es posible proponer a las microagujas poliméricas biodegradables como una alternativa para el tratamiento de heridas y regeneración tisular.
- Se estableció que el área de un arreglo de microagujas sea de 4x4 cm (área de 16 cm²) para el tratamiento de úlcera de pie neuropática, con tamaño < 2cm, en personas diabéticas. Sin embargo, está la posibilidad de formar arreglos de mayor área para los distintos tipos de lesiones (heridas por presión, úlceras vasculares, quemaduras, heridas neoplásicas, quemaduras, etc.).
- La capacidad de carga del arreglo no se limita a los 20 mg de Ceftriaxona empleados en la formulación del proyecto. De igual manera, no se limita al uso de otros activos (agentes antimicrobianos, agentes promotores de regeneración, etc).
- El tratamiento consiste en la atención localizada de infecciones en heridas crónicas clínicamente infectadas, así como la promoción de la regeneración tisular de esta misma; se consideran las distintas lesiones que engloban este tipo de heridas. Las heridas que presentan patologías en tejido profundo, como infecciones que han llegado a hueso, no deben ser tratadas con microagujas ya que requieren otro tipo de intervención.
- El uso de D-pantenol y colágeno fungen como promotores de la regeneración, así como el arreglo de andamio para la proliferación celular en la regeneración tisular.

7. Perspectivas

- Cargar el sistema con otro fármaco antibiótico, antiséptico o agentes promotores de la regeneración tisular.
- Estandarizar la técnica de fabricación de microagujas propuestas.
- Generar un sistema de mayor área y evaluar su respuesta.
- Utilizar distintas proporciones de los polímeros, generando un sistema con distintas características en la liberación del activo.
- Realizar estudios *in vivo*, llevando a cabo una comparación entre la vía sistémica y esta alternativa, con el fin de comparar la eficacia del tratamiento antimicrobiano y la posible presencia de reacciones adversas.

8. Referencias

1. Ho, J. K. & Hantash, B. M. The principles of wound healing. *Expert Rev. Dermatol.* **8**, 639–658 (2013).
2. Vela-Anaya, G., Stegensek-Mejía, E. M. & Leija-Hernández, C. Características epidemiológicas y costos de la atención de las heridas en unidades médicas de la Secretaría de Salud. *Rev. Enfermería Inst. Mex. del Seguro Soc.* **26**, 105–114 (2018).
3. Stadelmann, W. K., Digenis, A. G. & Tobin, G. R. Impediments to wound healing. *Am. J. Surg.* **176**, 39S-47S (1998).
4. Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R. & Herman, I. M. Acute and impaired wound healing: Pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: Normal and chronic wounds: Biology, causes, and approaches to care. *Advances in Skin and Wound Care* vol. 25 304–314 (2012).
5. Stenberg, B. D., Phillips, L. G., Hokanson, J. A., Heggors, J. P. & Robson, M. C. Effect of bFGF on the inhibition of contraction caused by bacteria. *J. Surg. Res.* **50**, 47–50 (1991).
6. Bjarnsholt, T. *et al.* Why chronic wounds will not heal: A novel hypothesis. *Wound Repair Regen.* **16**, 2–10 (2008).
7. Tarnuzzer, R. W. & Schultz, G. S. Biochemical analysis of acute and chronic wound environments. *Wound Repair Regen.* **4**, 321–325 (1996).
8. Hernandez, R. The use of systemic antibiotics in the treatment of chronic wounds. *Dermatol. Ther.* **19**, 326–337 (2006).
9. Siddiqui, A. R. & Bernstein, J. M. Chronic wound infection: Facts and controversies. *Clin. Dermatol.* **28**, 519–526 (2010).
10. Valerius, N. H., Koch, C. & Hoiby, N. Prevention of chronic *Pseudomonas aeruginosa* colonisation in cystic fibrosis by early treatment. *Lancet* **338**, 725–726 (1991).
11. Abbas, M., Uçkay, I. & Lipsky, B. A. In diabetic foot infections antibiotics are to treat infection, not to heal wounds. *Expert Opin. Pharmacother.* **16**, 821–832 (2015).
12. Lipsky, B. A. *et al.* Guidelines on the diagnosis and treatment of foot infection in persons with diabetes (IWGDF 2019 update). *Diabetes. Metab. Res. Rev.* **36**, 1–24 (2020).
13. Alinovi, A., Bassissi, P. & Pini, M. Systemic administration of antibiotics in the management of venous ulcers: A randomized clinical trial. *J. Am. Acad. Dermatol.* **15**, 186–191 (1986).
14. Derakhshandeh, H. *et al.* A Wirelessly Controlled Smart Bandage with 3D-Printed Miniaturized Needle Arrays. *Adv. Funct. Mater.* **30**, 1–11 (2020).

