

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA



TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORADO EN CIENCIAS E
INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN SISTEMA MUCOADHESIVO FIBROSO
MULTICAPA PARA LA LIBERACIÓN DE DEXAMETASONA EN LA MUCOSA
ORAL**

PRESENTA

M.C. GRACIELA LIZETH PÉREZ GONZÁLEZ

(C.V.U. 464826)

DIRECTORES DE TESIS

DR. JOSÉ MANUEL CORNEJO BRAVO

DR. LUIS JESÚS VILLARREAL GÓMEZ

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Folio No.343
Tijuana, B.C., a 25 de abril, 2023

C. Graciela Lizeth Pérez González
Pasante de: Doctorado en Ciencias
Presente

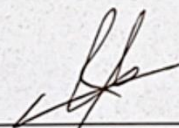
El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS.

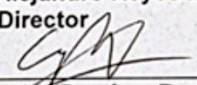
Es propuesto, por el C. Dr. José Manuel Cornejo Bravo

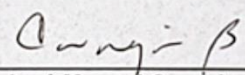
Quienes serán las responsables de la calidad del trabajo que usted presente,
referido al tema "EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE UN SISTEMA
MUCOADHESIVO FIBROSO MULTICAPA PARA LA LIBERACIÓN DE
DEXAMETASONA EN LA MUCOSA ORAL"


El cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I. INTRODUCCIÓN
- II. MARCO TEÓRICO
- III. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN
- IV. HIPÓTESIS
- V. METODOLOGÍA
- VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES
- VII. CONCLUSIONES
- VIII. REFERENCIAS
- IX. ANEXOS


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director


Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Sub-Directora


Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Director/de Tesis


Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez
Co-Director de Tesis

DEDICATORIA

A *Dios* por la vida que me ha regalado llena de bendiciones y satisfacciones en cada camino que recorro.

A *Mi Mami Graciela González Ríos* por el amor incondicional que siempre me tuvo, por apoyarme en todo momento, por enseñarme a ser paciente y perseverante, a luchar por mis metas y por que gracias a ella soy la persona que soy hoy en día. Gracias Mami.

A mi *Marido Luis Jesús Villarreal Gómez* por ser mi mejor amigo, mi confidente, mi cómplice en todas mis aventuras, por ayudarme durante todo este proceso que llamamos vida, por estar en las buenas y en las malas siempre a mi lado, por echarme porras cuando lo necesito y regañarme cuando es necesario. Agradezco poder vivir esta vida a tu lado. Te amo.

A *mis Hermanas Nora Patricia y Karla María Perez González*, por siempre apoyarme y acompañarme en todas las decisiones que tomo, por mas locas que parezcan, por escucharme y aconsejarme y siempre estar ahí para mí, las quiero.

Al *Dr. José Manuel Cornejo Bravo* por su confianza, paciencia, interés y apoyo durante esta etapa de mi vida, ha sido mi ejemplo a seguir y espero algún día llegar a su nivel.

Mil Gracias a todos

Graciela Lizeth Pérez González

AGRADECIMIENTOS

A mis sinodales *Dra. Patricia Lilian Alejandra Muñoz Muñoz, Dr. Eduardo Lopez Maldonado y Dr. Ivan Cordova Guerrero*, por su guía, conocimiento y contribuciones durante mis estudios de doctorado.

A la *Dra. Lucia Margarita Valenzuela y el Dr. Edgar Ramiro Méndez Sánchez* por su apoyo incondicional durante las etapas de este proyecto y por su participación en este estudio en la realización de los ensayos preclínicos.

Al Dr. *Héctor Alfonso Magaña Badilla* por su apoyo en los ensayos experimentales durante mis estudios.

Al personal de laboratorio Linteb, Alumnos y compañeros de trabajo, por sus contribuciones en las diferentes etapas de este proyecto.

ÍNDICE DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABLAS	10
RESUMEN.....	11
I. INTRODUCCIÓN	12
II. MARCO TEÓRICO.....	14
2.1 MUCOSA BUCAL	14
2.1.1 COMPOSICIÓN DEL LÍQUIDO MUCOSO.....	14
2.1.2 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA MUCOSA BUCAL	17
2.1.2 FISIOLOGÍA DE TEJIDOS Y ORGANOS ACCESORIOS.....	22
2.2 MUCOADHESIÓN	26
2.2.1 MUCINAS	27
<i>Codificación genética</i>	28
<i>Propiedades coloidales</i>	29
<i>Propiedades Adhesivas</i>	30
<i>Difusión de macromoléculas</i>	31
2.2.2 TEORÍAS BIOADHESIVAS	32
<i>Teoría de Adsorción</i>	33
<i>Teoría de difusión</i>	33
<i>Teoría de humectación</i>	34
<i>Teoría electrónica</i>	34
<i>Teoría Mecánica</i>	35
<i>Teoría de fractura</i>	35
2.2.3 UNIONES ADHESIVAS.....	36
a) <i>Uniones iónicas</i>	37
b) <i>Uniones covalentes</i>	37
c) <i>Uniones Hidrofóbicas</i>	37
d) <i>Puentes de Hidrógeno</i>	37

e) Puentes disulfuro.....	38
2.2.4 ABSORCIÓN EN LA VÍA BUCAL	38
Factores que afectan la absorción.....	39
2.2.5 SISTEMAS MUCOADHESIVOS DE LIBERACIÓN	40
Tabletas:	42
Parches:.....	43
Filmes:.....	44
Ungüentos y geles:.....	44
2.3 NANOFIBRAS MUCOADHESIVAS	45
2.3.1 ELECTROHILADO	45
Parámetros de la técnica.....	47
2.3.2 LIMITACIONES DE LA VÍA TRANSMUCOSA	50
2.4 BIOCOMPATIBILIDAD	51
2.4.1 ENSAYOS “IN VITRO”	54
2.4.2 ENSAYOS “IN VIVO”	58
III. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	60
3.1 OBJETIVO GENERAL	60
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	60
IV. HIPÓTESIS.....	61
V. METODOLOGÍA.....	62
5.1 MATERIALES.....	62
5.2 PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES	62
5.3 ELECTROHILADO	63
5.4 CULTIVO CELULAR	63
5.5 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD MTT “in vitro”.....	64
5.6 ENSAYO DE PERMEACIÓN “ex vivo”.....	65
5.7 ENSAYO DE ADHESIVIDAD “ex vivo”	65

5.8 ENSAYO DE BIOCOMPATIBILIDAD “ <i>in vivo</i> ”	66
5.9 EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE RESIDENCIA “ <i>in vivo</i> ”	69
VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES	71
6.1 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES	71
6.2 ELECTROHILADO	71
6.3 ENSAYO CITOTOXICIDAD MTT “<i>in vitro</i>”	73
6.4 ENSAYO DE PERMEACIÓN “<i>ex vivo</i>”	76
6.5 ENSAYO DE ADHESIVIDAD “<i>ex vivo</i>”	79
6.6 ENSAYO DE BIOCOMPATIBILIDAD “<i>in vivo</i>”	80
6.7 EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD Y TIEMPO DE RESIDENCIA “<i>in vivo</i>”	83
VII. CONCLUSIONES	87
VIII. REFERENCIAS	89
IX. ANEXOS	100
ANEXO 1. CRONOGRAMA	101
ANEXO 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE	102
ANEXO 3. CUESTIONARIO DE ACEPTABILIDAD DEL PARCHE	104
ANEXO 4. ENSAYO DE PERMEABILIDAD EN MUCOSA PORCINA	105

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la mucosa oral

Figura 2: Representación gráfica de componentes mucínicos

Figura 3. Representación gráfica de la distribución de mucinas en el moco

Figura 4. Mecanismo de difusión de fluidos viscosos

Figura 5. Interpenetración del polímero adhesivo

Figura 6. Representación de la doble capa eléctrica en la teoría electrónica

Figura 7. Interacción entre mucinas y polímero adhesivo

Figura 8. Representación gráfica de las vías de absorción

Figura 9. Diagrama de dispositivo de electrohilado

Figura 10. Variaciones en la formación de nanofibras a través de la técnica de electrohilado

Figura 11. Elongación de cono de Taylor

Figura 12. Guía de selección de ensayos de biocompatibilidad

Figura 13. Proceso de electrohilado a) Electrohilado de la primera capa, b) Sistema mucoadhesivo acoplado

Figura 14. Resultados de ensayo MTT en PBMC

Figura 15. Resultados de ensayo MTT en HFF-1

Figura 16. Permeabilidad de Dexametasona Fosfato en membrana oral porcina

Figura 17. Porcentaje de Dexametasona Fosfato permeada, No permeada y en membrana en el ensayo ex vivo de permeabilidad

Figura 18. Predicción de parámetros arrojados de SwissADME para Dexametasona Fosfato

Figura 19. Diagrama del ensayo de mucoadhesion

Figura 20. Grafica de resultados de propiedades adhesivas

Figura 21. Implantación de sistema mucoadhesivo en hámsteres

Figura 22. cortes histopatológicos teñidos con hematoxilina/eosina

Figura 23. Posicionamiento del sistema mucoadhesivo en la gingiva y degradación del mismo

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Componentes del líquido mucoso

Tabla 2. Variaciones en el epitelio de la mucosa oral

Tabla 3. Contenido lipídico y nivel de permeabilidad de piel y mucosa oral

Tabla 4. Mucinas de la cavidad oral

Tabla 5. Polímeros mucoadhesivos y su potencial de adhesión

Tabla 6. Clasificación sistemática de reacciones orales-evaluación macroscópica

Tabla 7: Sistema de clasificación de examen microscópico

Tabla 8. Grado de irritación del análisis histopatológico

Tabla 9. Criterios de inclusión y exclusión de voluntarios al ensayo

Tabla 10. Condiciones de electrohilado por solución polimérica

Tabla 11. Resultados observados en los cortes histopatológicos

Tabla 12. Resultados del cuestionario de aceptación

RESUMEN

El edema y dolor presente en las lesiones orales, sobre todo en la región mucosal, son un problema común entre los seres humanos, la gravedad y duración de estas lesiones dependen de diferentes factores que van desde tipo de lesión provocada hasta inmunológico. Derivado de esto el uso de sistemas mucoadhesivos de liberación han sido ampliamente estudiados, las nanofibras cargadas creadas con polímeros destacan por sus propiedades adhesivas una característica primordial para esta aplicación. El objetivo del presente proyecto es la producción y evaluación de la efectividad de mucoadhesivos cargados con dexametasona. Por lo tanto, este proyecto tiene como propósito sintetizar mucoadhesivos compuestos por nanofibras obtenidas a través de electrohilado cargadas con dexametasona fosfato (DEX-F) de rápida absorción, para el tratamiento del dolor y edema en lesiones de la mucosa oral. Para lograr esto se incorporará la dexametasona en nanofibras de polivinilpirrolidona (PVP). Se sintetizarán las nanofibras de PVP a través de la técnica de electrohilado, sobre estas se sintetizará nanofibras de policaprolactona (PCL) combinadas adicionadas con policarbofilo (PCF) para aumentar la adhesión a la mucosa en el sitio afectado, se realizará el acoplamiento de la dexametasona en las nanofibras de PVP a través de la técnica de electrohilado. Se evaluará la biocompatibilidad “in vitro” e “in vivo” del sistema fibroso, además de determinar la mucoadhesión “in vitro” y tiempo de residencia en mucosa “in vivo”, adicionalmente se calculará permeación “ex vivo” de las nanofibras de PVP/DEX-F/PCL/PCF. Los resultados del presente estudio se utilizarán para futuras investigaciones, con la finalidad de mejorar el sistema.

I. INTRODUCCIÓN

La vía oral es indiscutiblemente la ruta preferida para la administración de fármacos tanto por los pacientes como de los médicos, esto debido a sus particulares características como la fácil administración, versatilidad en las formulaciones, indoloro en comparación con la vía intramuscular o intravenosa, pero sobre todo por la buena aceptabilidad por parte del paciente (Shinkar, D. M. et al 2012, Sattar, M. et al 2014). Durante las últimas dos décadas, el avance en la formulación de fármacos y la innovación en los sistemas de liberación de los mismos ha incrementado nuestro entendimiento de sobre la liberación de fármacos dentro del organismo humano; este conocimiento da como resultado una mejor adherencia del paciente a su tratamiento y como consecuencia una mejor respuesta del organismo al fármaco administrado (Kumar, S. et al 2013; Jain, KK 2020).

La distribución de fármacos a través de la vía mucosa ofrece una gran cantidad de ventajas, de las que podemos destacar su fácil administración y que es relativamente indolora, es constantemente presentada como una interesante alternativa para uso localizado de fármacos en el tejido mucoso de la cavidad oral. Otra de las ventajas que se puede resaltar es su alta biodisponibilidad y por lo tanto bajo requerimiento en la concentración de la dosis, resultando en una disminución de los efectos secundarios presentados por otras vías de administración (Campisi, 2010; Deepak, A. et al 2018, Grewal H et al. 2012).

Los Sistema de liberación mucoadhesivos producidos a través de la técnica de electrohilado nos proporcionan la oportunidad de controlar la dosis administrada de un fármaco así como la concentración pertinente para cierto padecimiento, esto derivado de las formulaciones poliméricas especialmente del tiempo de degradación del polímero base, aunado a estas ventajas se suma la biodisponibilidad y liberación unidireccional de la droga en el sitio de la lesión gracias al uso de una capa impermeable como paso final del proceso que alarga el contacto entre la mucosa y

la red de fibras del sistema adhesivo (Perez-González et al 2019, Dott, C et al 2013, Mašek J. et al 2017)

En las últimas décadas varios estudios se han llevado a cabo para determinar la eficacia de los sistemas poliméricos en la permeabilidad y tiempo de residencia del fármaco liberado en la mucosa oral (Vijayaraghavan, C. et al 2007, Mackie, A. R. et al 2017). Gracias a las características particulares de la Polivinilpirrolidona (PVP) tales como, disponibilidad, biocompatibilidad, tiempo de degradación y costo, esta es considerada una excelente alternativa en la creación de sistemas de liberación en la mucosa de la cavidad oral, así mismo, la Policaprolactona (PCL) conocida por ser un polímero impermeable, accesible y biocompatible, es repetidamente utilizado como capa de refuerzo en las formulaciones poliméricas, ambas aprobadas por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) (Kim, GM et al 2014; Vacanti, N. M. et al 2012; Li, L. et al 2015).

En años recientes se ha descrito numerosos métodos para evaluar la eficacia y seguridad de los sistemas mucoadhesivos desde métodos in vitro, in vivo y ex vivo, determinando la permeabilidad del fármaco a través de la mucosa, la biocompatibilidad celular, tiempo de residencia, así como ensayos in vivo de irritación o sensibilización (Bassi da Silva, J. et al 2017; Nafee, N. A. 2004; Moydeen, A. M. 2018; Tyagi, C. et al 2014). Nafee, N. en 2003 probo que el tiempo de residencia in vitro es mayor en la realización de los ensayos in vitro que en las pruebas en la mucosa oral, esto es atribuido a la salivación y el habla del paciente durante la realización de la prueba. Por lo tanto, excelentes resultados en los ensayos de bioadhesion no necesariamente son coherentes con el tiempo de residencia en los ensayos con los pacientes.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 MUCOSA BUCAL

La entrada primordial hacia el tracto gastrointestinal en nuestro organismo es la cavidad oral, donde los alimentos o sustancias introducidas a través de esta iniciarán su proceso de degradación a través de la deglución, este proceso inicial de generación de nutrientes es continuamente acompañado con líquido salival, con la finalidad de ser coadyuvante en el procesamiento de los alimentos, además de apoyar en la limpieza de la cavidad oral (Tapash, K. G. 2005).

Aun cuando los nutrientes se absorben fuera de la cavidad oral, su recubrimiento mucoso es altamente vascularizada que le confiere cierta capacidad de adsorber algunas moléculas de bajo peso molecular, como fármacos. Dentro de esta cavidad encontramos la región oral entre las mejillas y los dientes llamada vestíbulo, además de las encías que son crestas de mucosa que recubre la base de los dientes en la parte alveolar del hueso maxilar (Martini, F. H. 2007).

