



FUNDACION H.A.BARCELO
FACULTAD DE MEDICINA

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

TRABAJO FINAL DE INVESTIGACIÓN

EFFECTOS DE LA APLICACIÓN ANESTÉSICA CON ELECTROPORACIÓN, MEDIDOS POR ESTESIOMETRÍA

AUTOR/ES: Ylarri, Julian

TUTOR/ES DE CONTENIDO: Lic. Herrero, Mariela

TUTOR/ES METODOLÓGICO: Lic. Ronzio, Oscar

FECHA DE LA ENTREGA: 01-08-2018

CONTACTO DEL AUTOR: julian@ylarri.com.ar

RESUMEN

Introducción: la electroporación consiste en la aplicación de pulsos eléctricos de alta tensión que aumentan transitoriamente el potencial de transporte de membrana, siendo posible así la administración transdérmica de fármacos, permitiendo que las macromoléculas migren por los polos. La eficacia del transporte depende de las características eléctricas y las propiedades fisicoquímicas de los fármacos.

El objetivo de este trabajo fue comprobar la penetración y duración de los anestésicos administrados por la electroporación percutánea.

Material y métodos: el estudio se desarrolló en pacientes sanos de ambos sexos, entre 18 a 35 años, con un total de 30 muestras. Los mismos fueron cegados al momento del estudio. Se seleccionaron, de manera aleatoria, 2 grupos de 15 muestras cada uno, grupo con tratamiento (G1) y grupo placebo (G3).

Resultados: se constató una disminución de la sensibilidad al primer minuto en ambos grupos, que fue disminuyendo gradualmente en el G1 y de manera más brusca en G3. El análisis intergrupo no arrojó diferencias significativas.

Discusión y Conclusión: no se pudo demostrar que el uso de lidocaína al 1% con electroporación haga un efecto considerable de anestesia. Para obtener mejores resultados se podría cambiar el tipo de presentación de la droga aplicada, así como también el aumento del número de las muestras.

Palabras Clave: Electroporación- administración transdérmica – anestesia local

ABSTRACT

Introduction: Electroporation consists of the application of high voltage electrical pulses that transiently increase the membrane transport potential, thus allowing the transdermal administration of drugs, allowing the macromolecules to migrate through the poles. The efficiency of transport depends on the electrical characteristics and physicochemical properties of the drugs.

The objective of this work was to verify the penetration and duration of anesthetics administered by percutaneous electroporation.

Material and methods: the study was developed in healthy patients of both sexes, between 18 to 35 years, with a total of 30 samples. They were blinded at the time of the study. Two groups of 15 samples each, group with treatment (G1) and placebo group (G3) were randomly selected.

Results: There was a decrease in sensitivity at the first minute in both groups, which gradually decreased in G1 and more abruptly in G3. The intergroup analysis did not show significant differences.

Discussion and conclusion: it could not be demonstrated that the use of 1% lidocaine with electroporation makes a considerable anesthesia effect. To obtain better results, the type of presentation of the applied drug could be changed, as well as the increase in the number of samples.

Keywords: Electroporation - transdermal administration - local anesthesia

INTRODUCCIÓN

La piel es el órgano más grande y la barrera más externa del cuerpo humano.

Nos protege contra los impactos mecánicos externos, radiación ultravioleta, deshidratación y microorganismos. La piel consta de tres capas principales: epidermis, dermis e hipodermis. La epidermis es la capa más externa de la piel. La epidermis humana varía en grosor de 50 a 150 μm , tiene la función de barrera de la piel. En la parte superior de 15-20 μm , se encuentra el estrato corneo (EC). Esta capa consiste en un epitelio rígido, unido al desmosoma celular, conocidas como corneocitos, incrustadas en una lámina altamente organizada formada por lípidos intercelulares. Esta capa resulta en una barrera prácticamente impermeable que reduce el paso de moléculas.

Debajo del estrato córneo se encuentra la epidermis viable, compuesta por queratinocitos, melanocitos, células de Merkel y células de Langerhans, desempeñan importantes funciones en la epidermis viable. (1)

Debajo se encuentra la dermis, compuesta por fibroblastos y mastocitos. Contiene vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios y un abundante nivel de fibras de colágeno. Esta capa de piel es el sitio principal de intercambios entre la piel y las redes sanguíneas y linfáticas. Debajo de la dermis se localiza la hipodermis, un conjunto de los adipocitos unidos por fibras de colágeno. No solo forma una barrera térmica, también almacena energía y funciona como un cojín mecánico para el cuerpo. Apéndices tales como glándulas sudoríparas, glándulas sebáceas y los folículos pilosos son estructuras que penetran en la piel y se originan ya sea de la dermis o la hipodermis(2-4) .