15. Xu, J. *et al.* Microneedle Patch-Mediated Treatment of Bacterial Biofilms. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **11**, 14640–14646 (2019).
16. Serrano-Castañeda, P., Escobar-Chavez, J. J., Rodriguez-Cruz, I. M., Melgoza, L. M. & Martinez-Hernandez, J. Microneedles as Enhancer of Drug Absorption Through the Skin and Applications in Medicine and Cosmetology. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **21**, 73–93 (2018).
17. Lipsky, B. A. & Hoey, C. Topical antimicrobial therapy for treating chronic wounds. *Clin. Infect. Dis.* **49**, 1541–1549 (2009).
18. Guzmán, R. A. *Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento.* (McGraw-Hill, 2015).
19. *Cosmetic Formulation. Principles and practice.* (CRC Press, 2019).
20. Saúl, A. *Lecciones de dermatología de saúl.* (McGraw-Hill, 2015).
21. Durocher, L. . Anatomía y Fisiología de la Piel Visión General de la Piel y del Tejido Celular Subcutáneo. *Man. dermatología* **1**, 1–27 (2016).
22. Prausnitz, M. R. & Langer, R. Transdermal drug delivery. *Nature Biotechnology* vol. 26 1261–1268 (2008).
23. Della, L. I. & Pinto, G. La vía de absorción transdérmica Fármacos y profármacos. 1–11 (2017).
24. Sánchez, L. Absorción percutánea. *Soc. Peru. Dermatología* **28**, 92–103 (2018).
25. ALBERY, W. J. & HADGRAFT, J. Percutaneous absorption: theoretical description. *J. Pharm. Pharmacol.* **31**, 129–139 (1979).
26. Clarí, M. Á. Estudios ‘in vitro’ e ‘in vivo’ de la absorción percutánea de la bemiparina: métodos de valoración. (Universidad de Valencia, 2004).
27. Moral, E. Desarrollo de Formulaciones Transdérmicas III. (Universidad Complutense, 2017).
28. Espinoza, M. A. Elaboración de microagujas biodegradables de quitosán mediante técnicas de moldeo para aplicación transdérmica. (UNAM , 2012).
29. Rojas, A. & Hernández, E. Avances En Tecnología Farmacéutica: Parches Transdérmicos De Microagujas. *Fac. Farm. Univ. Complut.* **4**, 5–7 (2017).
30. Azmana, M. *et al.* Transdermal drug delivery system through polymeric microneedle: A recent update. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **60**, 101877 (2020).
31. Dharadhar, S., Majumdar, A., Dhoble, S. & Patravale, V. Microneedles for transdermal drug delivery: a systematic review. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **45**, 188–201 (2019).
32. Bhattacharya, S., Kam, D. H., Song, L. & Mazumder, J. Characterization of individual

- microneedles formed on alloy surfaces by femtosecond laser ablation. *Metall. Mater. Trans. A Phys. Metall. Mater. Sci.* **43**, 2574–2580 (2012).
33. Lee, J. W., Han, M. R. & Park, J. H. Polymer microneedles for transdermal drug delivery. *J. Drug Target.* **21**, 211–223 (2013).
 34. Valenta, C. & Auner, B. G. The use of polymers for dermal and transdermal delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **58**, 279–289 (2004).
 35. Arias, Á. Nanofibras poliméricas con ácido 5-aminolevulínico: preparación, caracterización y estudio de liberación in vitro. (2015).
 36. Carrió, A. M. Diseño de sistemas poliméricos nanoestructurados transportadores para aplicaciones biomédicas. 1–310 (2017).
 37. Lappas, L. & McKeehan, W. Polymeric Pharmaceutical Coating Materials I Preparation and Properties. *J. Pharm. Sci.* **54**, 176–181 (1965).
 38. BASF Pharma | Kollicoat® MAE 100 P. <https://pharma.basf.com/products/kollicoat-mae-100-p>.
 39. Chang, R. & Shukla, A. Polymethacrylates. 462–468 (2002).
 40. Sáez, V., Hernáez, E. & Sanz, L. Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales poliméricos. *Rev. Iberoam. Polim.* **5**, 55–70 (2004).
 41. Nakamatsu, J. Matrices Poliméricas para Liberación Controlada de Sustancias Activas. *Rev. Química* **16**, 13–23 (2002).
 42. Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L. & Chowdhury, P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol. Pharm. - Drug Res.* **67**, 217–223 (2010).
 43. Andreetta, H. A. Fármacos de Acción Prolongada: Mecanismos de Liberación. Usos de distintos modelos. *Acta Farm. Bonaer.* **22**, 355–363 (2003).
 44. Garland, M. J. *et al.* Influence of skin model on in vitro performance of drug-loaded soluble microneedle arrays. *Int. J. Pharm.* **434**, 80–89 (2012).
 45. Ito, Y., Yamazaki, T., Sugioka, N. & Takada, K. Self-dissolving micropile array tips for percutaneous administration of insulin. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **21**, 835–841 (2010).
 46. Fukushima, K. *et al.* Two-layered dissolving microneedles for percutaneous delivery of peptide/protein drugs in rats. *Pharm. Res.* **28**, 7–21 (2011).
 47. Walmsley, G. G. *et al.* Scarless wound healing: Chasing the holy grail. *Plast. Reconstr. Surg.* **135**, 907–917 (2015).
 48. Zeitter, S. *et al.* Microneedling: Matching the results of medical needling and repetitive treatments to maximize potential for skin regeneration. *Burns* **40**, 966–

973 (2014).