La cavidad bucal es delimitada por el tejido de la mucosa oral, contiene un epitelio escamoso estratificado, dentro de este únicamente las superficies expuestas a la abrasión cuentan con un recubrimiento de células queratinizadas; debido a esto la mucosa oral es considerada una barrera biofísica, protegiendo al epitelio de riesgos bacterianos, físicos o químicos (Martini, F. H. 2007; McGuckin, M. A. 2015).

2.1.1 COMPOSICIÓN DEL LÍQUIDO MUCOSO

El líquido mucoso es una secreción adherente viscosa y translúcida sintetizada por células especializadas llamadas goblet o Caliciformes, las cuales son células unicelulares epiteliales glandulares que delimitan todos los órganos que están expuestos a un ambiente externo al organismo. Desde un punto de vista del

área de la bioingeniería la capa mucosa es un lubricante de base acuosa excepcional, cuyas propiedades son extensivamente exploradas en muchos ámbitos de la investigación. El grosor de la capa mucosa entre los seres humanos se encuentra entre 55 a 440 μm , esto varía entre cada especie (Bansil R, Turner BS. 2006; Andrews GP et al 2009).

La capa mucosa la encontramos en el tracto respiratorio, gastrointestinal, reproductivo e incluso en el recubrimiento de ojos, nariz y oídos. La mucosa está compuesta primordialmente por agua, y minoritariamente por diferentes moléculas como proteínas específicas de alto peso molecular, lípidos y algunos mucopolisacáridos que son la menos proporción de esta. Las especificaciones de su composición están descritas en la tabla 1 (Shinkar, D. M. 2013; Silverthorn, D. U. 2008; McGuckin, M. A. 2015).

Componente	% de composición
Agua	95%
Glucoproteínas y lípidos	0.5 a 5%
Sales minerales	1%
Proteínas libres	0.5 a 1%

Tabla 1. Componentes del líquido mucoso

Dentro de los mucopolisacáridos encontramos a las glucoproteínas, proteínas de alto peso molecular ensambladas con oligopolisacáridos como:

- L-fructosa
- D-galactosa
- N-acetil-D-glucosamina
- N-acetil-D-galactosamina
- Ácido siálico

(Shinkar, D. M. 2013).

Gracias a que la consistencia de esta capa viscosa es en esencia agua, representa un excelente nivel de hidratación de esta capa, vital para el funcionamiento correcto de sus propiedades reológicas y biofísicas, de esta manera su respectiva función. Aunque la capa mucosa es considerada como una capa protectora no es definida como impermeable, esto debido a que permite el paso de algunas moléculas de gran tamaño y pequeñas partículas a través de él, sin embargo, si estas moléculas se encuentran unidas a otros componentes de tipo macromoleculares no es permitido su paso a través de esta capa (Laffleur F. 2014).

Esta capa protectora formada por una entreverada red de mucinas se caracteriza por ser ultrasensible a los cambios físicos del medio externo al que está expuesto, como ejemplo, el cambio en el ambiente iónico produce alteraciones en las propiedades biofísicas y como resultado en las funciones de la capa de moco como la hidratación, evitar la entrada de patógenos o sustancias nocivas para la salud, así como el intercambio de gases entre el epitelio y el medio exterior (McGuckin, M. A. 2015).

Las funciones principales del moco son:

- *Protectora*: por su hidrofobicidad.
- *Barrera*: gracias a su rol sobre la absorción en los tejidos de fármacos y otras sustancias, así como su influencia en la biodisponibilidad.
- *Adhesión*: esta sustancia viscosa ejerce fuerzas adhesivas de cohesión y produciendo fuertes uniones en la superficie de las células de goblet a manera de capa adhesiva.
- *Lubricación*: mantener la membrana epitelial lubricada es la principal función de la capa mucosa.

La producción sin cesar del líquido mucoso por parte de las células calciformes es requerida continuamente, ya que la capa de moco se va eliminando de manera intermitente gracias a la digestión, solubilización de mucinas y degradación

bacteriana. La red de mucinas a un pH fisiológico se encuentra cargada negativamente gracias a la presencia de ácido siálico y algunos residuos de sulfato, lo que le confiere las propiedades de bioadhesión que la caracteriza (Shinkar, D. M. 2013).

2.1.2 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DE LA MUCOSA BUCAL

De manera general la membrana mucosa tiene un amplio rango de estructuras epiteliales dentro de la cavidad bucal en contraste con otros tejidos en el organismo humano. Las características biofísicas y biomecánicas varían de gran manera entre cada sitio reflejando diferencias entre las propiedades de estas barreras. Gracias a la tecnología de hoy en día se pueden diferenciar diferentes patrones de maduración en el epitelio de la mucosa en la cavidad oral (Chen YS et al 2004).

Dentro de la mucosa oral se pueden observar tres diferentes capas del epitelio oral, que delimita la cavidad oral, la membrana basal que da soporte celular y finalmente el tejido conectivo. Las células epiteliales que tienen origen en las células basales, maduran y cambian de forma, incrementando su tamaño mientras se trasladan hacia la superficie mucosa. El epitelio oral en humanos, perros y conejos tiene un grosor entre 500 – 800 μm . El tiempo de renovación de epitelio es usualmente considerado entre 5 y 6 días (Shaikh R et al 2011; Shinkar et al 2013).

Este tejido epitelial es conectado por una matriz extracelular fibrosa que contiene una gran cantidad de proteínas de grosor entre 1 a 2 μm llamada membrana basal (Figura 2) (Campisi, G. 2010; Tapash, K. G. 2005).

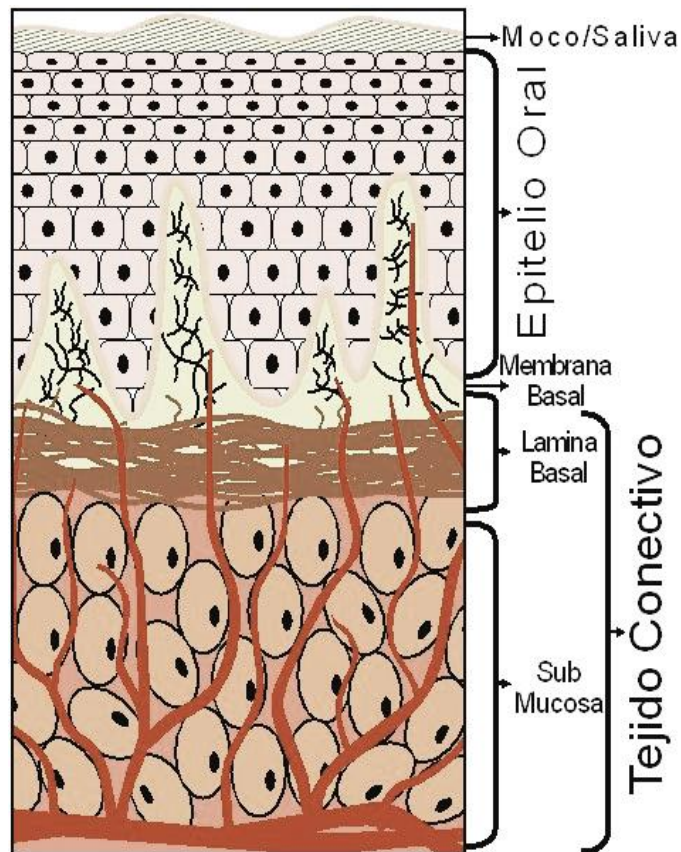


Figura 1. Estructura de la mucosa oral

El grosor y características del epitelio varía según su locación en la región bucal, la gingiva y el paladar duro que son sometidas a estrés mecánico, tienen epitelio queratinizado, por otra parte, el paladar blando y la mucosa debajo de la lengua son no-queratinizado. Cada región recubre un porcentaje distinto de la mucosa bucal, por ejemplo, la mucosa masticatoria representa el 25% del total de la superficie esto incluyendo la gingiva y el paladar duro, la mucosa delimitante cubre el 60%, mientras que la mucosa especializada tiene el 15% de recubrimiento total de la cavidad bucal, la cual va desde el dorso de la lengua donde se lleva a cabo la detección de sabores. Cada región varía dependiendo del área en grosor de 500 μm a 800 μm (tabla 2) (Tapash, K. G. 2005; Rathbone, M. J. 2015; Rossi, S. 2005).

Dentro de los componentes destacados del epitelio oral en todas sus regiones es la localización de ciertas proteínas de peso molecular entre 40 y 70 kDa, denominadas tonofilamentos

Tejido	Queratinizado	Grosor (μm)	Permeabilidad
Mejilla	No	500 – 600	+
Sublingual	No	100 -200	++
Gingival	Si	200	-
Paladar	Si	250	-

Tabla 2. Variaciones en el epitelio de la mucosa oral
(Campisi, G. 2010)

Una de las características particulares de las células epiteliales es su consistencia rica en uniones entre carbohidratos y proteínas, lo que le confiere una alta adhesión entre una célula, además de una variada presencia de uniones intercelulares o comunicantes (Campisi, G. 2010).

La variabilidad en la permeabilidad característica de las regiones del epitelio es primordialmente gracias a la presencia de gránulos recubiertos de membrana (MCGs), con un diámetro promedio entre 100 a 300 nm, su consistencia es rica en lípidos que comparten al fusionarse con otras células de la membrana, debido a estas moléculas es su variabilidad en la permeación. En la tabla 3 se muestra el contenido lipídico dependiendo de la región de la mucosa oral, así como la diferencia en la permeabilidad gracias a variabilidad de las moléculas lipídica (Tapash, K. G. 2005; Rossi, S. 2005).

Lípidos	Gingiva	Paladar	Piso de la boca	Mucosa bucal
Lípidos totales	55.7	65.5	116.0	94.3
Triglicéridos	16.9 ^a	15.9 ^a	11.1 ^a	15.7 ^a

Fosfolípidos totales	27.0	30.5	57.6	42.7
Colesterol total	14.1	26.2	25.4	15.1
Sulfatos de colesterol	3.0	1.3	4.2	8.8
Ceramidas totales	4.8	2.7	1.0	0.9
Glicosilceramidas	0.0	0.0	7.5	18.4
Permeabilidad de agua^b	365	412	634	808
Permeabilidad después de la extracción lipídica	0.0	0.0	0.0	2241

^a Expresado como porcentaje en peso de lípidos

^b $K_p \cdot 10^{-7}$ cm/min

Tabla 3. Contenido lipídico y nivel de permeabilidad de piel y mucosa oral (Campisi, G. 2010).

La membrana basal se localiza entre el epitelio y el tejido conectivo formando una capa adhesiva entre ellas, además de funcionar como soporte para el epitelio mucoso apoyando en las propiedades mecánicas de la mucosa oral. Esta propiedad mecánica es proporcionada por la *lámina propia* (capa delgada y densa de colágeno asociada con fibroblastos, fibras elásticas, tejido linfático, capilares y receptores sensoriales) la cual también ayuda a transportar la sangre a los vasos sanguíneos y nervios (Pather SI et al 2008, Shinkar DM et al 2013).

El tejido conectivo es una red de fibras de colágeno, cuya principal función es proveer estabilidad mecánica, resistencia de deformación y elasticidad al tejido. La mayor parte del tejido conectivo y la membrana basal, no se considera poseer gran influencia en la difusión de muchos de los compuestos utilizados como fármacos a nivel localizado, más sin embargo estas regiones de la mucosa son las causantes de las limitaciones de ciertas macromoléculas de peso molecular elevado y otros complejos. El drenaje vascular debajo de estas estructuras es un punto de interés elevado desde el punto de vista de la liberación de fármacos, sobre todo para muchos de ellos que quieren evitar el metabolismo hepático (Rathbone, M. J. 2015; Tapash, K. G. 2005; Rossi, S. 2005).

La submucosa es una variable del tejido conectivo de considerable distensibilidad que sirve como unión entre las estructuras inferiores en la mucosa, además de proveer una red de estructuras neurales y vasculares alimentando así la absorción fina de las partículas. La mayor parte de las glándulas salivales, así como una variable concentración de tejido adiposo se encuentra aquí (Torello, M. L. 2012).

El abundante suministro de sangre arterial hacia la mucosa oral es derivado de la arteria carótida. La arteria bucal, algunas ramas terminales de la arteria facial, la arteria posterior alveolar, así como la arteria infraorbital son la mayor fuente de suministro de sangre en el límite de la mejilla en la cavidad oral. debido a este drenaje directo a la circulación por medio de la vena yugular, las sustancias a través de esta son más rápida que otras vías de absorción (Salamat-Miller, N. 2005; Morales J. O. 2014).

Las glándulas salivales en la cavidad oral son las más exclusivas de las glándulas túbulo-salivales del tipo merocrino. Estas están clasificadas de acuerdo a su tamaño de mayor a menor, así como por su ubicación o tipo de células que lo componen ya sean cerosas, mucinares o secretorias entre otras.

Las glándulas salivales están compuestas de un sistema de ductos una porción acinar terminal. Las células acinares abarcan un pequeño lumen el cual drena su contenido hacia el sistema de ductos. Las células mucosas, así como las células cerosas, solas o combinadas, forman la estructura acinar de las glándulas. Las células glandulares están rodeadas por células de forma estrellada (células basales o de canasta) las cuales se creen que actúan como células de musculo blando apoyando en la expulsión del contenido glandular, son llamadas células mioepiteliales (Torello M. L. 2012; Martini, F. H. 2007).

2.1.2 FISIOLÓGÍA DE TEJIDOS Y ORGANOS ACCESORIOS

La superficie mucosa posee una cubierta humectante de saliva de alrededor de 70 μm , este fluido es el principal componente encargado de preservación y mantenimiento de los tejidos en la cavidad oral, el cual contiene la flora oral, residuos de alimento, células epiteliales y residuos de medicamentos y productos químicos.

La saliva es una secreción exocrina mucoserosa clara y ligeramente acidificada. El fluido en si cuando se refiere a su totalidad implica una mezcla de 3 Principales glándulas: glándula parótida la cual está localizada en dirección opuesta a los primeros molares del maxilar, glándula submandibular y la glándula sublingual, estas últimas las encontramos en el piso de la boca, además de una serie de glándulas secundarias de entre las cuales podemos mencionar las que encontramos en los labios inferiores, paladar, mejillas y faríngea. A pesar de catalogarlas como glándulas secundarias debido a su contribución menor al volumen total de la saliva, el cual varía de 1 a 1.5 litros al día, son consideradas de gran importancia debido a los componentes protectores que estas poseen (Del-Vigna A. P. 2008, Humphrey S.P. 2001; Sudhakar, Y. 2006).

Los tipos de células encontradas en las glándulas salivales podemos dividirlos en tres tipos: Acinares, mioepiteliales y Células de sistema ductivo. Las células acinares son el principal productor de secreciones, las cuales pueden ser serosas, mucosas y mixtas; su producción varía dependiendo de la glándula donde se produce. (tabla 4)

Las células del sistema ductivo están clasificadas como intercaladas, estriadas y excretorias. Las células intercaladas son las encargadas de conectar las células acinares secretoras con el resto de la glándula. Las células estriadas funcionan como sistema de regulación electrolítica en la reabsorción de sodio. Por otra parte, las células excretoras son encargadas de continuar con la resorción de

sodio y la excreción de potasio, estas últimas son la última parte del sistema dúctil que recorre la saliva antes de alcanzar la cavidad oral.

Las células mioepiteliales caracterizadas por su forma alargada se encuentran alrededor de las células acinares, su principal función es la de contraerse tras un estímulo neural para la liberación de saliva hacia la cavidad oral (Del-Vigna A. P. 2008, Humphrey S.P. 2001).