Por lo tanto, los fármacos administrados a través de la piel se eliminan rápidamente del tejido dérmico. Por eso, existe la necesidad de generar una administración transdérmica que proporcione un nivel efectivo de fármacos a la región afectada, prolongando la retención y actividad del fármaco. La electroporación es un método no invasivo de administración de fármacos en la piel(5, 6).

La administración transdérmica de fármacos ofrece ciertas ventajas sobre las demás vías convencionales, como su accesibilidad, seguridad y eficacia; evita el metabolismo de primer paso y el tracto gastrointestinal(7, 8)

Pero a pesar de esto, sólo un pequeño porcentaje de fármacos puede administrarse transdérmicamente debido a las propiedades de barrera de la piel: sólo se pueden suministrar fármacos lipófilos potentes pequeños a velocidades terapéuticas por difusión pasiva(9-11)

Con pulsos eléctricos de cientos de voltios, con una duración de 10 μs -10 ms, dan lugar a la formación de poros acuosos en las bicapas lipídicas del EC, es así como en la discontinuidad reversible de células de la membrana, mientras el campo eléctrico proporciona una fuerza impulsora, la entrega es principalmente por la difusión pasiva a través de los poros(12, 13).

La eficacia de la electroporación en la administración de fármacos depende de la tensión aplicada, la duración de la aplicación, la velocidad y el número de pulsos aplicados(5).

En este estudio se aplicó lidocaína 1% y se midió el tiempo desde el inicio de sensación hasta el fin del efecto y penetración, medida por un estesiómetro, del anestésico(14, 15).

El objetivo de este trabajo fue demostrar la penetración y duración de los fármacos tópicos (anestésicos) aplicados por medio del equipo de electroporación, comprobando la eficacia del tratamiento en dolores agudos localizados, permitiendo así trabajar la zona afectada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo, diseño y características del estudio:

El tipo de investigación fue de tipo simple ciego, analítico y transversal(15, 16) .

Población y muestra:

Tamaño de la muestra:

Fueron designados 30 voluntarios, de sexo indistinto y edad de 18 a 35 años, que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión(15).

Tipo de muestreo:

El tipo de muestreo ha sido aleatorio simple(15).

Criterios de inclusión:

Personas voluntarias sanas de cualquier sexo y edad de 18 a 35 años(17).

Criterios de exclusión:

Personas que tengan imperfecciones evidentes de la piel en el lugar de la prueba, sensibilidad conocida a los anestésicos amida o epinefrina, dermatitis activa o hipersensibilidad a metales, vasculitis, embarazo o lactancia, muestras que no cuenten con la edad pactada para este estudio(16).

Criterios de eliminación:

Aquellas personas que se nieguen a firmar el consentimiento informado, que se ausenten el día acordado para el estudio o que durante la realización del mismo manifiesten su abdicación(17).

Aspectos éticos:

El presente proyecto fue evaluado por el Comité de Ética del Instituto Universitario De Ciencias De La Salud, Fundación H. A. Barceló.

Se le entregó a los participantes un documento escrito titulado “Carta de información y consentimiento escrito de participación del voluntario” y otro denominado “Consentimiento informado” explicando los objetivos y propósitos del estudio, los procedimientos experimentales, cualquier riesgo conocido a corto o largo plazo, posibles molestias; beneficios de los procedimientos aplicados; duración del estudio; la suspensión del estudio cuando se encuentren efectos negativos o suficiente evidencia de efectos positivos que no justifiquen continuar con el estudio y, la libertad que tienen los sujetos de retirarse del estudio en cualquier momento que deseen. En ese documento también se indica cómo fue mantenida la confidencialidad de la información de los participantes en el estudio ante una eventual presentación de los resultados en eventos científicos y/o publicaciones. En caso de aceptación el sujeto firmó dichos documentos.

Procedimiento/s

Instrumento(s)/Materiales:

Las pruebas de sensibilidad por presión fueron realizadas a través de un estesiómetro de monofilamentos sintéticos de marca Sorri y utilizando el Test de Frey(18).

Para la aplicación de electroporación se utilizó un dispositivo marca Sveltia, modelo Permactive.

Método:

Se invitó a estudiantes de la carrera de Kinesiología de la Fundación H. A. Barceló que residan Capital Federal.

Los investigadores dispondrán de un profesional matriculado en Kinesiología(o título similar) para la certificación definitiva de que los participantes del estudio cuenten con los criterios de selección previamente explicados.