49. Liebl, H. & Kloth, L. C. Skin cell proliferation stimulated by microneedles. *J. Am. Coll. Clin. Wound Spec.* **4**, 2–6 (2012).
50. Beldon, P. Basic science of wound healing. *Surgery* **28**, 409–412 (2010).
51. Valencia-Basto, C. Cicatrización: Proceso De Reparación Tisular. Aproximaciones Terapéuticas. *Investig. Andin.* **12**, 85–98 (2010).
52. Öztürk, F. & Ermertcan, A. T. Wound healing: A new approach to the topical wound care. *Cutan. Ocul. Toxicol.* **30**, 92–99 (2011).
53. Diegelmann, R. F. & Evans, M. C. WOUND HEALING: AN OVERVIEW OF ACUTE, FIBROTIC AND DELAYED HEALING. *Front. Biosci.* 283–289 (2004).
54. Senet, P. Fisiología de la cicatrización cutánea. *EMC - Dermatología* **42**, 1–10 (2008).
55. Marazzi, P. Chronic wounds. *Pract. Nurse* **49**, 689–700 (2019).
56. Barnum, L., Samandari, M., Schmidt, T. A. & Tamayol, A. Microneedle arrays for the treatment of chronic wounds. *Expert Opin. Drug Deliv.* **0**, (2020).
57. Guo, S. & DiPietro, L. A. Critical review in oral biology & medicine: Factors affecting wound healing. *J. Dent. Res.* **89**, 219–229 (2010).
58. Baron Burgos, M. M. et al. *Guía para la Prevención y Manejo de las UPP y Heridas Crónicas. Guía para la Prevención y Manejo de las UPP y Heridas Crónicas* (2015).
59. Allué Gracia, M. A. et al. *Heridas crónicas : un abordaje integral. Colegio Oficial de Enfermería de Huesca* (2012).
60. Iberoamericana, S. Heridas Crónicas y la importancia del biofilm.
61. Nazar, J. Biofilms bacterianos. *REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello* **67**, 61–72 (2007).
62. Lackey, W. G., Jeray, K. J., Kamath, A. F., Horneff, J. G. & Esterhai, J. L. Wound Infections. *Evidence-Based Orthop.* **77**, 78–85 (2011).
63. Mella, S. et al. *Propiedades microbiológicas, clasificación y relación estructura-actividad de cefalosporinas e importancia de las cefalosporinas de cuarta generación MICROBIOLOGICAL PROPERTIES, CLASSIFICATIONS AND STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS OF CEPHALOSPORINS AND TH.* *Rev Chil Infect* vol. 18 (2001).
64. Richards, D. M. & Brogden, R. N. Ceftriaxone: A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use. *Drugs* **29**, 105–161 (1985).
65. Davis, S. P., Landis, B. J., Adams, Z. H., Allen, M. G. & Prausnitz, M. R. Insertion of microneedles into skin : measurement and prediction of insertion force and needle

- fracture force. **37**, 1155–1163 (2004).
66. Serrano, P., Escobar-chávez, J. J., Luisa, C. & Delgado, D. Development and characterization of microneedles for transdermal delivery of atorvastatin calcium formulated within a poly (methyl vinyl ether-alt-maleic acid) matrix , intended to be used to treat hypercholesterolemia. 1–6 (2019).
 67. MICROCAYA. Corneometer CM-825. Hidratación cutánea.
<https://www.microcaya.com/productos/analizadores-de-piel/para-investigacion/18-corneometer-cm-825>.
 68. MICROCAYA. Para Investigación | Equipamientos y aparatos de análisis, investigación y medición en el ámbito de la salud.
<https://www.microcaya.com/productos/analizadores-de-piel/2-para-investigacion>.
 69. MICROCAYA. Tewameter TM Hex.
<https://www.microcaya.com/productos/analizadores-de-piel/para-investigacion/318-tewameter-tm-hex>.
 70. MICROCAYA. Skin pH-Meter PH-905.
<https://www.microcaya.com/productos/analizadores-de-piel/para-investigacion/23-skin-ph-meter-ph-905>.
 71. MICROCAYA. Mexameter MX-18.
<https://www.microcaya.com/productos/analizadores-de-piel/para-investigacion/25-mexameter-mx-18>.
 72. Montgomery, D. *Diseño y análisis de experimentos* . (Editorial Limusa , 2004).
 73. Gorgas, J. *Estadística básica para estudiantes de ciencias*. (Universidad Complutense de Madrid, 2009).
 74. Soporte Minitab 18. ¿Qué es una gráfica de efectos principales? - Minitab.
<https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/anova/supporting-topics/basics/what-is-a-main-effects-plot/>.
 75. Kumar, K., Dhawan, N. & Sharma, H. Bioadhesive polymers: Novel tool for drug delivery. *Nanomedicine, Biotechnol.* **42**, 274–283 (2014).
 76. Islam, M. S., Khan, M. Z. R., Khatun, M., Chowdhury, J. A. & Reza, M. S. Studies on bio-adhesion of matrix tablets: II. comparison on bio-adhesion strength and release profiles of Theophylline anhydrous and its sodium glycinate salt. *Dhaka Univ. J. Pharm. Sci.* **10**, 1–7 (2011).
 77. Woodley, J. *Bioadhesion New Possibilities for Drug Administration? Clin Pharmacokinet* vol. 40 (2001).
 78. Lerma, J. El agua y los plásticos, difícil amistad.
<https://www.interempresas.net/Plastico/Articulos/186137-El-agua-y-los-plasticos-dificil-amistad.html> (2017).