La saliva está compuesta en su mayoría por agua aproximadamente 99%, así como electrolitos, dentro de los cuales podemos mencionar: sodio, potasio, calcio, magnesio, iones bicarbonato y fosfatos. Además, se compone por otras macromoléculas dentro de las cuales podemos mencionar: proteínas, glicoproteínas, enzimas, inmunoglobulinas, mucinas y productos nitrogenados tales como la urea, tiocianatos y amoniaco. Cada una de ellas con diferente función. Bicarbonatos, fosfatos y urea actúan en el mecanismo homeostático relacionado al pH y a la capacidad amortiguadora de la saliva; las macromoléculas como las proteínas y mucinas funcionan como sistema de limpieza, agregación y unión de microorganismos, así como a la contribución del metabolismo de la placa dentobacteriana; el calcio, proteínas y iones fosfatos actúan como un factor antisolutivo y mantienen el equilibrio entre la desmineralización y remineralización; por otro lado las inmunoglobulinas, enzimas y algunas proteínas se encargan de la función antibacterial.

Dentro de las enzimas podemos destacar a α -amilasa, encargada de la disolución de enlaces 1-4-glicosídicos; así como a las lisoenzimas y las peroxidasas, cuya función protectora es digerir las paredes celulares bacterianas; por otra parte, la lipasa lingual, cuya actividad principal es la de digerir las grasas. La inmunoglobulina A interviene con la adhesión de microorganismos al tejido huésped (Del-Vigna A.P. 2008, Humphrey S.P. 2001; Sudhakar, Y. 2006).

El pH de la saliva varía normalmente entre 5.6 y 7, lo cual implica una ligera acidez. El pH depende del flujo al que se encuentra en ese momento oscilando de 5.3 en flujo bajo y 7.8 en flujo elevado. El pH se eleva ligeramente después de ingerir la mayoría de los alimentos por alrededor de 5 minutos, para después caer a su nivel más bajo aproximadamente 15 minutos después del inicio de la masticación. Aunque se presentan residuos de carbohidratos potencialmente fermentables, el pH regresa siempre a su estado basal (Del-Vigna A.P. 2008, Humphrey S.P. 2001).

Hay una gran variabilidad en el flujo salival entre cada individuo, más sin embargo se maneja un rango de flujo el cual puede considerarse normal para el flujo de saliva en un estado no estimulado mayor a 0.1 mL/min, y para el flujo de saliva en estado de estimulación el volumen mínimo aceptado es de 0.2 ml/min. Cualquier persona con un flujo salival por debajo de 0.1 ml/min es considerado un problema de hipo-funcionamiento. Las funciones salivales durante las etapas del sueño son casi nulas.

La secreción de saliva es controlada en el cerebro tanto por sistema nervioso central simpático como el parasimpático, más posee activadores específicos para su secreción; tres de estos estímulos en la producción de saliva son de tipo mecánico tales como: el acto de la masticación; por otro lado, encontramos también como activador a la degustación, que con compuestos ácidos se activa más intensamente que con alimentos tipo dulce; así también se involucra el olfato, el cual es el menor de los estimulantes.

Otros factores que afectan la secreción se encuentran clasificados como factores físicos, tales como: dolor, algunos fármacos, enfermedades sistémicas o localizadas que afecten de algún modo el funcionamiento de las glándulas salivales. El flujo total de saliva diario varía entre 0.5 a 1.5 litros (Del-Vigna A.P. 2008, Humphrey S.P. 2001).

Las funciones de la saliva pueden ser organizadas en 5 categorías que funcionan unánimemente para mantener la salud oral y crear un balance, estos son:

- Lubricación y protección
- Función amortiguadora y de limpieza
- Mantenimiento de la integridad dental
- Actividad antibacterial
- Gusto y digestión

Debido a que es considerado un componente seroso, la saliva lubrica y protege los tejidos dentro de la cavidad oral, actuando como barrera ante agentes irritantes, tales como, enzimas proteolíticas e hidrolíticas producidas por la placa dentobacteriana, compuestos potencialmente carcinogénicos derivados del hábito de fumar o de químicos exógenos, y así como de la deshidratación producida por la respiración a través de la boca (Del-Vigna A.P. 2008, Humphrey S.P. 2001).

Los mejores compuestos lubricantes presentes en la saliva son las mucinas, las cuales son excretadas en las glándulas salivarias menores.

La función homeostática de control de pH en la cavidad oral, así como la de eliminación en general está determinada por ciertos componentes químicos presentes en la saliva donde el más abundante indiscutiblemente es el agua con un porcentaje de composición del 99%, mientras que el 1% restante está constituido de iones como el bicarbonato y fosfato, así como macromoléculas como algunas proteínas y enzimas. De todos los compuestos químicos presentes el más importante es el ion bicarbonato debido a su participación en el sistema amortiguador de pH, esto lo hace difundirse entre la placa y actuando como amortiguador por medio de la neutralización de ácidos debido a la formación de aminas a partir de iones amonio.

Una gran parte de la capacidad amortiguadora de la saliva se atribuye a péptidos ricos en histidina de bajo peso molecular; la urea por su parte es otro amortiguador presente en la saliva, su función es la de generar iones amonio después de ser metabolizada por la placa y así elevar el pH de la misma. Esta capacidad amortiguadora por parte de la saliva resulta ser más eficiente cuando el grado de flujo salival es elevado mientras que en flujo relativamente bajos es ineficiente, aquí entran en acción los fosfatos importantes amortiguadores en flujo disminuidos (Del-Vigna A.P. et al. 2008, Humphrey S.P. et al. 2001).

2.2 MUCOADHESIÓN

El termino de adhesión ha sido consecutivamente estudiado durante las últimas décadas, esto gracias a que representa un papel de gran importancia en la naturaleza a manera de diferentes implicaciones en la salud como: la adhesión bacteriana que resulta en el perfeccionamiento de los procesos implicados en el desarrollo de algunos dispositivos médicos para combatir procesos infecciosos. Por otra parte, la adhesión también interfiere con áreas no biomédicas como en la purificación del agua a través del biformes y el crecimiento bacteriano a nivel industrial gracias a las biopelículas poliméricas que actúan como nutrientes (Shinkar, D. M. et al. 2013; Salamant-miller, N. et al. 2005).

La adhesión como un proceso es definido como la fijación de dos superficies en este caso membranas que se enlazan entre sí. Existe una gran variedad de términos aplicables a la adhesión en diferentes ámbitos dependiendo del ambiente donde el proceso se lleva a cabo la adhesión; cuando la adhesión se da en un ambiente biológico se denomina “bioadhesion”, mientras que si este proceso se da en la membrana mucosa comúnmente se utiliza el término “mucoadhesion”. La bioadhesion se podría definir como la una capa biológica con un polímero natural o sintético. Mientras que el termino mucoadhesion, cuando esta capa biológica es la mucosa, ha sido ampliamente utilizado para referirse a una forma de lograr la

administración de fármacos en sitios específicos mediante la incorporación de polímeros adhesivos hidrofóbicos incluidos en las formulaciones farmacéuticas (Woodley J 2011, Dott, C et al 2013).

Molecularmente hablando las interacciones adhesivas entre estas dos superficies se pueden clasificarlas como:

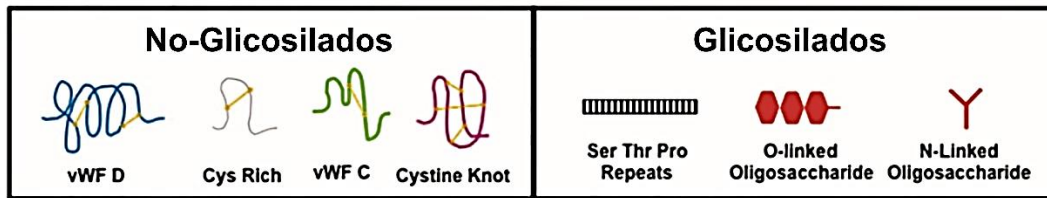
- Tipo 1: adhesión entre dos fases biológicas, como la unión entre la agregación plaquetaria y el tejido de una herida.
- Tipo 2: adhesión de una fase biológica y un sustrato artificial, como la que se da entre un cultivo celular y las placas de cultivo que forman un biofilme.
- Tipo 3: adhesión de un material artificial a un sustrato biológico, por ejemplo, hidrogeles sintéticos a tejido blando como selladores utilizados en odontología unidos al esmalte dental (Chaturvedi M et al. 2011; Shaik, R. et al. 2005).

2.2.1 MUCINAS

Entre los compuestos que conforman la mucosa oral existen glicoproteínas extracelulares de gran tamaño llamadas *Mucinas*, estas excepcionales moléculas varían poseen un peso molecular entre 0.5 y 20 Mda. Existen varios tipos dentro de los que encontramos mucinas secretadas y mucinas unidas a membranas, las cuales comparten algunas características, como ejemplo, ambas poseen alto grado de glicosilación y contienen un 80 % de carbohidratos, primordialmente N-acetilgalactosamina, N-acetilglucosamina, fructosa, galactosa y ácido N-acetilneuramínico. Las cadenas poliméricas de las mucinas están formadas por 5 a 15 monómeros de estos azúcares, unidas a un núcleo proteico por enlaces O-glucosídicos a manera de "escobetilla" (McGuckin, M. M. et al 2015; Patel, M. M. et al 2003; Bansil R. et al 2006).

El 20% de la masa molecular es debido al núcleo proteico, el cual oscila entre los 200 a los 500 KDa. Cada mucina está dividida en diferentes regiones, primero una región glicosilada compuesta de un gran número de monómeros aleatorios ricos en serina, treonina y prolina (región STP), posteriormente en las terminales amino y carboxilo encontramos regiones con composiciones amínicas más representativas de proteínas globulares que en ocasiones también se observan entre las regiones STP. Estas regiones con un contenido de cisteína de al menos un 10% contienen dominios similares al factor de Von Willebrand, una proteína sanguínea que interviene en la hemostasia, así como dominios D y dominios de nudo formados por cistina C-terminal, caracterizados por intervenir en la dimerización a través de la formación de enlaces disulfuro (Bansil R. et al 2018; Sun X. et al 2021).

Dominios Mucínicos



Monómeros Mucínicos

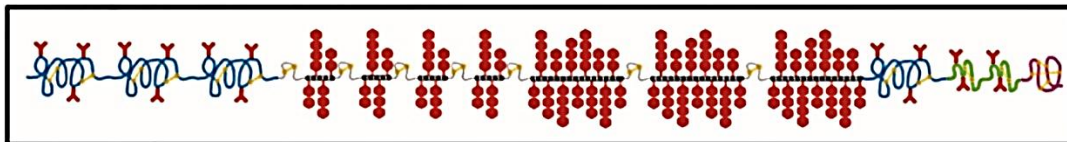


Figura 2. Representación gráfica de componentes mucínicos

Codificación genética

Actualmente existen diferentes tipos de mucinas las cuales varían en estructura y por lo tanto en función, estas subclasificaciones se deben principalmente al gen que las codifica. En los últimos años se han identificado 19 genes que codifican para una mucina en el ser humano, algunos homólogos a estos han sido encontrados en ratas y ratones. Solo tres del total de genes mucínicos (MUC 1, MUC 2 y MUC5B) han sido totalmente secuenciados, esto debido al gran tamaño de la cadena por las repeticiones

monoméricas. Muchas de las mucinas más pequeñas unidas a la membrana unidas a la membrana no se consideran mucinas "verdaderas", ya que solo comparten las repeticiones STP y la glicosilación con otras mucinas. Las secuencias de las regiones STP son únicas para cada mucina de cada especie, aunque comparten regiones similares, incluso dentro de la misma especie las regiones STP pueden variar dependiendo del lugar donde se encuentran localizadas. Las más importantes para la cavidad oral se muestran en la tabla 5 (Ma, J. et al. 2017; Melhem H. et al 2021).

Mucina	tipo	Gen codificador
<i>MUC₁</i>	Superficie celular	1q21
<i>MUC₄</i>	Superficie celular	3q29
<i>MUC_{5B}</i>	Formadoras de gel	11p15.5
<i>MUC₇</i>	No formadoras de gel	4q13-q21
<i>MUC₈</i>	Presente en moco*	12q24.33
<i>MUC₁₆</i>	Superficie celular	19q13.2
<i>MUC₁₉</i>	Formadoras de gel	12q12

* la secuencia genómica no está completa.

Tabla 4. Mucinas de la cavidad oral

Propiedades coloidales

Una de las propiedades características de las mucinas es su predisposición a formar geles gracias a su agregación. Después de varios estudios realizados a través de los años probó que la matriz de la textura tipo gel de la mucosa es fomentada por las interacciones transitorias, así como las no transitorias. La formación del gel en la mucosa de la cavidad oral se da a concentraciones mucínicas por encima de los 14 mg/mL. Al realizar varias pruebas sobre esta peculiar textura se demostró que la gelificación en estas fracciones de alto peso molecular implica la interpenetración de los carbohidratos de cadenas laterales de las mucinas. La viscosidad del gel de

mucinas depende del lugar donde se forme, es decir a lo largo del tracto respiratorio, tracto gastro-intestinal, tracto vaginal o cavidad oral, más sin embargo lo que queda claro es que a menos pH la viscosidad de esta estructura mucínica incrementa, además que la concentración de mucinas para la formación del gel disminuye conforme disminuye el pH, gracias a que se incrementa la hidrofobicidad del núcleo proteico (Melhem H. et al 2021; Bonser LR. Et al 2019).

Las mucinas MUC₅ y MUC₂ son las principales responsables de estas propiedades gelatinizantes, por otro lado, el comportamiento viscoelástico de las mucinas depende de otros parámetros además del pH y la concentración, como ejemplo, la viscosidad se ve fuertemente influenciada por pequeñas moléculas como la nicotina y algunos fármacos de bajo peso molecular, así como bacterias, virus y algunos micronutrientes que entran a través de la masticación (Linden SK. Et al 2008; Byrd JC. et al. 2004).

Propiedades Adhesivas

La red de mucinas que recubre la mucosa posee propiedades adhesivas a diferentes sustratos gracias a las interacciones moleculares entre estos. Su característica capa de polisacáridos puede unirse con cierta fuerza tanto a superficies cargadas como neutrales, por medio de enlaces no covalentes e interacciones electrostáticas. Por otra parte, estas moléculas presentan además uniones hidrofóbicas relacionadas a regiones no glicosiladas de los péptidos (Petrou H. et al 2018; Corfield AP. et al. 2015).

Gracias a todas estas interacciones las mucinas son ampliamente conocidas por su firme adherencia llamada mucoadhesividad, pero también puede ser moléculas antiadherentes, por ejemplo, a los sustratos cargados negativamente, esto se puede deber a la repulsión de carga poli-electrolítica, además del contenido de agua del sustrato y su contenido lipídico (Yu T. et al 2014, Ma J et al. 2017).

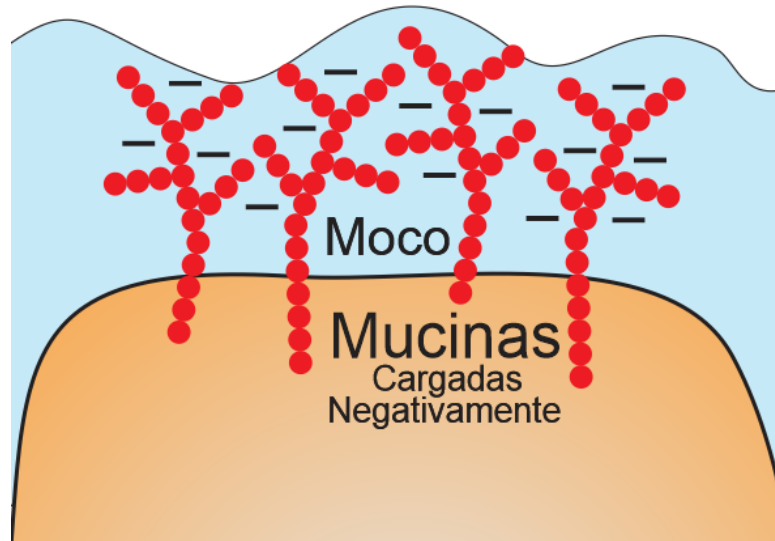


Figura 3. Representación gráfica de la distribución de mucinas en el moco

Difusión de macromoléculas

Debido a múltiples factores referentes a la administración de fármacos, el control de la mucoadhesión y propiedades adhesivas de las mucinas es de gran interés en muchos ámbitos, esto debido a la importante influencia que ejerce sobre el transporte a través de la mucosa hacia las capas más internas de la cavidad oral. Mientras que las moléculas de bajo peso molecular se difunden rápidamente entre la red mucínica y el moco, las partículas de mayor tamaño se filtran dependiendo tanto de su tamaño como de sus interacciones mucoadhesivas. Esto no solo aplica para moléculas como nutrientes o sales, sino también para seres patógenos como ejemplo los virus que varían en tamaño entre 20 y 200 nm pasan con gran facilidad a través de la red mucínica, mientras que el virus del Herpes simple siendo un virus muy complejo en estructura es atrapado en la mucosa oral (Dhanisha SS. et al 2017; Bonser LR. Et al 2019).