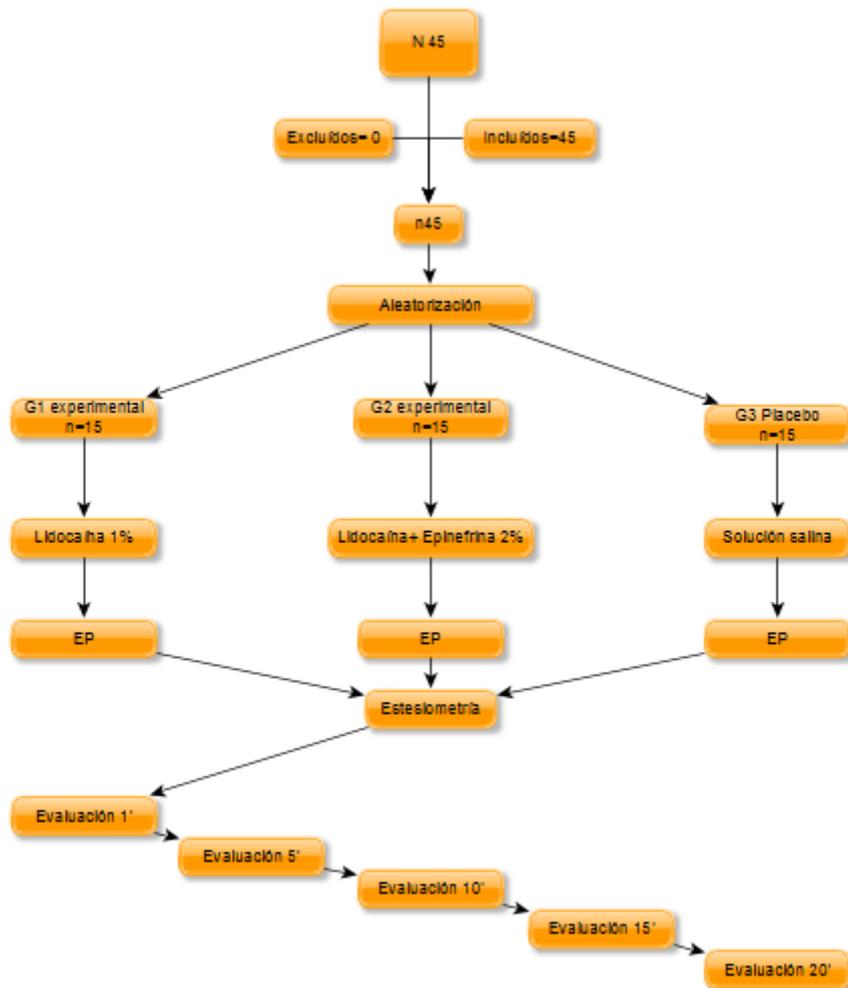
Luego de ello se entregó el consentimiento informado a los candidatos, y de haber sido firmado y aceptado, se continuó a realizar el ensayo.

Después de la selección de la muestra, se dividió a los participantes en 2 grupos: Grupo Experimental Uno (G1) y Grupo Control (G3).

A todos los grupos se les aplicó el dispositivo de electroporación de alto voltaje en el antebrazo, luego de la colocación de las diferentes soluciones. En G1 se utilizó Lidocaina al 1% y a G3 solución salina normal.

Los impulsos suministrados por el aplicador están establecidos por el mismo. El tratamiento elegido será con una tensión (80 V), longitud, número y frecuencia del impulso controlado automáticamente por el instrumento. La aplicación fue de 6 minutos. Todas las electroporaciones en este estudio se realizaron con estas condiciones.

Se evaluó y monitoreó el grado de sensibilidad cutánea a la percepción de las fuerzas aplicadas como estímulos a través de estesiometría. Se aplicaron los miofilamentos que reflejan los umbrales funcionales comprendidos en 6 franjas entre 0.05gf y 300gf, hasta que el participante haya contestado afirmativamente cuando empezó a sentir el filamento. Este procedimiento se realizó al minuto 1', 5', 10', 15' y 20' luego de la aplicación con el electroporador, estableciendo la duración del anestésico en el tiempo mencionado.



Tratamiento estadístico de los datos:

Los datos fueron volcados al Microsoft Excel, con el que se realizaron tablas y gráficos. Para describir a las variables cuantitativas se calculó promedio, desvío estándar, mínimo y máximo.

RESULTADOS

La aplicación de electroporación en la cara anterior del antebrazo, arrojó diferentes resultados en los diferentes grupos de evaluación.