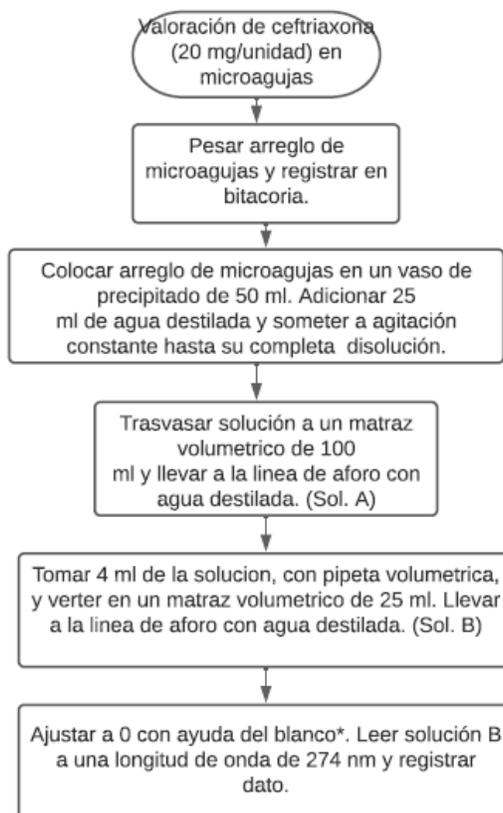
79. Lucero, M. *El pH de la piel y los productos cosméticos*.
80. Alcalde, M. T. Glosario de cosmética hidratante. Conceptos revisados. **28**, 50–55 (2009).
81. Muñoz, J. Hidratación cutánea. **27**, 48–51 (2008).
82. Sahithi, B. *et al.* A review on collagen based drug delivery systems. *Indian J. Res. Pharm. Biotechnol.* **1**, 461–468 (2013).
83. Lefebvre, F., Pilet, P., Bonzon, N., Daculsi, G. & Rabaud, M. New preparation and microstructure of the EndoPatch elastin-collagen containing glycosaminoglycans. *Biomaterials* **17**, 1813–1818 (1996).
84. Coreño, J. A. & Mendez, M. Relación estructura-propiedades de polímeros. *Educ. Química* **21**, 291–299 (2010).
85. Rudnykh, S. I. & López-Ríos, V. I. Elección de la función de deseabilidad para diseños óptimos bajo restricciones. *Rev. EIA* **15**, (2018).
86. De, G. R. *et al.* The mechanical properties of microbial surfaces and biofilms. (2019) doi:10.1016/j.tcs.2019.100028.
87. Castañeda, P. S. *et al.* Development of Poly (Methyl vinyl ether-alt-maleic acid) Microneedles for Transdermal Delivery of Atorvastatin Calcium. *Curr. Pharm. Biotechnol.* **21**, 852–861 (2020).
88. Maliyar, K., Persaud-Jaimangal, R. & Sibbald, R. G. Associations among Skin Surface pH, Temperature, and Bacterial Burden in Wounds. *Adv. Ski. Wound Care* **33**, 180–185 (2020).
89. Schneider, L. A., Korber, A., Grabbe, S. & Dissemond, J. Influence of pH on wound-healing: A new perspective for wound-therapy? *Arch. Dermatol. Res.* **298**, 413–420 (2007).
90. Power, G., Moore, Z. & O'Connor, T. Measurement of pH, exudate composition and temperature in wound healing: A systematic review. *J. Wound Care* **26**, 381–397 (2017).
91. Chen, J. *et al.* Effects of Home-based Telesupervising Rehabilitation on Physical Function for Stroke Survivors with Hemiplegia: A Randomized Controlled Trial. *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* **96**, 152–160 (2017).
92. Bonet, C. M., Lozano, S. A. & Gatiús, J. R. Prevalence of infection with *Staphylococcus aureus* methicillin resistant in chronic wounds in primary care of Lleida. Retrospective study. *Gerokomos* **26**, 157–161 (2015).
93. Pérez, E. M. *et al.* Comparación de la efectividad de antibióticos β -lactámicos en cepas de *Staphylococcus aureus*. **6**, 6–12 (2003).
94. Minotta, J. Evaluación de la cinética de liberación de un fármaco modelo con

clasificación biofarmaceutica clase II, desde matrices comprimidas compuestas por materiales polimericos anionicos. (ICESI, 2017).