Por último, es interesante mencionar que el transporte de agua y algunos fluidos a través de la capa mucosa es un problema de dinámica de fluidos, debido a la alta viscosidad del tejido mucoso y red mucínica, los fluidos que entran a un gradiente de presión hacia la cavidad oral no se difunden de

forma simple, sino que son transportados por un mecanismo de digitación viscoso, que es el desplazamiento inestable de un fluido más viscoso por un fluido menos viscoso, un suceso interesante es que la carga negativa de la red mucínica dentro del moco evita que el proceso se invierta (Islam T. et al 2017; Bansil R. et al 2006).

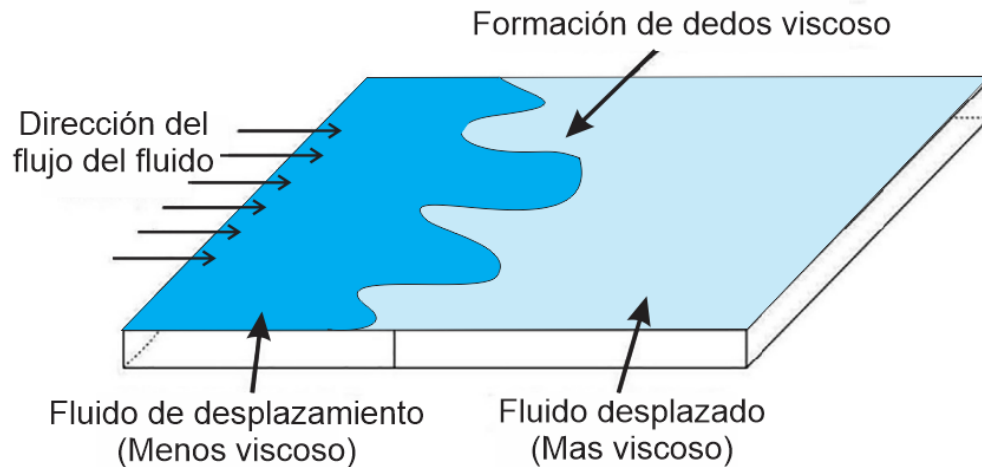


Figura 4. Mecanismo de difusión de fluidos viscosos

2.2.2 TEORÍAS BIOADHESIVAS

La mucoadhesión o bioadhesión se considera un fenómeno bastante complejo que aún se encuentra en proceso de ser entendido en su totalidad, por lo tanto, el mecanismo a través del cual los polímeros son adheridos a las superficies mucosas aun no es completamente entendidos. Sin embargo, existen diferentes y variadas teorías de la mecánica del proceso (Shinkar, D. 2013; Sudhakar, Y. 2006).

Debido a que aún son desconocidos los requerimientos para una mucoadhesión exitosa se han desarrollado varias teorías que detallan cuales podrían ser las interacciones que se dan entre la mucosa oral y el material bioadhesivo.

Teoría de Adsorción

De acuerdo con esta teoría, después del contacto inicial entre la superficie mucosa y la matriz bioadhesiva, el material se adhiere debido a las fuerzas de atracción que existe entre los átomos de ambas superficies. Dentro de estas interacciones se dan 2 tipos de uniones como los puentes de hidrogeno y las fuerzas de Van der Waals. Las propiedades hidrofóbicas del material bioadhesivo juegan también un papel importante en el proceso de mucoadhesion, siempre y cuando el polímero tenga naturaleza anfifílica, es decir que poseen un extremo hidrofílico (soluble en agua) y un extremo hidrofóbico (insoluble en agua). Por otra parte, esta teoría también considera la posibilidad de quimisorción, esto cuando se forman uniones de tipo covalente entre el polímero mucoadhesivo y las mucinas.

Teoría de difusión

Las bases de la teoría de difusión es la interpenetración entre las cadenas mucínicas de la mucosa oral y las cadenas poliméricas del sustrato adhesivo. Después de darse el contacto inicial entre el sustrato adhesivo y la capa mucosa, las cadenas poliméricas penetran entre la red de mucinas creando una capa enredada adhesiva. Algunos de los factores que afectan este proceso son: la flexibilidad de los monómeros que componen el polímero, el área de la superficie de contacto de ambas partes, la similaridad en la estructura química, así como el coeficiente de difusión del polímero bioadhesivo. El proceso de interpenetración es impulsado por el gradiente de concentración y peso molecular del polímero utilizado, además del tiempo de contacto entre ambas superficies. Se considera que para obtener una buena adhesión el polímero utilizado debe alcanzar una interpenetración en la capa mucosa de 0.2 a 0.5 μm . Un factor importante a considerar en la mucoadhesion es la solubilidad del polímero, ya que existe una mayor unión bioadhesiva cuando la solubilidad del polímero es similar a la de la capa mucosa.

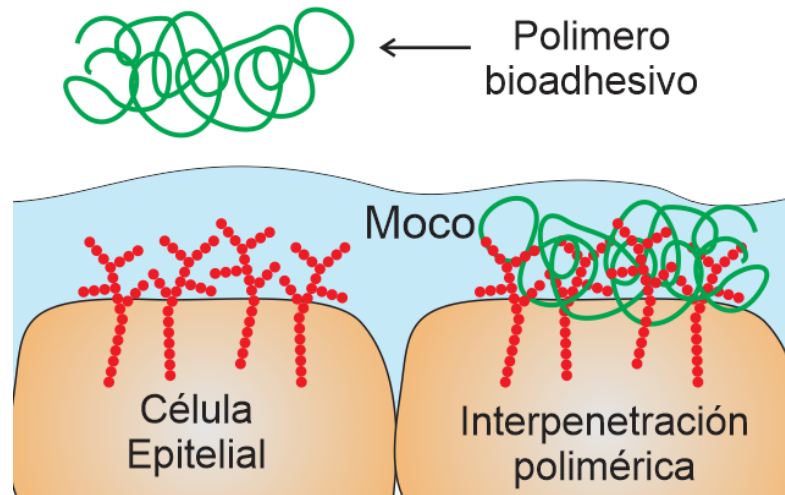


Figura 5. Interpenetración del polímero adhesivo

Teoría de humectación

Esta teoría describe la habilidad que posee el polímero adhesivo para esparcirse sobre una superficie biológica, mayoritariamente aplicado a los líquidos o a bioadhesivos de baja viscosidad, utilizando la *tensión interfacial* (energía de Gibbs por unidad de área de interfaz a temperatura y presión constante) para predecir la propagación del polímero y, a su vez, la adhesión. De acuerdo con esta teoría cuando el componente adhesivo entra en contacto con la mucosa penetra entre las rugosidades de la superficie, se endurece adhiriéndose a la superficie gracias a cambios producidos en la superficie y energía interfacial. El ángulo de contacto es uno de los parámetros decisivos en la calidad de la adhesión entre el adhesivo y la superficie mucosa, entre más bajo sea el ángulo de contacto mejor será el grado de adhesión.

Teoría electrónica

La hipótesis de la teoría electrónica está basada en que el material adhesivo y la red de glicoproteínas presentes en el tejido mucoso poseen estructuras electrónicas diferentes, por lo tanto, diferentes propiedades electrónicas lo que permite el fenómeno de la adhesión gracias a la transferencia de

electrones. El resultado de esta interacción es la formación de una doble capa eléctrica y la resultante atracción electrostática que se produce entre superficies cargadas de manera opuesta.

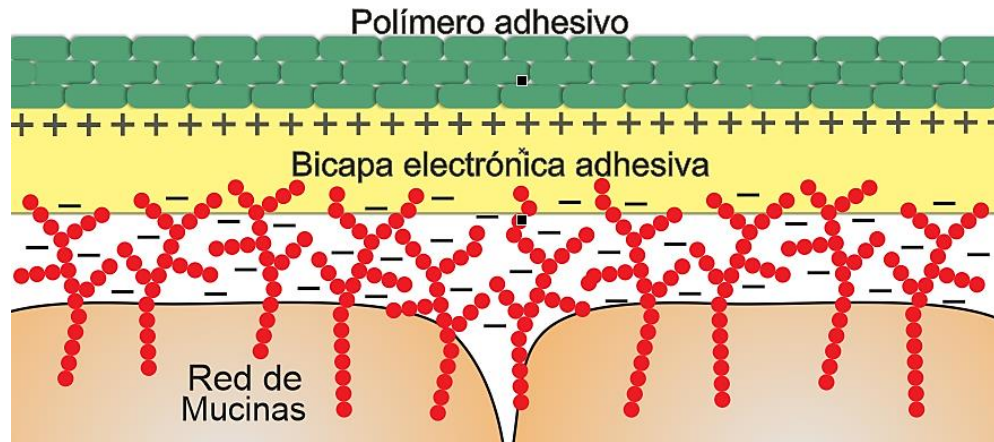


Figura 6. Representación de la doble capa eléctrica de la teoría electrónica

Teoría Mecánica

Toma en consideración el efecto positivo de una superficie rugosa sobre el mecanismo de adhesión, esto se debe a un incremento en el área del contacto y por consecuencia el número de interacciones que se da entre ambas superficies. La teoría es mayormente aplicable a superficies rugosas y materiales porosos.

Teoría de fractura

La teoría relaciona la fuerza requerida para separar un material adhesivo de una superficie mucosa y la separación de las uniones adhesivas existentes. La teoría establece que la fuerza requerida para la fractura es mejor cuando las fibras de la red polimérica son más largas o cuando el grado de entrecruzamiento entre ellas es menor.

A través de esta teoría se permite el cálculo teórico de la fuerza de fractura o fuerza de desprendimiento de un polímero adhesivo (σ) a través del módulo de elasticidad de Young's que relaciona la elasticidad (E), la energía de

fractura (ϵ) y la longitud crítica de fisura (L), cuya ecuación se representa de la siguiente manera:

$$\sigma = \sqrt{(E*\epsilon) / L}$$

(Schattling P. et al 2017; Boddupalli B. et al 2010; Khutoryanskiy VV. Et al 2011).

2.2.3 UNIONES ADHESIVAS

Entre la red mucínica que compone la mucosa oral y la superficie presentada se encuentran diferentes tipos de interacciones que agilizan el proceso de mucoadhesión. Estas interacciones o fuerzas adhesivas son el factor determinante en el tiempo de residencia del sustrato y la fuerza con la que este es adherido (Smart JD. Et al 2005; Singh, R. 2017).

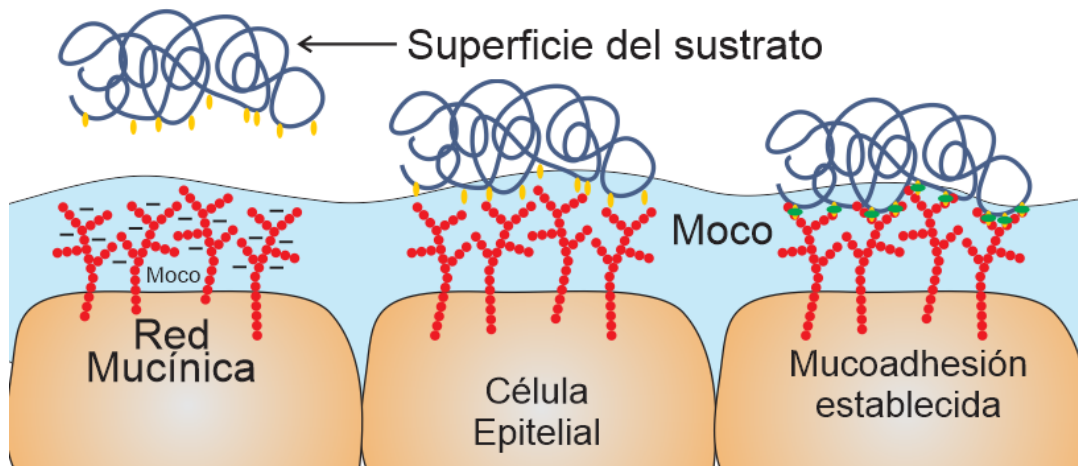


Figura 7. Interacción entre mucinas y polímeros adhesivos

Entre las interacciones mencionadas encontramos las de tipo físico o mecánico, las cuales se refieren simplemente a la interpenetración que posee el material entre la red mucínica, gracias a esto entre más fibroso sea el sistema más interpenetración se presenta y por lo tanto mayor capacidad de mucoadhesión. Además de las interacciones físicas para que ocurra la adhesión, las moléculas o

sustratos deben unirse de manera química a lo largo de la malla de polisacáridos que conforman la mucosa oral (Shinkar, D. M. 2013; Rodríguez, I. 2000).

Los enlaces químicos que se pueden presentar son los siguientes:

a) Uniones iónicas

Este tipo de fuerzas o uniones se da entre dos iones cargados opuestamente, una vez que la distancia entre estos es suficientemente pequeña estos se atraen de manera electrostática para formar un vínculo fuerte y más duradero. Las interacciones que se crean a través de interacciones del tipo de Van der Waals, disminuyen conforme la distancia entre ellos se hace más grande.

b) Uniones covalentes

estos enlaces se dan gracias a que dos átomos comparten dos electrones en pares, entre los átomos enlazados para llenar los orbitales en ambos átomos. Este tipo de uniones se consideran de las más fuertes.

c) Uniones Hidrofóbicas

son comúnmente descritas como efecto hidrofóbico, se consideran uniones de tipo indirecta, esto ocurre cuando grupos no-polares se encuentran presentes en soluciones acuosas, donde las moléculas de agua cercanas a los grupos no polares forman estructuras uniéndose por enlaces de hidrógeno, reduciendo la entropía del sistema. Para disminuir este proceso se da un aumento en la tendencia de los grupos no-polares a asociarse entre sí.

d) Puentes de Hidrógeno

se trata de un tipo de atracción dipolo-dipolo entre dos moléculas, se considera primordialmente un tipo de atracción electrostática entre un átomo de hidrogeno unido covalentemente a un átomo con alta

electronegativo como el oxígeno, flúor o nitrógeno, de esta forma se dice que el hidrógeno se comparte, los enlaces formados por este tipo de uniones suelen ser más débiles que los iónicos o covalentes.

e) Puentes disulfuro

Este tipo de uniones involucra una reacción entre el grupo funcional sulfhidrilo (SH) de dos cisteínas, donde el azufre (S⁻) del sulfhidrilo de una de las cisteínas actúa como nucleófilo actuando en la cadena lateral de la segunda cisteína. Durante la formación de un puente disulfuro se liberan electrones por transferencia. En el caso de la mucosa el polímero reacciona con los grupos sulfhídrido presente en las mucinas produciendo una reacción de oxidación que da como resultado un puente sulfuro-sulfuro, el ejemplo más claro de los polímeros adhesivos son los tiomeros (Harding, S. E. 2003; Rodríguez, I. 2000; Schattling, P. 2017; Sudhakar, Y. 2006).