En la tabla 1 se muestran los valores de sensibilidad obtenidos previa y posteriormente a la aplicación de lidocaína al 1% (G1) y solución salina normal (G3) con el equipo electroporador junto a la media, desviación estándar, máxima y mínima.

N	PLACEBO						LIDOCAÍNA					
	Pre	1'	5'	10'	15'	20'	Pre	1'	5'	10'	15'	20'
31	0,05	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,05	2,00	0,20	0,05	0,20	2,00
32	0,20	2,00	0,20	0,20	2,00	0,20	2,00	0,20	0,05	0,05	0,05	0,05
33	0,20	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	0,05	0,20	0,05	0,05	0,05	0,05
34	0,20	2,00	0,20	0,20	2,00	2,00	0,05	2,00	0,20	0,20	0,20	0,20
35	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
36	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,05	0,05	0,05	2,00	2,00	0,20
37	2,00	2,00	2,00	0,05	0,20	0,20	0,05	0,05	0,20	0,20	0,05	0,20
38	0,20	0,20	0,20	0,05	0,20	0,20	2,00	4,00	2,00	2,00	2,00	2,00
39	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,00	2,00	4,00	4,00	4,00	2,00
40	0,20	2,00	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,00	0,20	2,00	0,20	0,20
41	0,20	2,00	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,00	2,00	0,20	0,20
42	0,20	2,00	2,00	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,00	2,00	2,00	0,20
43	0,05	0,20	0,20	0,05	0,05	0,05	0,20	0,20	0,20	0,05	0,20	0,20
44	0,05	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	2,00	0,20	0,20	2,00
45	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,05	2,00	2,00	0,20	0,20	0,20
MEDIA	0,41	1,16	0,68	0,41	0,67	0,55	0,62	1,15	1,14	1,13	0,90	0,78
DESV. EST.	0,65	0,93	0,82	0,65	0,83	0,75	0,86	1,20	1,21	1,22	1,20	0,89
MÁX.	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	4,00	4,00	4,00	4,00	2,00
MÍN.	0,05	0,20	0,20	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05

Tabla 1: resultados de la sensibilidad pre y post aplicación.

En el gráfico 1 se muestra la evolución de la sensibilidad previa y posterior a la aplicación.

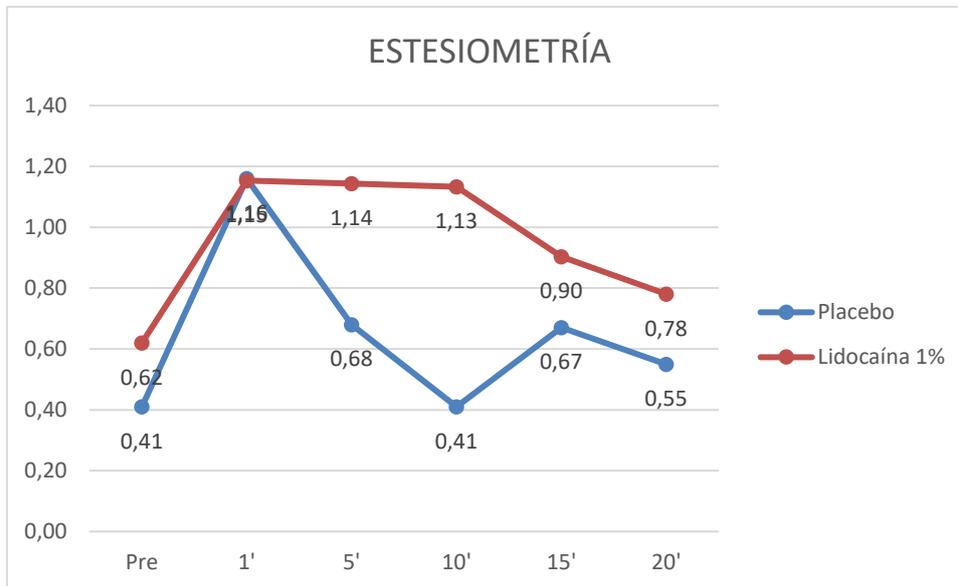


Gráfico 1

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Si bien hay una disminución de la sensibilidad en el G1, que va perdiendo efecto al correr del tiempo, el uso de lidocaína al 1% con equipo de electroporación no alcanza niveles muy diferentes al G3 con solución salina.

Hay ciertos estudios que se han realizado con el fin de determinar los efectos de la lidocaína con aplicación no sólo de electroporación, sino también de iontoforesis, en cuales han tenido resultados satisfactorios. Pero a diferencia del trabajo realizado, el porcentaje de lidocaína era más alto (4%, 10%, 20%)(9, 15).