95. Alvarez, A. M. El tamaño y la duración previa predicen la curación en úlceras de pie diabético de origen neuropático. *Evidencia, Actual. en la práctica ambulatoria* **4**, 1992 (2001).

9. Anexo 1

9.1 Ensayo de contenido Químico



* Se usa el placebo del producto como blanco.

** La solución de muestra a leer tiene una concentración teorica de 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$

10. Anexo 2

10.1 Validación del método analítico

10.1.1 Especificidad

Se presentan los barridos espectrofotométricos de un STD de Ceftriaxona, un placebo y un placebo adicionado, empleando agua como blanco, con la finalidad de conocer el comportamiento espectral de cada uno (Figura 33). Como se puede observar, el placebo genera una ligera interferencia a la longitud de onda a cuantificar (274 nm). Ya que solo se presenta una suma de absorbancias del polímero con la ceftriaxona, se empleó un placebo como blanco para eliminar la respuesta del placebo y se realizó un barrido. De esta manera se puede afirmar que la respuesta se debe únicamente al fármaco.

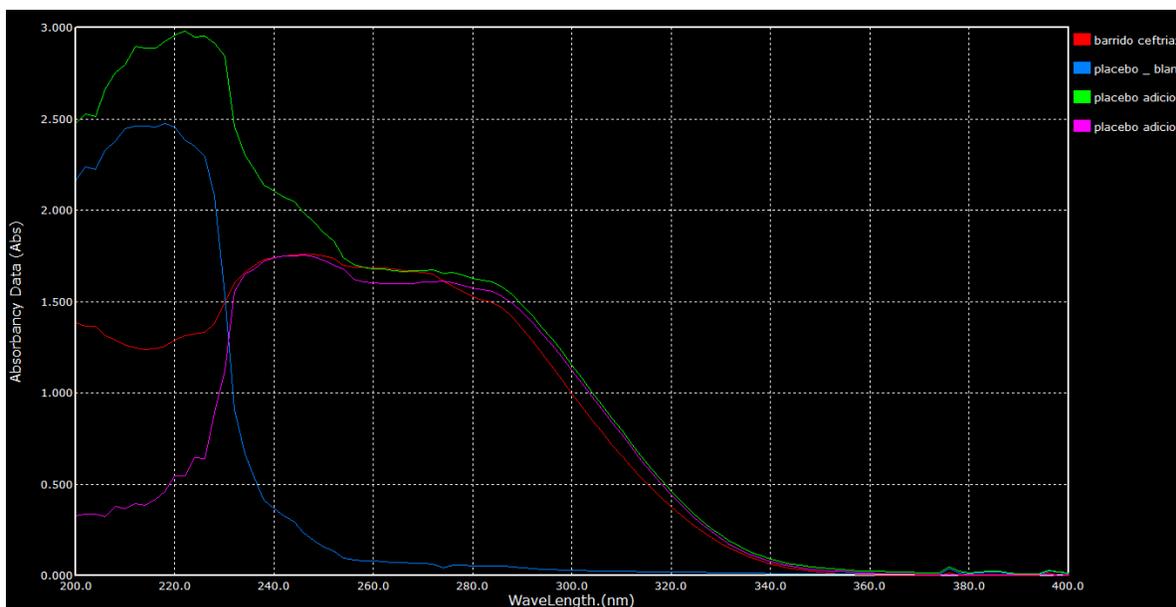


Figura 33. Barrido espectral de STD Ceftriaxona (rojo), placebo (azul), placebo adicionado (verde) y placebo adicionado empleando un placebo como blanco (morado).

10.1.2 Linealidad del sistema

Para evaluar si el sistema de medición de la respuesta analítica es lineal se preparó una curva de calibración de Ceftriaxona en seis niveles de concentración 16 – 48 µg/ml (Tabla 17).