2.2.4 ABSORCIÓN EN LA VÍA BUCAL

Debido a la ausencia de la epidermis, barrea más grande de la piel, se encuentra ausente la absorción de diferentes moléculas a través de la mucosa oral generalmente es un mecanismo bastante eficiente. La difusión pasiva es el principal mecanismo de absorción en el tejido mucoso, más sin embargo a lo largo de la mucosa oral existen mecanismo de transporte activos como proteínas acarreadoras que transportan pequeñas moléculas, tales como monosacáridos y algunos aminoácidos. Otro mecanismo de absorción que se presenta en la mucosa oral es la endocitosis donde las moléculas de mayor tamaño son introducidas por vesículas celulares (Campisi, G. 2010; Escobar-chavez, J. J. 2008; Hao, J. 2003; Smart, J. D. 2005).

Existen dos caminos o rutas de absorción que regularmente se observan en la mucosa tras la difusión pasiva: transcelular y paracelular. Dentro de la absorción paracelular, también llamada intercelular, se encuentran 2 tipos:

- *Hidrofóbico*: donde están involucrados los dominios lipídicos de la membrana celular.
- *Hidrofílico*: relacionado a los canales acuosos asociados con las cabezas polares de los grupos lipídicos y las proteínas.

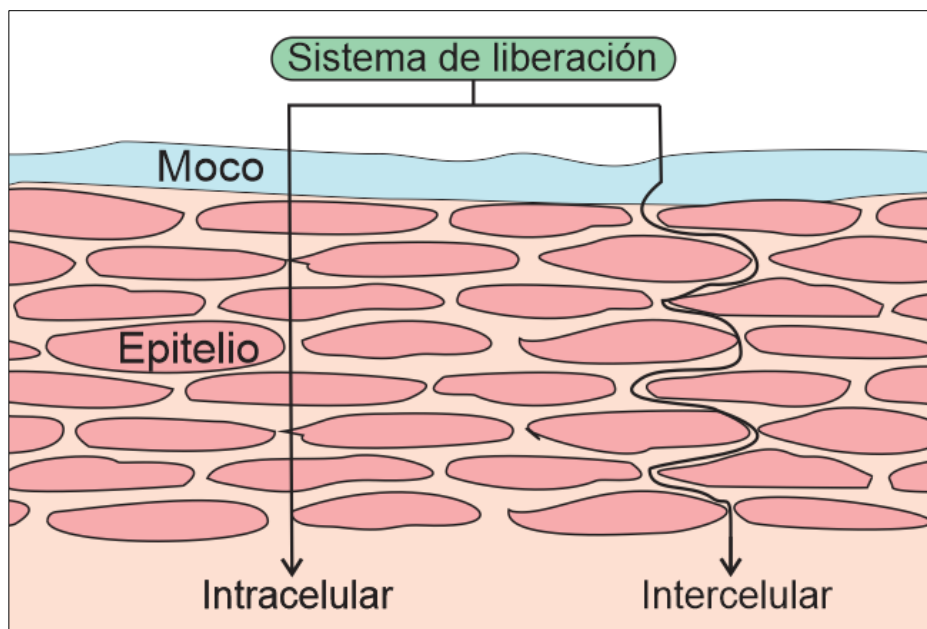


Figura 8. Representación esquemática de las vías de absorción

Factores que afectan la absorción

Los factores que afectan la absorción de las moléculas son principalmente sus propiedades físico-químicas, de las cuales destacan las siguientes:

- *Solubilidad*: una molécula con baja solubilidad produce un gradiente de concentración plasmático y, por lo tanto, una baja velocidad de difusión.

- *Coeficiente de partición:* las moléculas con propiedades lipofílicas altas tienen la capacidad de permearse a través de la ruta transcelular al fraccionarse en lípidos de la matriz intercelular, mientras que los compuestos hidrofóbicos se difunden rodeando la estructura celular por la vía paracelular, existen incluso algunas moléculas capaces de absorberse a través de ambas vías al mismo tiempo.
- *Cristalinidad:* el grado de cristalización de las moléculas, así como la actividad termodinámica esta estrictamente relacionada con la concentración difundida de la misma.
- *Tamaño de molécula:* la permeabilidad las moléculas aumenta conforme el tamaño de las mismas disminuye, por ejemplo, una molécula de un peso molécula menor a 100 Dalton tiene la capacidad de penetrar la membrana mucosa rápidamente, mientras que moléculas como péptidos, oligonucleótidos y hormonas exhiben un bajo grado de permeabilidad y por lo tanto baja biodisponibilidad.
- *Grado de ionización:* las moléculas exhiben un grado máximo de absorción cuando estas no se encuentran ionizadas, de esta manera la permeabilidad de las moléculas disminuye conforme su grado de ionización aumenta (Salamant-Miller et al. 2005; Laffleur F. 2014; Mansuri et al 2016).

2.2.5 SISTEMAS MUCOADHESIVOS DE LIBERACIÓN

El estado físico y la composición de las formulaciones son una característica imperativa en la disolución de los sistemas adhesivos y por lo tanto la biodisponibilidad del fármaco. Sin embargo, el constante flujo de saliva y la movilidad del tejido que lo rodea representan un desafío para la liberación de fármacos a través de la mucosa oral, para superar este problema se emplean polímeros con

características adhesivas en la formulación de sistemas de liberación mucoadhesiva, los más utilizados gracias a sus características son los resumidos en la tabla 6 (Sofi HS. et al 2020; Zhang H. et al 2012; Sattar M. et al 2014).

Polímero	Fuerza adhesiva
Poli (ácido acrílico)	185.0
Poli (metil vinil éter)	147.7
Metil celulosa	128.0
Hidroxipropil metil celulosa	125.2
Metil etil celulosa	117.4
Gelatina	115.8
Pectina	100.0
Poli (vinil pirrolidona)	97.6
Poli (etilenglicol)	96.0
Poli (alcohol vinílico)	94.8
Poli (hidroxi etil metacrilato)	88.4

Tabla 5. Polímeros mucoadhesivos y su potencial de adhesión

El tamaño de las formas farmacéuticas bucales se encuentra restringido por la limitada área disponible para aplicación en la cavidad oral, esto en algunos casos puede limitar la cantidad de fármaco incorporado en la formulación. En general, un sistema de liberación a través de la mucosa oral debe poseer un tamaño entre 1 a 3 cm² y una concentración máxima de fármaco de no más de 25 mg/día. La forma puede ser variable, aunque un elipsoide es la forma más aceptada por los pacientes, el grosor de la forma farmacéutica usualmente no exceder algunos milímetros, mientras tanto el tiempo de residencia para un sistema mucoadhesivo en la cavidad oral de no mayor a 4 hrs, gracias a su corto tiempo de renovación celular. Además de esto, las formulaciones farmacéuticas deben enmascarar el sabor de acuerdo a la población a la que será dirigida, utilizar polímeros que no generen irritación al sitio de administración (Netsomboon, K and Bernkop-Schnürch, A. 2016; Shinkar, D. M. 2013; Roy SK et al. 2010).

Los sistemas de liberación mucoadhesiva pueden dividirse de acuerdo a su forma farmacéutica en:

Tabletas:

A diferencia de las tabletas que regularmente ingerimos las tabletas adhesivas bucales pueden ser administradas sin la necesidad de beber un líquido. Las tabletas bucales generalmente son pequeñas, delgadas de forma ovalada con un diámetro promedio entre 5 y 8 mm, estas se caracterizan por adherirse de manera suave a la mucosa oral y mantenerse el en sitio de acción hasta su disolución o hasta que la liberación del fármaco ha sido completada. Las tabletas bucales pueden adherirse a diferentes sitios dependiendo de las necesidades del paciente como el paladar, mucosa de la mejilla y la gingiva.

Generalmente, la preparación de las tabletas bioadhesivas se da por compresión directa, aunque también se pueden emplear algunas técnicas de granulación. Con la intención de crear un sistema de liberación unidireccional las tabletas son creadas con las caras recubiertas con materiales a prueba de agua, excepto el lado que será adherido a la mucosa, esto se hace por diferentes técnicas siendo la más utilizada por spray. Las tabletas multicapa se preparan añadiendo las capas en secuencia por compresión de los ingredientes o bien por técnicas de granulación húmeda.

En algunas ocasiones, el fármaco es formulado en diferentes estados físicos como microesferas, previo a la formulación de la tableta por el método de compresión esto con la finalidad de alcanzar ciertas propiedades importantes para este tipo de formulaciones como el alargamiento del tiempo de liberación del fármaco.

La bioadhesión de las tabletas se alcanza a través de la deshidratación de la mucosa oral en presencia de saliva. Algunas tabletas aumentan sus propiedades mucoadhesivas a través de la utilización de algún modificador espesante o agente de bioadhesión en su formulación, tales como Noveon o Carbopol, entre otros.

El desafío más grande que se debe superar en las formulaciones de las tabletas bioadhesivas es su flexibilidad, lo que afecta de forma importante el porcentaje de aceptación por parte de los pacientes, cuando su utilización es por un largo periodo de tiempo o requieren utilizarlos de forma consecutiva, aunque esta problemática es superada por sus ventajas como: estabilidad de la formulación, entrega localizada del fármaco y liberación sostenida del mismo (Koirala S. et al. 2021; Nafee NA et al. 2004).

Parches:

Los parches bioadhesivos son sistemas laminados con la capacidad de erosionarse, estos están compuestos por una capa de liberación, donde el fármaco es liberado de manera sostenida y controlada. Los parches adhesivos orales no varían mucho de los parches transdérmicos ampliamente utilizados en el área médica, excepto que las características adhesivas requeridas son distintas en fuerza de adhesión.

Los parches mucoadhesivos son formulados a por varios métodos de los que destacan la fundición de solvente o solventes, donde el polímero cargado con el fármaco es vertido sobre una capa impermeable pre-fabricada; por otro lado, está la molienda directa de sus componentes para después darles la forma y el grosor deseado. La capa impermeable le da a la formulación varias características mecánicas como farmacológicas, tales como prevenir la pérdida de fármaco a través de la cavidad oral por la salivación, entrega unidireccional del mismo además de minimizar la deformación y

desintegración de la forma farmacéutica (Hombach J et al. 2010; Mansuri et al 2016).

Filmes:

Los films bioadhesivos se prefieren a las tabletas adhesivas debido a su flexibilidad y por lo tanto confort al utilizarlos. Por otra parte, son más utilizados que los geles o ungüentos por los profesionales de la salud gracias a su extensión en los tiempos de residencia en el sitio de afección, esto debido a la capa impermeable que los compone. Aunado a esto proveen protección en caso de tratarse de lesiones superficiales de la mucosa, dando resultados más eficientes en el tratamiento de enfermedades orales.

El film ideal debe cumplir con distintas características como ser considerablemente flexible, suave y elástico, pero además ser lo suficientemente resistente para evitar su ruptura por debido a los movimientos de la cavidad oral; por todo lo anterior si accidentalmente el paciente se llegase a tragar un film no debería provocarle ningún tipo de incomodidad. En estos aspectos son muy parecidos a los parches.

Los films al igual que los parches en el pasado se formulaban por evaporación del solvente, más sin embargo recientemente se ha utilizado moldeo por fusión caliente, que a diferencia del primer método es rápido, bajo costo y amigable con el medio ambiente ya que no existe evaporación considerable de solvente (Rajaram DM and Laxman SD 2017; Verma S. 2018).

Ungüentos y geles:

Este tipo de formulaciones son sistemas de liberación de fármaco semisólidas adhesivas basadas en hidrogeles, la idea principal es ampliar el tiempo de residencia del fármaco en el área afectada y por consecuencia mejorar la biodisponibilidad. Estos sistemas de liberación funcionan

principalmente atrapando las moléculas de fármaco, las cuales son lentamente liberados por difusión o erosión posterior a la hidratación del gel.

Dentro de las ventajas del uso de los geles podemos destacar el contacto inmediato con la superficie mucosa y por consiguiente la liberación del fármaco de manera rápida en el sitio deseado de aplicación, aunque no son la primera opción para los profesionales de la salud debido a que su uso resulta en un pobre control de la dosis aplicada, es debido a esto que los geles poseen pocas o limitadas aplicaciones debido a que en sitios de aplicación de difícil acceso es complicado su uso, pero son muy utilizados para sistemas de liberación oftalmológicos así como para ginecológicos.

Es común que en las formulaciones de los hidrogeles se utilicen agentes de bioadhesión como los carbomeros, con la intención de mejorar sus características mucoadhesivas y mejorar el tiempo de residencia en el sitio de la lesión (Roy S. K. and Prabhakar B. 2010; Russo E. et al. 2016).

2.3 NANOFIBRAS MUCOADHESIVAS

2.3.1 ELECTROHILADO

Desde el año 2012 la formación de fibras a escalas nanométricas construidas por la técnica de electrohilado han tomado suma importancia en el campo de la entrega de fármacos. Durante este tiempo esta habilidosa técnica ha sido utilizada para desarrollar nanofibras de diferentes sustancias, de las cuales destacan: los polímeros, metales y compuestos cerámicos. además de la formación de las nanofibras se ha incursionado en diversos aspectos para la incorporación de fármacos en forma de solución e incluso en forma de nanopartículas. Una de las ventajas más notables sobre esta técnica es su bajo requerimientos para realizar el proceso de electrohilado, solo se requiere de algún solvente para disolver y dispersar el compuesto a incorporar. La técnica depende de la formación de un

campo eléctrico entre la aguja de la jeringa donde se encuentra la solución y un colector de tipo metálico, esto a través de la utilización de una fuente de poder y un amplificador, de manera que los requerimientos energéticos se disminuyan. (Figura 8) (Varghese J. et al.2019; Bhardwaj, N. et al 2010).

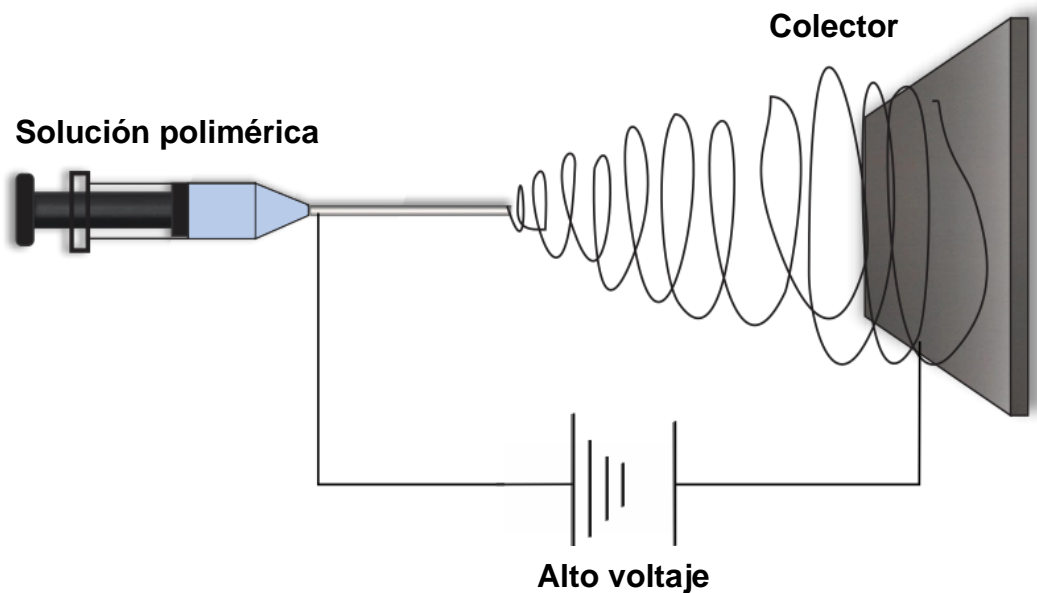


Figura 9. Diagrama de dispositivo de electrohilado

Dichas nanoestructuras fibrosas formadas a través de este fascinante método poseen extraordinarias características, destacando notables propiedades mecánicas y una amplia área de superficie. Comparada con otras técnicas de obtención de membranas, la técnica de electrohilado permite la formación de una membrana con un alto grado de porosidad, gracias al intercalado de las fibras, excediendo el 90% de porosidad (Hu, X. et al 2014; Khalf, A. et al 2017).