El uso de lidocaína al 1% en presentación en ampollas y usada en este estudio no da una estimación exacta de la penetración de la misma. En este estudio, la aplicación de los anestésicos fue en conjunto con hidrogeles(19).

Una limitación importante de este estudio fue el tamaño de la muestra, que incluyó pocos participantes, dando lugar a un resultado débil.

La electroporación utilizada con el fin de penetración de activos, está indicada para cualquier patología 'osteo-mio-articular' que necesite algún fármaco en particular, así como también con un fin estético. Así mismo, se puede recurrir para ser usada previamente a una venopunción o canulación venosa para evitar el dolor causante(16).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jadoul A, Bouwstra J, Prea V. Effects of iontophoresis and electroporation on the stratum corneum: Review of the biophysical studies. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 1999;56:89-105.
2. Bal SM, Ding Z, van Riet E, Jiskoot W, Bouwstra JA. Advances in transcutaneous vaccine delivery: Do all ways lead to Rome? *Journal of Controlled Release*. 2010;148(3):266-82.
3. Zorec B, Becker S, Reberšek M, Miklavčič D, Pavšelj N. Skin electroporation for transdermal drug delivery: The influence of the order of different square wave electric pulses. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013;457(1):214-23.
4. Becker S. Transport modeling of skin electroporation and the thermal behavior of the stratum corneum. *International Journal of Thermal Sciences*. 2012;54:48-61.
5. Sammeta SM, Vaka SRK, Murthy SN. Transcutaneous electroporation mediated delivery of doxepin-HPCD complex: A sustained release approach for treatment of postherpetic neuralgia. *Journal of Controlled Release*. 2010;142(3):361-7.
6. Banga AK, Bose S, Ghosh TK. Iontophoresis and electroporation: comparisons and contrasts. *International Journal of Pharmaceutics*. 1999;179:1-19.
7. Pliquett U, Gusbeth C, Nuccitelli R. A propagating heat wave model of skin electroporation. *Journal of Theoretical Biology*. 2008;251(2):195-201.
8. Sung KC, Fang J-Y, Wang J-J, Hu OY-P. Transdermal delivery of nalbuphine and its prodrugs by electroporation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2003;18:63-70.
9. Denet A-R, Vanbever R, Pr eat V. Skin electroporation for transdermal and topical delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2004;56(5):659-74.
10. Fernandez Iorio F, Álvarez Di Stasi C, Borges FdS. Eletroporacao uma revisao *Revista Fisioterapia Ser*. 2007;2.
11. Charoo NA, Rahman Z, Repka MA, Murthy SN. Electroporation An avenue for transdermal. *Current Drug Delivery*. 2010;7:125-36.
12. Blagus T, Markelc B, Cemazar M, Kosjek T, Preat V, Miklavcic D, et al. In vivo real-time monitoring system of electroporation mediated control of transdermal and topical drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 2013;172(3):862-71.
13. Schoellhammer CM, Blankschtein D, Langer R. Skin permeabilization for transdermal drug delivery: recent advances and future prospects. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2014;11(3):393-407.
14. Kumar M, Chawla R, Goyal M. Topical anesthesia. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*. 2015;31(4):450.
15. Wallace M. Topical delivery of lidocaine in healthy volunteers by electroporation, electroincorporation, or iontophoresis: An evaluation of skin anesthesia. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*. 2001;26(3):229-38.
16. Zempsky WT, Sullivan J, Paulson DM, Hoath SB. Evaluation of a Low-Dose Lidocaine Iontophoresis System for Topical Anesthesia in Adults and Children: A Randomized, Controlled Trial. *Clinical Therapeutics*. 2004;26(7):1110-9.
17. Saliba SA, Teeter-Heyl CL, McKeon P, Ingeroll CD, Saliba EN. Effect of Duration and Amplitude of Direct Current when Lidocaine Is Delivered by Iontophoresis. *Pharmaceutics*. 2011;3(4):923-31.
18. Wehrfritzl A, Namerl B, Ihmsenl H, Muellerl C, Filitzl J, Koppertl W, et al. Differential effects on sensory functions and measures of epidermal nerve fiber density after application of a lidocaine patch (5%) on healthy human skin. *European Journal of Pain*. 2011;15(9):907-12.
19. Fang J-Y, Sung KC, Wang J-J, Chu C-C, Chen K-T. The effects of iontophoresis and electroporation on transdermal delivery of buprenorphine from solutions and hydrogels. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2002;54:1329-37.