Tabla 17. Curva de calibración para el parámetro de linealidad de sistema

SISTEMA	CONC. µg /ml	ABSORBANCIA
1	16	0.9085
	16	0.9485
	16	0.9298
2	24	1.3622
	24	1.3164
	24	1.2955
3	32	1.7388
	32	1.7479
	32	1.7509
4	40	2.1214
	40	2.1133
	40	2.1133
5	48	2.4787
	48	2.4972
	48	2.5065

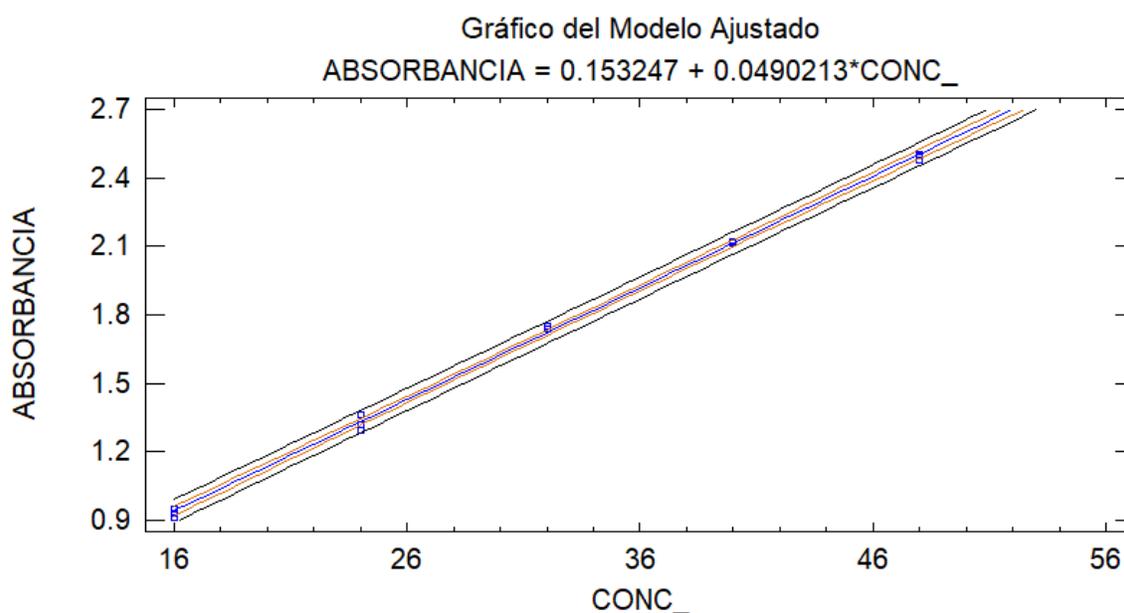
Para determinar si el sistema es estadísticamente lineal y el modelo tiene un buen ajuste, se realizó una regresión lineal y un ANOVA con carencia de ajuste (Tabla 18 y 19, Gráfica 1).

Tabla 18. Estadísticas de regresión para linealidad del sistema

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.999336819
Coefficiente de determinación R ²	0.998674077
R ² ajustado	0.998572083
Error típico	0.021707536
Observaciones	15

Tabla 19. ANOVA para linealidad del sistema

Análisis de Varianza con Carencia de Ajuste					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	4.61392	1	4.61392	9791.49	0
Residuo	0.00612582	13	0.000471217		
Carencia de Ajuste	0.00247324	3	0.000824414	2.26	0.1442
Error Puro	0.00365258	10	0.000365258		
Total (Corr.)	4.62005	14			



Gráfica 1. Curva de calibración para el parámetro de linealidad del sistema

En la Tabla 20 se muestran los distintos parámetros a evaluar para determinar la linealidad del sistema, teniendo en sustento lo establecido en la Guía de validación de métodos analíticos editada por el colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos, así como el cumplimiento de los mismos. Se puede concluir que los resultados analíticos obtenidos son proporcionales a la concentración del analito en el intervalo determinado.

Tabla 20. Parámetros por evaluar en linealidad del sistema

	Valor de referencia	Valores obtenidos	Observación
Coefficiente de determinación	> 0.98	0.9969	Cumple
Intervalo de confianza para la pendiente	no debe de incluir el 0	0.0479-0.0501	Cumple
Carencia de ajuste	> 0.05	0.1442	Cumple

10.1.3 Precisión del sistema

Para evaluar la precisión del sistema se preparó por sextuplicado la tercera concentración de la curva de calibración (32 mcg/ml) [Tabla 21].

Tabla 21. Resultados obtenidos para precisión del sistema

SISTEMA	CONC.	ABSORBANCIA
	µg /ml	
1	32	1.7479
	32	1.7509
	32	1.7665
	32	1.7293
	32	1.7372
	32	1.7388
	promedio	1.7451
desv std	0.01304745	
CV	0.74766213	

En la Tabla 22 se muestra el parámetro a evaluar para determinar la precisión del sistema, teniendo en sustento lo establecido en la Guía de validación de métodos analíticos editada por el colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos, así como el cumplimiento de este. Se puede concluir que el sistema cumple con el parámetro de precisión.