Debido a estas características particulares las membranas electrohiladas o andamios fibrosos han sido empleadas para diferentes sistemas de liberación de sustancias activas en la industria farmacéutica, además de su uso en muchos otros campos de aplicación como la industria textil y la industria ambiental. Aunque la formación de estas estructuras ha sido ampliamente estudiada en los últimos años,

aún queda un amplio campo de estudio gracias a la incorporación de nuevos fármacos o nuevas bases poliméricas (Haider, A. et al 2015; Ahmed, F. E. et al 2014).

Parámetros de la técnica

La variación de los parámetros correspondientes al proceso de electrohilado, así como los relacionados con la solución, puede llevar a la creación de un sinfín de variaciones en las propiedades y morfología de las nanofibras creadas. Gracias a estas variaciones el personal encargado de la manipulación del aparato del electrohilado tiene la capacidad de generar desde fibras bien definidas de diferentes diámetros hasta fibras con bulbos o con forma de listón, por otra parte, gracias al control de operación de las condiciones también se pueden crear fibras con distintos grados de porosidad mostradas en la Figura 8 (Haider, A. et al. 2018; Bhardwaj, N. et al.2010).

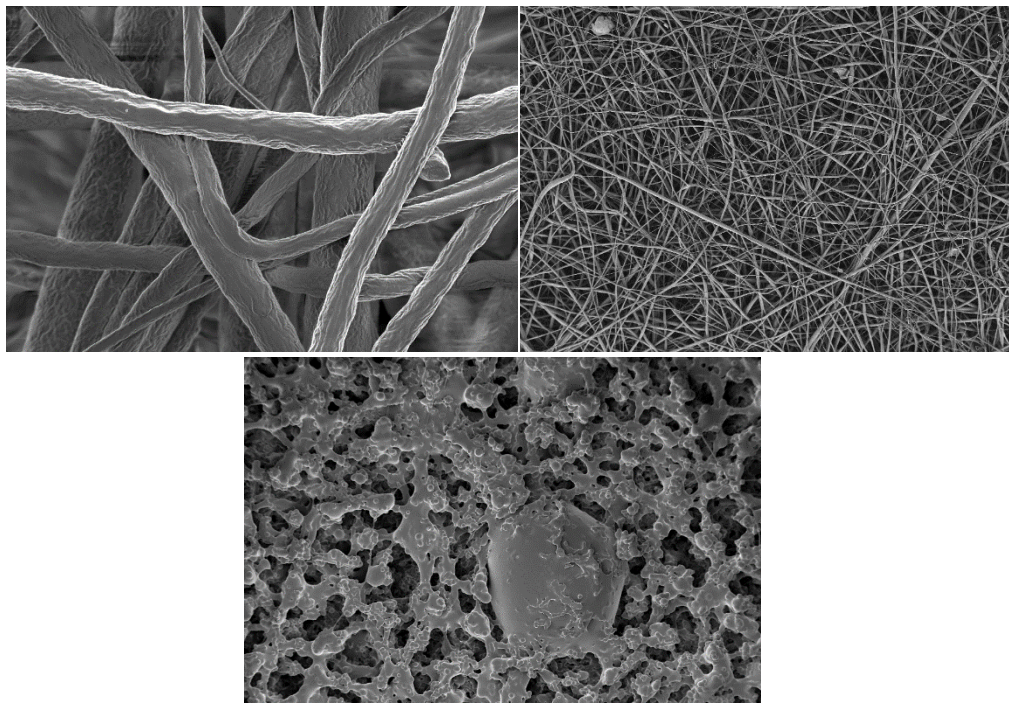


Figura 10. Variaciones en la formación de nanofibras a través de la técnica de electrohilado.

Al día de hoy, los andamios fibrosos han sido creados a partir de al menos más de un centenar de distintos polímeros, gracias a la disolución de estos polímeros en diferentes tipos de solventes, preferentemente polares. Mas sin embargo el control de los parámetros aun es un tema que debe mejorarse (Hu X et al. 2014; Thakkar S et al. 2017).

Por tanto, existen diferentes factores que afectan tanto el correcto funcionamiento del aparato de electrohilado como la morfología de las fibras producidas. Estos factores pueden dividirse en parámetros del electrohilado, de la solución y ambientales, a su vez dentro de los parámetros de electrohilado podemos destacar el campo eléctrico aplicado, la distancia entre la aguja y el colector, el flujo administrado y el diámetro de la aguja. Los parámetros de la solución incluyen la polaridad del solvente, la concentración del polímero, viscosidad y conductividad de la mezcla. Mientras que entre los parámetros ambientales se encuentran la humedad relativa del entorno, así como la temperatura al momento de electrohilar (Garg, K. et al. 2011; Valizadeh, A. and Mussa Farkhani, S. 2013).

Todos los parámetros antes mencionados afectan directamente la formación y homogeneidad de las fibras. Gracias a una inmensa cantidad de estudios e investigaciones es bien sabido que el flujo de corriente que fluye desde la fuente de poder provee hacia la solución polimérica gracias a una aguja metálica, provoca la deformación de la gota en la punta produciendo el cono de Taylor consecuentemente este se elonga finamente hasta formar fibras de diámetros nanométricos. Este parámetro de voltaje requiere ciertas variaciones dependiendo del polímero que se planea electrohilar, esto se debe a al estiramiento

de la solución polimérica y a la carga de repulsión proveniente del chorro de polímero expulsado por la aguja, de la misma forma un incremento del voltaje aplicado por encima de los valores requeridos para cada polímero puede resultar en un incremento de diámetro de las nanofibras, así como la formación de nódulos en las fibras (Wang C. et al 2019; Bhardwaj, N. et al 2010; Huang, Z. M. et al 2003).

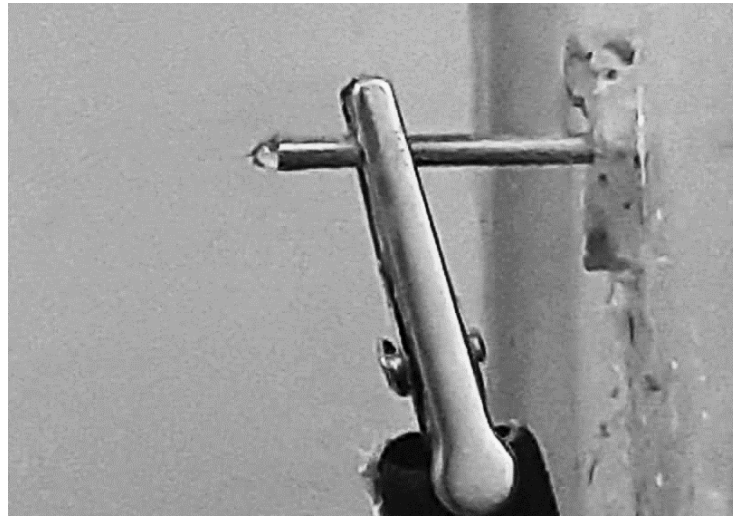


Figura 11. Elongación del cono de Taylor.

Por otra parte, el incremento de la tasa de flujo por encima de los valores requeridos por cada polímero, lleva como resultado la formación de cuentas en las fibras y en algunos casos gotas de material no electrohilado que se depositan en el fondo de la caja contenedora, debido a la evaporación incompleta del solvente. Así mismo, del otro lado del proceso la disminución del flujo por debajo de los 0.05 ml/hr conlleva a la solidificación de la solución polimérica y por tanto el taponamiento de la aguja (Beachley V. et al 2009; Ahmed, F.E. et al 2015).

El proceso de electrohilado para la producción de fibras además depende del estiramiento del estiramiento del chorro polimérico cargado, este parámetro se ve afectado por la concentración y la

viscosidad de la solución polimérica. Cuando la concentración es demasiado baja el campo eléctrico aplicado y la tensión superficial causando que el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas se rompa entre si antes de llegar al colector. La selección del solvente es otro de los factores clave para la producción de nanofibras electrohiladas homogéneas y sin cuentas. Los factores más importantes a considerar a la hora elegir el solvente adecuado para la disolución del polímero son la polaridad el factor de ebullición de este, el cual debe ser bajo ya que debe evaporarse antes de llegar al colector, sin embargo, los solventes con altos grados de evaporación son comúnmente evitados debido a que se evaporan dentro de la aguja de inyección produciendo taponamientos (Duque, L.M. et al 2014; Wang C. et al 2019).

2.3.2 LIMITACIONES DE LA VÍA TRANSMUCOSA

La vía transmucosal son alternativa atractiva para la administración de fármacos a través de la vía oral para pacientes que tienen dificultades para deglutir, especialmente los pacientes geriátricos y pediátricos. Esta ruta de medicación involucra mecanismos como la permeación de fármacos a través de las capas epidérmicas hacia la circulación sistémica. Sin embargo, el bajo grado de absorción de algunos medicamentos limitan su uso en patologías agudas, esto da como resultado que esta vía de administración sea menospreciada por los profesionistas de la salud ya que no están familiarizados con los principios de esta ruta de liberación y por lo tanto existe incertidumbre acerca de su eficacia. Así mismo a pesar de existir un sin número de estudios que avalan resultados favorables para estos sistemas de liberación, la falta de una clara orientación hacia su utilización en clínicas y hospitales son la principal barrera para su uso (Lam JKW et al 2020; Patel VF et al 2011).

2.4 BIOCMPATIBILIDAD

En las últimas décadas los biomateriales han sido de gran importancia entre los profesionales del área médica para mejorar la calidad de vida de sus pacientes. Además de la eficacia de un sistema de liberación creado con biomateriales es de vital importancia la evaluación de su grado de respuesta por parte del organismo receptor. La toxicología juega un papel fundamental en el desarrollo de nuevos biomateriales para garantizar que el material creado de distintas fuentes, tanto naturales como sintéticas, es seguro para ser utilizado en aplicaciones médicas en humanos. Antes de crear cualquier dispositivo médico que estará en contacto con un ser humano se debe tener muy claro cuál será su propósito y su interacción con los sistemas biológicos del individuo (Moharamzadeh K 2017; Marin E et al. 2020).

La evaluación de las propiedades biocompatibles de un material es un requisito forzoso para cualquier aparato destinado para aplicación clínica. La biocompatibilidad se refiere a la habilidad de un material de actuar con una respuesta apropiada en una aplicación específica, de acuerdo con el consenso realizado por la sociedad europea de biomateriales en 2005. Donde se estableció que la evaluación de la biocompatibilidad de un biomaterial se encuentra estrechamente relacionado con el área del cuerpo donde será aplicado, ya de esto dependen los protocolos que se utilizaran para su evaluación. Debido a que la respuesta por parte del organismo receptor es muy variada por parte del huésped, la evaluación de la biocompatibilidad destinado para su uso clínico es un largo ensayo, que requiere de una serie de pruebas planeadas cuidadosamente. Estos procedimientos han sido estandarizados a un nivel internacional y son descritos a detalle en la norma ISO 10993 (Raut HK et al. 2020; Jurak M et al. 2021).

La biocompatibilidad puede ser examinada ya sea “*in vitro*”, utilizando las células apropiadas, las cuales representan un factor clave durante los procesos de cicatrización de una herida y regeneración del tejido involucrado, o bien “*in vivo*” a

través de la implantación del sistema polimérico o por inyección de sus materiales al torrente sanguíneo o sistema muscular (Giardino R et al 2017).

De acuerdo con la Asociación de Ciencias de los Materiales de Norte América (NAMSA por sus siglas en inglés), la evaluación efectiva de los dispositivos médicos está dividida en 4 fases fundamentales:

Fase 1. Esta fase se refiere al aspecto físico, químico y biológicos de los componentes del material desarrollado.

Fase 2. Aquí es donde se lleva a cabo los ensayos de biocompatibilidad de los materiales, además de determinarse que pruebas deberán realizarse basados en la norma ISO 10993.

La siguiente tabla ilustra los ensayos requeridos por la FDA (Food and drug administration) para determinar la clase de pruebas que se llevarán a cabo dependiendo de las siguientes variables:

- Aplicación que se le dará al material
- Tipo de tejido con el que entrará en contacto
- Tiempo que permanecerá el material en el sitio de acción

Clasificación del dispositivo médico por			Efecto biológico							
Categoría	Naturaleza del contacto con el cuerpo (ver 4.2)	Duración del contacto (ver 4.3) A — Limitado (< 24 h) B — prolongado (24 h a 30 días) C — permanente (> 30 días)	Citotoxicidad	Sensibilidad	Irritación o reactividad intracutánea	Toxicidad sistémica (aguda)	Toxicidad subcrónica y subaguda	Genotoxicidad	Implante	Hemocompatibilidad
Dispositivo de superficie	Piel	A	x	x	x					
		B	x	x	x					
		C	x	x	x					
	Membrana mucosa	A	x	x	x					
		B	x	x	x					
		C	x	x	x		x	x		
	Superficie comprometida o rota	A	x	x	x					
		B	x	x	x					
		C	x	x	x		x	x		
Dispositivo de comunicación externa	Vía sanguínea, indirecta	A	x	x	x	x				x
		B	x	x	x	x				x
		C	x	x		x	x	x		x
	Tejido/hueso/dentina	A	x	x	x					
		B	x	x	x	x	x	x	x	
		C	x	x	x	x	x	x	x	
	Sangre circulante	A	x	x	x	x				x
		B	x	x	x	x	x	x	x	x
		C	x	x	x	x	x	x	x	x
Dispositivo de implante	Tejido/hueso	A	x	x	x					
		B	x	x	x	x	x	x	x	
		C	x	x	x	x	x	x	x	
	Sangre	A	x	x	x	x	x		x	x
		B	x	x	x	x	x	x	x	x
		C	x	x	x	x	x	x	x	x

Figura 12. Guía de selección de ensayos de Biocompatibilidad

Fase 3. Cubre la validación del producto y del proceso, el cual incluye control ambiental del proceso, control de manufacturación, proceso de esterilización y calidad final del producto.

Fase 4. Esta fase final está relacionada con la liberación del producto al mercado y procedimientos de auditoria periódicos.

En general los dispositivos biomateriales deben ser probados en la forma final del producto como serán usados en el sitio de acción, más, sin embargo, también es necesario probar todos sus componentes por separado ya que individualmente puede presentar cierto grado de toxicidad (Schuh JCL et al 2019; Williams DF 2015).

2.4.1 ENSAYOS “*IN VITRO*”

Las pruebas “*in vitro*” realizadas para los biomateriales con una aplicación clínica son desarrolladas para estimular algún tipo de reacciones biológicas por parte del organismo al momento de entrar en contacto y permanecer durante cierto tiempo con el material destinado a uso clínico. Los nuevos materiales desarrollados deben demostrar los efectos adversos que pueden exhibir antes de entrar en contacto con el cuerpo humano. Los ensayos “*in vitro*” han sido utilizados para examinar biomateriales buscando niveles de biocompatibilidad, así mismo los avances en las técnicas de cultivo celular han generado modelos celulares aceptables para la evaluación de ciertos aspectos de biocompatibilidad relacionados con las características de los materiales desarrollados. Sin duda alguna, los ensayos “*In vitro*” poseen protocolos mucho más fáciles y económicos, además de servirnos de guía sobre los ensayos “*In vivo*” que deberían realizarse posteriormente (Sengupta D et al. 2014; Keong LC Et al. 2009).

La toxicidad total o parcial de cualquier material o dispositivo medico varía dependiendo del grado de separación y de la toxicidad de sus componentes solubles, por esto en algunas ocasiones se utiliza un extracto del material para la realización de la técnica. La cantidad de compuestos extraíbles del material a

evaluar se encuentra relacionado con el área superficial y el grosor del dispositivo. La selección de las condiciones específicas para el diseño de cada ensayo es afectada por diversos factores, dentro de los cuales podemos destacar el propósito y localización de utilización del dispositivo o material, el grado de degradación del material a diferentes temperaturas y por último el tiempo de contacto estimado (Roggen EL 2011; Andersen ME et al. 2010).

Para la aplicación exitosa de cualquier ensayo “*In vitro*” la existencia de un método validado apropiado por un comité científica es indispensable. En 1982 la armonización internacional de ensayos de toxicidad (IHTT) describió a detalle los pasos requeridos para reducir los ensayos donde se utilizan animales para propósitos regulatorios, ya que ahora estos ensayos son aceptados por agencias regulatorias en lugar de los que utilizan animales (Schuh JCL et al 2019; Roggen EI et al. 2011).

Los modelos “*In vitro*” incluyen una amplia lista de modelos celulares que va desde células primarias hasta células genéticamente modificadas. La toxicidad se mide en términos de citotoxicidad, muerte celular y genotoxicidad.

- *Citotoxicidad*

Las pruebas de citotoxicidad se encuentran entre las pruebas más utilizadas para predecir la capacidad toxica de un material o dispositivo médico, estos son requeridos para todo biomaterial diseñado, debido a que provee una evaluación rápida del material y la posibilidad de descartar compuestos tóxicos antes de ser expuestos a modelos animales, además de darnos una idea del rango de concentración que debería ser utilizado con el fin de causar el mínimo daño al tejido u órgano donde será aplicado. Los protocolos empleados para evaluar este parámetro son expuestos en la norma ISO10993-5 (Test for *in vitro* citotoxicity), donde se detalla el tipo de célula a utilizar, duración de la exposición, así como mejor método de ensayo para cada

material. Diversos tipos de células han sido propuestas o desarrolladas para los ensayos “In vitro” con el propósito de mantener la integridad genética y características morfológicas del cultivo celular y así asegurar la reproducibilidad del método. Los fibroblastos son las células más utilizadas para la evaluación de biomateriales gracias a su mantenimiento relativamente sencillo en comparación con otras líneas celulares, además de probar una excelente correlación con los ensayos realizados en animales, aunque la línea celular depende en su totalidad del lugar de aplicación del biomaterial. Los métodos más utilizados para la evaluación son el ensayo MTT, Ensayo Rojo neutro y el ensayo de formación de colonias, donde se buscan características como:

1. Pérdida de la integridad
2. Liberación de enzimas citosólicas
3. Deficiencia en los procesos metabólicos
4. Reducción de la síntesis de ADN
5. Inhabilidad de continuar con la replicación

(Adan A et al. 2016).

- *Muerte Celular*

La toxicidad de un material es sinónimo de muerte celular regularmente, dentro de este concepto se encuentran dos términos descritos gracias a sus cambios morfológicos y bioquímicos, la necrosis y apoptosis. La necrosis normalmente ocurre por una serie de estímulos patológicos, este proceso afecta las células vecinas, mostrando inflamación de los organelos citoplasmáticos especialmente las mitocondrias, finalizando con la ruptura de la membrana plasmática.

Mientras que la apoptosis es una respuesta genética de las células conocida como “suicidio celular”, este proceso juega un papel imperativo en la homeostasis del tejido además de estar relacionada

con diversas enfermedades como el cáncer. Comúnmente la apoptosis es caracterizada por una visible condensación de la cromatina nuclear, acompañada por la ruptura del núcleo, compactación de los organelos hasta finalizar con la asimétrica perdida de la distribución de fosfolípidos en la membrana plasmática, mas, sin embargo, debido a que no suele presentarse ruptura de la membrana este tipo de muerte celular no afecta a las células circundantes, el proceso termina con la fagocitación de los residuos celulares por macrófagos tisulares. Usualmente se utiliza la citometría de flujo para determinar estos parámetros. (Elmore S. 2007) Las diferencias características de estos dos tipos de muertes celulares se encuentran en la siguiente tabla.

Apoptosis	Necrosis
Afecta la dispersión celular	Afecta las células circundantes
La cromatina es marginada en forma de media luna	La cromatina es marginada como pequeños agregados
Escisión Internuclear	Escisión de ADN aleatoria
Organelos intactos	Organelos hinchados
Formación de cuerpos apoptóticos	Ruptura celular
Presencia de fosfatidilserina expuesta	Liberación de contenido celular
No inflamación observada (in vivo)	Inflamación observada (in vivo)

- *Genotoxicidad*

El término genotoxicidad incluye una amplia cantidad de sucesos incluyendo la mutación, el daño al ADN o la producción de aductos de ADN, por lo que el ensayo determina mutación de genes, cambios en la estructura o número de los cromosomas, protocolo descrito en la norma ISO 10993-3. Los ensayos pueden ser clasificados en base a estos cambios, más sin embargo ninguno de los métodos de estudio es capaces de detectar todos los cambios, por lo que es recomendable emplear varios protocolos para su evaluación. Los métodos de evaluación son llevados a cabo empleando microorganismos o células de mamíferos, dentro de los más utilizados se encuentra el ensayo Cometa (Luo T et al. 2018).

2.4.2 ENSAYOS “*IN VIVO*”

Los ensayos “*in vivo*” son considerados como una extensión de los estudios “*in vitro*”, ya que la capacidad de un biomaterial de ejercer cierto grado de biocompatibilidad no puede ser predicha solo por alguno de estos dos ensayos, sino que son complementarios. Así mismo, los ensayos “*in vivo*” permite el avance de investigaciones a largo plazo además de ofrecer la mimetización del ambiente biológico donde el biomaterial o dispositivo será aplicado, probando así su biofuncionalidad. Aunque son pruebas con muchas ventajas también poseen ciertas limitaciones que deben ser consideradas como: instalaciones apropiadas para la realización de las pruebas, profesionales encargados de cada etapa (Veterinario e Histopatólogo), ensayos con tiempos prolongados, costos elevados, pero sobre todo y más importante las diferencias existentes entre los sistemas anatómicos, biológicos y fisiopatológico entre los animales y los humanos (Anderson JM 2016).

Para el correcto desarrollo de los estudios “*in vivo*” se debe cumplir con las éticas y normas legales internacionales en experimentación animal, por esto deben

revisarse los pre-requisitos requeridos en la investigación de animales. Estas normas y guías de ética pueden ser resumidas en las tres R's:

- *Reemplazo*: Los animales pueden ser utilizados, solo si no existen ensayos experimentales sin el uso de modelos animales disponibles.
- *Reducción*: El número de animales utilizados deberá ser el mínimo posible para obtener resultados confiables.
- *Refinamiento*: Las investigaciones en animales solo pueden llevarse a cabo una vez que los ensayos "*in vitro*" han sido concluidos (Giardino R et al 2017).

Además de lo antes mencionado, durante las pruebas en animales debe regularse el uso y aplicación de correctos protocolos quirúrgicos de anestesia y analgesia a los sujetos de prueba, en un ambiente estéril controlado bajo la responsabilidad de un especialista. Durante estos procesos el estrés y dolor del animal debe ser evitados en la medida de lo posible. Al finalizar cada ciclo de experimentación se debe aplicar al animal Eutanasia bajo protocolos humanitarios de acuerdo con los comités de ética encargados. El protocolo del procedimiento debe ser claro y describir a detalle el objetivo de la investigación, aclararse el uso de animales y la falta de técnicas "*in vitro*" que puedan suplir dichos resultados, y por último el protocolo de ensayo debe ser previamente aprobado por el comité de ética encargado de la institución. Los ensayos más utilizados para la evaluación de la biocompatibilidad "*in vivo*" son los ensayos de irritación, ensayos de sensibilización, ensayo de efectos post-implantación y hemocompatibilidad (Huzum B et al 2020).

III. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia de un sistema mucoadhesivo fibroso multicapa para la liberación de dexametasona fosfato a través de la mucosa oral.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar un sistema fibroso multicapa (PVP/PCL/PCF) a través de la técnica de electrohilado.
- Caracterizar la biocompatibilidad “in vitro” del sistema fibroso (ensayo MTT: Lf y Mc en SP)
- Caracterizar la biocompatibilidad “in vivo” del sistema fibroso (ensayo de sensibilización: Ratones Balb/c)
- Realizar estudios de permeación “ex vivo” (Células de difusión vertical Franz/Tejido mucoso)
- Realizar estudios de mucoadhesión “in vitro” (analizador de texturas Brookfield CT3/Tejido mucoso)
- Realizar ensayo de tiempo de residencia “in vivo” (6 voluntarios saludables)

IV. HIPÓTESIS.

Un sistema mucoadhesivo fibroso multicapa cargado con dexametasona fosfato puede ser utilizado eficientemente para la liberación de fármaco a través de la mucosa oral.

V. METODOLOGÍA

5.1 MATERIALES

PCL: CAS Number: 24980-41-4 (P.M 80,000), PVP: CAS Number 9003-39-8 (P.M 40,000) comprados en Sigma-Aldrich. PCF: CAS Number 9003-97-8 donado por Lubrizol Advanced Materials, Inc. DEX-F: CAS Number 2392-39-4 comprado en Spectrum Chemical Manufacturing Corp. Agua deionizada (DW), Cloroformo (CF): CAS Number 67-66-3 and metanol (MeOH): CAS Number 67-56-1 se utilizaron para preparar todos los reactivos.

5.2 PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

Una solución al 50% (w/v) de PVP en agua destilada/metanol en una relación 1:1 será preparada en baño maría a 80°C con agitación constante, hasta su total disolución. Una vez disuelta, se dejó asentar la solución a temperatura ambiente durante la noche para remover posibles burbujas. Además, se realizarán mezclas de formulación de la solución polimérica de PVP al 50 %, con aproximadamente 8 mg de Dexametasona en cada andamio.

De igual manera una solución al 10% (w/v) de PCL en metanol/cloroformo en una relación 1:1 será preparada en baño maría a 80°C con agitación constante, por otra parte, se preparó una solución al 1.25% (w/v) PCF en metanol será preparada en baño maría a 80°C con agitación constante, hasta su total disolución. Una vez disueltas serán mezclada y para posteriormente asentar la solución a temperatura ambiente durante la noche para remover posibles burbujas.

Por otra parte, una solución al 10% (w/v) de PCL en metanol/cloroformo en una relación 1:1 será preparada en baño maría a 80°C con agitación constante, hasta su total disolución. Una vez disuelta será dejada reposar a temperatura ambiente durante la noche para remover posibles burbujas.

5.3 ELECTROHILADO

Una jeringa plástica (22G) será cargada con las soluciones de PVP, removiendo todas las burbujas formadas durante la carga de la jeringa. Dos pruebas serán conducidas. La primera a 10 cm, 20 kV y 0.2 ml/h. La segunda a 15 cm, 20 kV y 0.2 ml/h. En ambas, se observará la formación de fibras.

5.4 CULTIVO CELULAR

Extracción de células mononucleares de sangre periférica

Para la extracción de las células mononucleares se utilizó una pipeta Pasteur para colocar cuidadosamente 4 mL de sangre diluida (sin mezclar) sobre un tubo conteniendo Ficoll-Paque. Los tubos fueron centrifugados a 1200 rpm durante 30 minutos. Posterior a la formación visible de capas (inferior con eritrocitos, capa inmediatamente superior a esta con granulocitos, en la interfase entre el plasma y la capa Ficoll-Paque, células mononucleares). Se tomó la interfase de las células en un tubo falcon y centrifugaron a 2000 rpm durante 10 minutos. Las células fueron colocadas botellas con medio de cultivo apropiado. de acuerdo con lo establecido por Assmanna C et al. 2018.

Cultivo de líneas celulares

La evaluación de la citotoxicidad “*in vitro*” se cultivarán líneas celulares de fibroblastos humanos HFF-1. Dichas células serán cultivadas en medio DMEM (Dulbecco's modified Eagle's médium) y 10 % de Suero Fetal Bovino, en condiciones de esterilidad e incubadas a 37°C, con 5% CO₂. El medio de cultivo se cambiará cada tercer día utilizando tripsina-EDTA, y serán cultivadas hasta llegar al 100% de confluencia celular. Las células se cultivarán en 15 mL de (DMEM, Dulbecco's Modified Tagle Médium, Gibco), suplementado con 10% de suero bovino fetal, 1% de penicilina/estreptomicina, 1% de piruvato y un 1% de L-glutamina, Hepes 10 mM y NaHCO₃. Las células se mantendrán a 37°C en una incubadora

bajo una atmósfera con 5% CO₂. Las monocapas celulares se lavarán con una solución salina tamponada SBF (solución búfer fosfatos) y se tripsinizaron con tripsina-EDTA (ácido tetraacético etilen-dinitrilo) durante cinco minutos a 37°C para separarlas de la placa. Luego se añadirá medio completo para neutralizar la reacción de tripsinización. Las células se concentrarán mediante centrifugación para eliminar así la tripsina y luego se añadirá nuevo medio. Se resuspenderán las células y se contabilizarán por medio de un hematocitómetro. Finalmente, se realizarán las diluciones necesarias a partir de las células totales para obtener la cantidad de células por pozo deseada (Norma española UNE-EN ISO 10993-5, Nalge Nunc International Corp.).

5.5 ENSAYO DE CITOTOXICIDAD MTT “*in vitro*”

Para los ensayos de citotoxicidad dos líneas celulares se llevarán al 100% de confluencia en frascos T75 y se tripsinizarán para ser contados y ser llevados a un volumen final de 20 ml de medio DMEM con suero. Las células serán contadas con la ayuda de un hematocitómetro (Cole-Parmer). Para el ensayo MTT las dos líneas celulares serán sembradas con 100 µl de la suspensión celular en los pozos que contenían en el fondo los materiales cortados circularmente con un diámetro de 0.5 cm, las cuales cubrieron toda la superficie del pozo, las diferentes formulaciones serán colocadas por triplicado en la misma columna para los dos ensayos, así mismo se sembrarán las células en pozos que no contenían ningún material para ser usados como control negativo o SC (-) y el cual representarán el crecimiento normal celular, de igual forma, se utilizarán por triplicado solo la suspensión celular como blanco. Las células se incubarán por 24 horas, 37°C y 5% CO₂. Al transcurrir las 24 horas, se añadirán 10 µl del reactivo MTT y 10 µl del colorante rojo neutro, se mezclarán bien y se incubarán por 4 horas a 37°C y 5% CO₂. Posteriormente se colocarán 100 µl de dimetil Sulfoxido en cada pozo, se mezclarán bien por pipeteo y se incubarán por 15 minutos a 37°C y 5% CO₂. Finalmente, todas las mezclas serán extraídas y colocadas en una caja nueva estéril de 96 pozos y se llevarán a

leer en un lector de microplaca (Multiskan FC, Thermo Scientific) a una longitud de onda de 570 nm para el ensayo MTT.

5.6 ENSAYO DE PERMEACIÓN “*ex vivo*”

La mucosa porcina será montada entre los compartimientos de donador y receptor de la célula de difusión, el sistema multicapa será colocado con cuidado sobre la superficie mucosa presionando levemente. El compartimiento donador será humedecido con 1 ml de saliva artificial a un pH de 6.8 mientras que el compartimiento receptor será llenado hasta tocar la membrana con 100 ml de una mezcla de etanol y buffer de fosfato isotónico a un pH de 7.4. la movilidad de la solución será mantenida con el uso de un agitador magnético a una velocidad de 50 rpm a una temperatura constante de 37°C sobre una plancha de calentamiento. A diferentes tiempos previamente determinados serán extraídos 2 ml de muestra y reemplazados con la solución del receptor y analizada a 240 nm en un espectrofotómetro. Las membranas remanentes posteriores a los ensayos de permeación fueron colocadas en acetonitrilo grado HPLC y tratadas en baño ultrasónico por 10 minutos, posteriormente la solución fue filtrada a través de filtros de celulosa 0.45 µm para posteriormente ser analizadas por el mismo método de HPLC. Las muestras serán realizadas por triplicado de acuerdo con lo propuesto por Govindasamy, P. et al 2013.