Tabla 22. Parámetro a evaluar en precisión del sistema

	Valor de referencia	Valores obtenidos	Observación
Coefficiente de variación	<1.5%	0.747662132	Cumple

10.1.4 Linealidad del método

Con el fin de evaluar a linealidad del método, se realizó una curva de calibración, empleando placebos adicionados, empleando cinco niveles de concentración (16-48 µg /ml) [Tabla 23]. Se evaluó el % de Recobro y la relación y/x.

Tabla 23. Resultados obtenidos para la determinación de linealidad del método

Concentración teórica	Absorbancia	Concentración obtenida	Cantidad adicionada	Cantidad recuperada	y/x	% Recobro
µg/ml		mcg/ml	mg	mg		
16.2250	0.8208	15.9186	10.1406	9.9491	0.9811	98.1116

	0.8198	15.8992	10.1406	9.9370	0.9799	97.9921
	0.8201	15.9050	10.1406	9.9406	0.9803	98.0280
24.3300	1.2257	23.7712	15.2062	14.8570	0.9770	97.7036
	1.2493	24.2289	15.2062	15.1431	0.9958	99.5848
	1.2324	23.9011	15.2062	14.9382	0.9824	98.2376
32.4500	1.6372	31.7518	20.2812	19.8449	0.9785	97.8487
	1.6562	32.1203	20.2812	20.0752	0.9898	98.9842
	1.6372	31.7518	20.2812	19.8449	0.9785	97.8487
40.5600	2.0845	40.4267	25.3500	25.2667	0.9967	99.6715
	2.0840	40.4170	25.3500	25.2607	0.9965	99.6475
	2.0672	40.0912	25.3500	25.0570	0.9884	98.8442
48.6000	2.4625	47.7577	30.3750	29.8485	0.9827	98.2668
	2.4714	47.9303	30.3750	29.9564	0.9862	98.6220
	2.4714	47.9303	30.3750	29.9564	0.9862	98.6220

Promedio	0.9853	98.5342
Desv estandar	0.0068	0.6797
%CV	0.6899	0.6899

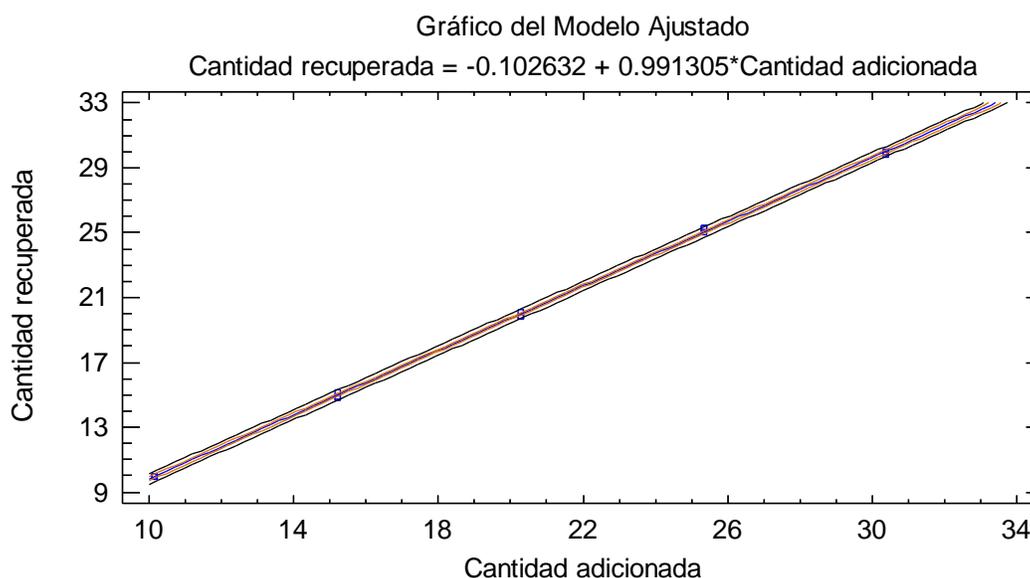
Para determinar si el método es estadísticamente lineal y el modelo tiene un buen ajuste, se realizó una regresión lineal y un ANOVA con carencia de ajuste (Tabla 24 y 25, Gráfica 2).

Tabla 24. Estadísticas de regresión para linealidad del método

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0.99983939
Coefficiente de determinación R ²	0.99967881
R ² ajustado	0.99965411
Error típico	0.13661662
Observaciones	15

Tabla 25. ANOVA con carencia de ajuste

Análisis de Varianza con Carencia de Ajuste					
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Modelo	755.188	1	755.188	40462.08	0
Residuo	0.242633	13	0.0186641		
Carencia de Ajuste	0.127482	3	0.042494	3.69	0.0506
Error Puro	0.115151	10	0.0115151		
Total (Corr.)	755.431	14			



Gráfica 2. Curva de calibración para el parámetro de linealidad del método

En la Tabla 26 se muestran los distintos parámetros a evaluar para determinar la linealidad del método, teniendo en sustento lo establecido en la Guía de validación de métodos analíticos editada por el colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos, así como el cumplimiento de los mismos. Se puede concluir que los resultados analíticos obtenidos mediante el método analítico son proporcionales a la concentración del analito en el intervalo determinado, por lo que el intervalo de trabajo se encuentra dentro del intervalo lineal.

Tabla 26. Parámetros por evaluar en linealidad del sistema

		Valor de referencia	Valores obtenidos	Observación
Cantidad adicionada vs recuperada	Coefficiente de determinación	> 0.98	0.99965411	Cumple
	Intervalo de confianza de la pendiente	debe de incluir la unidad	(0.98065, 1.0019)	Cumple
	Intervalo de confianza de la ordenada al origen	debe incluir el cero	(-0.33152, 0.12622)	Cumple
	CV y/x	< 3.0%	0.68985093	Cumple
Porcentaje de recobro	Promedio aritmético	97.0% a 103.0%	98.5342143	Cumple
	CV del % de recobro	< 3.0%	0.68985093	Cumple
Carencia de ajuste		> 0.05	0.0506	Cumple

10.1.5 Exactitud y repetibilidad

Para evaluar la precisión y exactitud del método se calcularon los porcentajes de recuperación para 18 muestras sometidas al ensayo de contenido químico (Tabla 27).

Tabla 27. Resultados obtenidos para exactitud y repetibilidad.

Conc (µg/ml)	Abs obtenida	Conc obtenida (µg/ml)	Mg adicionados	Mg recuperados	Recobro
16.225	0.8208	15.9186	10.1406	9.9491	98.1116
	0.8198	15.8992	10.1406	9.9370	97.9921
	0.8201	15.9050	10.1406	9.9406	98.0280
	0.8340	16.1746	10.1406	10.1091	99.6895
	0.8251	16.0020	10.1406	10.0012	98.6256
	0.8141	15.7886	10.1406	9.8679	97.3108
32.45	1.6372	31.7518	20.2812	19.8449	97.8487
	1.6562	32.1203	20.2812	20.0752	98.9842
	1.6372	31.7518	20.2812	19.8449	97.8487
	1.6773	32.5295	20.2812	20.3309	100.2453
	1.6613	32.2192	20.2812	20.1370	99.2890
	1.6613	32.2192	20.2812	20.1370	99.2890
48.6	2.4625	47.7577	30.3750	29.8485	98.2668
	2.4714	47.9303	30.3750	29.9564	98.6220
	2.4714	47.9303	30.3750	29.9564	98.6220
	2.4212	46.9567	30.3750	29.3479	96.6187
	2.4304	47.1351	30.3750	29.4594	96.9858
	2.4214	46.9606	30.3750	29.3504	96.6267
promedio					98.2780
desv std					1.0114
%cv					1.0291

En la Tabla 28 se muestran los distintos parámetros a evaluar para determinar la precisión y exactitud, teniendo en sustento lo establecido en la Guía de validación de métodos analíticos editada por el colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos, así como el cumplimiento estos mismos. Se puede concluir que el método es preciso y exacto.

Tabla 28. Parámetros a evaluar en precisión y exactitud

	Valor de referencia	Valores obtenidos	observación
Promedio aritmético	97.0% a 103.0%	98.27802771	Cumple
CV del % de recobro	< 3.0%	1.029096165	Cumple

10.1.6 Precisión intermedia

Para determinar la precisión intermedia, se llevó a cabo el análisis de 9 muestras sometidas al ensayo de contenido químico por dos analistas distintos, en dos días distintos (Tabla 29).

Tabla 29. Resultados obtenidos para el parámetro de precisión intermedia

	Analista 1	Analista 2	CV
Día 1	98.6137	98.9651	1.2855
	99.1396	99.0940	
	97.9802	95.2033	
	97.3168	97.2600	
	98.2192	96.2111	
	98.3925	98.6428	
	98.6579	96.0073	
	97.8239	95.6669	
	98.8933	98.5972	
CV	0.5777	1.6004	CV
Día 2	99.6895	102.7575	1.6639
	98.6256	102.9776	
	97.3108	102.0852	
	100.2453	100.9972	
	99.2890	100.3432	
	99.2890	101.2234	
	98.2668	101.6426	
	98.6220	98.6389	
	98.6220	98.5899	
CV	0.8677	1.5824	

promedio global	98.8861
desv.std. global	1.8137
CV GLOBAL	1.8342

En la Tabla 30 se muestra el parámetro a evaluar para determinar la precisión intermedia, teniendo en sustento lo establecido en la Guía de validación de métodos analíticos editada por el colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos, así como el cumplimiento este mismo. Se puede concluir que el método cuenta con buena precisión, independientemente del factor analista-día.

Tabla 30. Parámetro a evaluar en precisión intermedia

	Valor de referencia	Valores obtenidos	Observación
CV global del % de recobro	< 3.0%	1.834176649	Cumple