5.7 ENSAYO DE ADHESIVIDAD “*ex vivo*”

La membrana mucosa de tejido porcino, caracterizada por su tejido no queratinizado, similar al tejido humano en dimensiones de 30 x 40 mm, se montará firmemente sobre el accesorio de mucoadhesión especializado con pinzas sumergiéndolo en una solución fisiológica marca pisa a una temperatura constante, el sistema mucoadhesivo multicapa (100 mg) será adherido al adaptador de prueba

TA-5 con un círculo de cinta de doble cara, este se montará correctamente en la parte móvil del analizador de textura.

El equipo será programado para determinar la fuerza requerida para un completo desprendimiento del sistema mucoadhesivo de la membrana mucosa, después de que haga contacto con el tejido durante 30 segundos con una fuerza de 200 gF (2 N), para posteriormente ser retraído. Esto será llevado a cabo por triplicado para todas las capas individualmente y el sistema multicapa completo de acuerdo a lo propuesto por Brako, F. et al 2018.

5.8 ENSAYO DE BIOCMPATIBILIDAD “*in vivo*”

Ensayo de irritación de la mucosa oral “in vivo”

Los ensayos de irritación de la mucosa oral se realizaron en el abazón de Hámsteres (saco de las mejillas) de acuerdo a la ISO 10993-10:2010 (E), apartado B3, que corresponde a pruebas de irritación de la mucosa oral.

El sistema mucoadhesivo multicapa se cortó de forma redonda con un diámetro de 0.5 cm. Para esta prueba se utilizarán 12 Hámsteres Sirios hembras jóvenes, nulíparas. Los animales pasaron un periodo de adaptación y aislamiento de dos semanas y fueron asignados aleatoriamente a alguno de los grupos de prueba como se describe a continuación:

- Grupo A: 3 Hámsteres con Sistema completo (PVP+PCL/PCF+PCL) sin dexametasona
- Grupo B: 3 Hámsteres con Sistema completo (PVP+PCL/PCF+PCL) con dexametasona
- Grupo C: 3 Hámsteres con algodón impregnado de Dexametasona • Grupo D: 3 Hámsteres con Polímero PCF

Para evitar dolor, incomodidad o estrés innecesario a los animales, antes de comenzar el procedimiento cada hámster fue sedado y anestesiado por medio de una inyección intraperitoneal de Xilacina/Ketamina. Una vez que el animal se encontraba completamente relajado y adormecido, se lavó el abazón de cada sujeto de prueba con solución salina fisiológica cuidadosamente para evitar una posible bronco aspiración y se examinó la mucosa en busca de cualquier anomalía. Una vez realizada la inspección se colocó la muestra en forma de filme mucoadhesivo de un tamaño no mayor a 5 mm de diámetro directamente dentro del abazón. El otro abazón de cada animal sirvió como control negativo. La muestra se dejó en contacto con el tejido mucoso durante 8 horas.

Una vez completado el tiempo de exposición, se lavó el saco de la cavidad oral con solución salina cuidando de no contaminar el abazón contrario y además de evitar bronco aspiraciones en el animal.

Observación de los animales:

Después de remover la muestra cada abazón se observó macroscópicamente y se describió y clasificó la reacción superficial de cada uno de los grupos de prueba de acuerdo a la siguiente tabla:

Reacción	Grado numérico
<hr/>	
Eritema y formación de escaras	
Sin eritema	0
Eritema muy leve (<i>poco perceptible</i>)	1
Eritema bien definido	2
Eritema moderado	3
Eritema severo (<i>enrojecimiento</i>)	4
Otros efectos adversos de tejido deben ser anotados y reportados	

Tabla 6. Clasificación sistemática de reacciones orales-evaluación macroscópica

Una vez realizada la evaluación macroscópica, se procedió a sacrificar humanitariamente a cada animal por medio de la aplicación intraperitoneal de una sobredosis de Pentobarbital sódico tal como lo recomienda de la NOM-062-ZOO1999. Después de comprobar la ausencia de signos vitales en los sujetos de prueba, se procedió a realizar la toma de muestra de la mucosa oral para el análisis histopatológico. Dicho análisis se realizará de manera independiente por cada grupo de prueba y se tomará como referencia la siguiente tabla:

Reacción	Grado numérico
Epitelio	
Normal, intacto	0
Degeneración tisular o aplanamiento	1
Metaplasia	2
Erosión focal	3
Erosión generalizada	4
 Infiltración de leucocitos (por campo de alta potencia)	
Ausente	0
Mínimo (menos de 25)	1
Leve (26 a 50)	2
Moderado (51 a 100)	3
Marcado (más de 100)	4
 Congestión vascular	
Ausente	0
Mínima	1
Leve	2
Moderada	3
Marcada (Vasos sanguíneos, ruptura)	4

Edema	
Ausente	0
Mínimo	1
Leve	2
Moderado	3
Marcado	4

Tabla 7. Sistema de clasificación de examen microscópico

Para obtener el grado de irritación con base en el análisis histopatológico de cada grupo, los resultados se clasificaron de acuerdo con la siguiente tabla:

Grado promedio	Descripción de la respuesta
0	Ninguno
1 a 4	Mínimo
5 a 8	Leve
9 a 11	Moderado
12 a 16	Severo

Tabla 8. Grado de irritación del análisis histopatológico

5.9 EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE RESIDENCIA “*in vivo*”

15 voluntarios reclutados conforme a los criterios de inclusión y exclusión que se mencionan en la tabla X, se les detallo el objetivo del ensayo mediante un acta de consentimiento informado aprobado por el comité de ética en investigación de Facisalud (Anexo 2). Siguiendo las normas de ISO 14155-1/2 y ISO 10993:C3, los parches placebo (No cargados de fármaco) de 1 cm² de área superficial fueron aplicados por el responsable del ensayo, para evitar el mal posicionamiento del

mismo por el sujeto de prueba, se aplicó haciendo presión por 5 segundos sobre la región gingival previa limpieza con gaza estéril.

Criterios de Inclusión	Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none"> • Todos los voluntarios deben ser mayores a 18 años de edad y menores de 45 años. 	<ul style="list-style-type: none"> • Personas con diagnóstico de alguna enfermedad oral (Aftas, Periodontitis, Gingivitis)
<ul style="list-style-type: none"> • Se podrá incluir ambos sexos: masculino y femeninos 	<ul style="list-style-type: none"> • Personas con alguna inflamación de garganta o infección en anginas
<ul style="list-style-type: none"> • No fumador 	<ul style="list-style-type: none"> • Personas con algún tratamiento ortodóntico

Tabla 9. Criterios de inclusión y exclusión de voluntarios al ensayo

Se les pidió a los individuos se quedarán dentro de las instalaciones del laboratorio de biomateriales donde se realizó monitoreo del mismo cada 15 minutos por 1 hora y cada hora por el tiempo restante de adhesión. El tiempo de residencia del parche fibroso se estableció hasta el momento en que el parche se despegó completamente del sitio donde fue aplicado (notificación del paciente).

Al finalizar el estudio, a cada voluntario se le entrego un cuestionario de aceptabilidad (Anexo 3), con la intención de recolectar información referente al parche como irritación, sabor, resequedad de área, salivación, malestar. Los alimentos y bebidas no estuvieron permitidos durante el ensayo.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES

6.1 PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES

- *Poli (vinil pirrolidona) (PVP)*: Se probaron diferentes concentraciones del polímero en un rango de 50 a 70% (p/v) para determinar cuál era la mejor concentración para la solución polimérica en la correcta incorporación de 8 mg dexametasona necesarios para una correcta evolución del paciente según la literatura (De la cruz Carranza, H. O. et al 2013), se observó que la concentración óptima para la producción de fibras después de la integración del fármaco era de 50% de PVP, acorde con los presentado por .
- *Poli (ϵ -caprolactona)/policarbofilo (PCL/PCF)*: de igual manera, se realizaron pruebas con diferentes concentraciones de PCL en un rango de 10 hasta 15% (w/v) y por separado pruebas de disolución del PCF de 0.1 a 1.5% (w/v) (Morales, J. O. et al 2011), observándose que para la correcta formación de las fibras era necesario una concentración de 10% de PCL/1.25% PCF.
- *Poli (ϵ -caprolactona) (PCL)*: por otra parte, se realizaron fibras de PCL al 10%, acorde con lo demostrado por Colley, H. E. et al 2018.

6.2 ELECTROHILADO

Las soluciones poliméricas fueron creadas en el dispositivo de electrohilado ensamblado en el laboratorio de biomateriales UABC/ECITEC ensamblado por Velasco et al. Las condiciones de electrohilado para cada solución polimérica son mostradas en la tabla 7.

	PVP	PVP/DEX	PCL	PCL/PCF
Voltaje	20 kv	20 kv	20 kv	20 kv
Distancia al colector	15 cm	15 cm	13 cm	13 cm
Flujo	0.36 ml/hr	0.36 ml/hr	0.8 ml/hr	0.8 ml/hr
Humedad	25 - 43 %	25 - 43 %	21 – 30 %	21 – 30 %
Temperatura	20 - 27 °C	20 - 27 °C	22 – 25 °C	22 – 25 °C

Tabla 10: condiciones de electrohilado por solución polimérica

La primera capa fue producida a través de la técnica de electrohilado a partir de 1 ml de solución de PVP al 50% (p/v) sobre una lámina de aluminio unida al colector, el andamio cargado con DEX-F fue producido con la misma técnica y polímero en las mismas proporciones añadiendo aproximadamente 8 mg de dexametasona a la solución previo a la técnica de electrohilado. Posterior a su electrohilado la primera capa fue recolectada en su totalidad para posteriormente plegarla sobre si misma hasta quedar con una dimensión de 1 cm de ancho por 1 cm de largo (Figura 10 a) (De la cruz Carranza, H. O. et al 2013).

La segunda capa se electrohilaron 2 ml de solución de PCL/PCF con una concentración 10%/1.25% respectivamente, sobre la primera capa plegada. Figura 10 b. La tercera capa fue electrohilada sobre las dos capas anteriores sin removerlas del colector, la solución polimérica utilizada fue de PCL al 10% (p/v) (Figura 10 c) (Colley, H. E. et al 2018).

Posteriormente, todo el sistema fue recolectado del aluminio con extremo cuidado para posteriormente recortarlo a las mismas dimensiones de la primera capa (Figura 10 d).

Posterior a la obtención del sistema completo, fue medido el grosor de este utilizando un Vernier de acero inoxidable (Blackbolt) calibrado en mm, dando como resultado 5.2 mm (Figura 10 e).

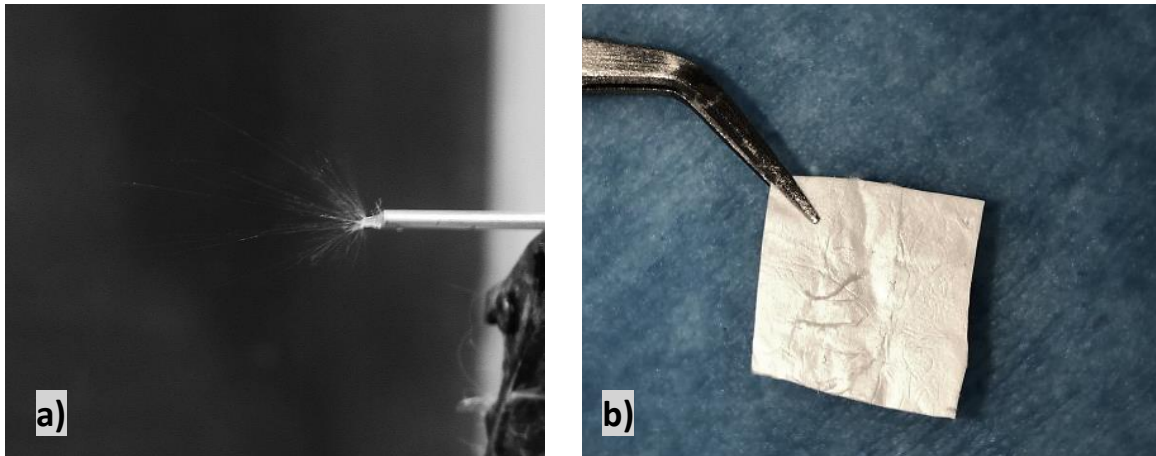


Figura 13. Proceso de electrohilado a) Electrohilado de la primera capa, b) Sistema mucoadhesivo acoplado.

6.3 ENSAYO CITOTOXICIDAD MTT “*in vitro*”

La citotoxicidad del parche fibroso fue evaluada a través del ensayo MTT, utilizando células mononucleares de sangre periférica y fibroblastos humanos HFF-1. La viabilidad celular fue calculada según Assmanna C. et al 2018, a través de la densidad óptica con la siguiente formula.

$$\%Vc = \left(\frac{\text{Abs Muestra}}{\text{Abs suspension celular}} \right) 100$$

Durante el ensayo se evaluaron el sistema mucoadhesivo placebo y cargado con 8 mg de dexametasona fosfato, así como de todos sus componentes por separado, exponiendo las líneas celulares a los materiales a evaluar por 24 horas.

- *Ensayo en Células mononucleares de sangre periférica (PBMC)*

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede observar que de forma general la viabilidad celular no se ve afectada por sus componentes individuales o

las mezclas de cada capa (2C: PCL/PCF) esto debido a que ha sido ampliamente documentado que los polímeros individuales tanto PVP, PCL, PCF se consideran compuestos biocompatibles y que no afectan de manera importante al crecimiento celular, por lo que los resultados de estos son congruentes con lo encontrado en la literatura.

Con respecto al sistema completo, los parches fibrosos sin cargar presentan una viabilidad celular correspondiente a la mezcla de los polímeros base (sin disminución significativa de la viabilidad celular), por otra parte el sistema cargado con dexametasona fosfato presenta una disminución del 13% en la viabilidad celular con respecto al sistema sin cargar, lo cual es congruente con la literatura debido a que la concentración de dexametasona es muy pequeña y se encuentra documentado que inhibe el crecimiento celular e induce apoptosis conforme aumenta la concentración. La grafica de barras y datos se encuentran en la Figura 14 (Jianming He et al. 2017).

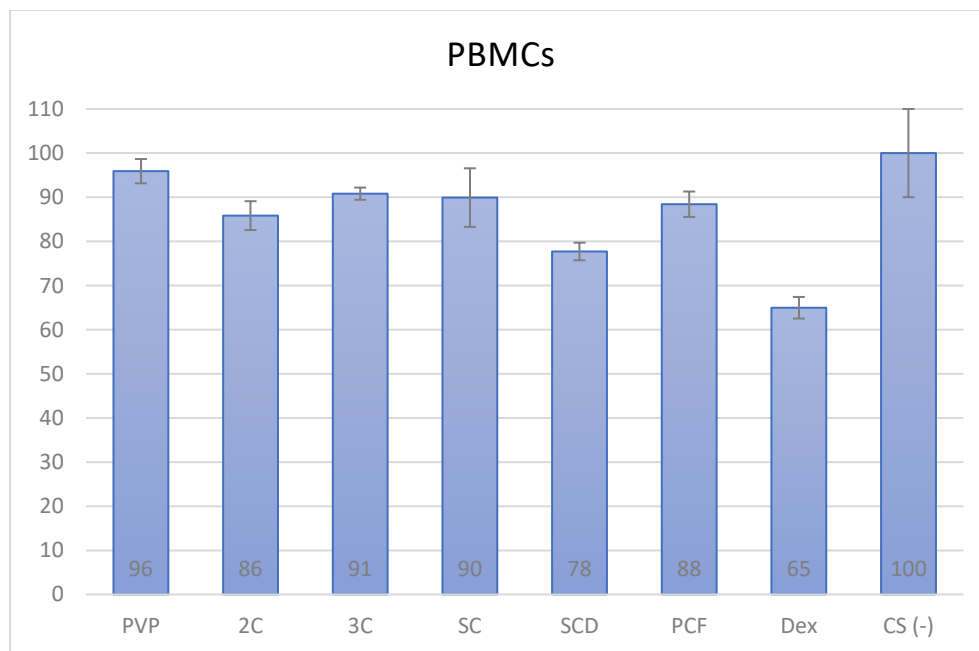


Figura 14. Resultados del ensayo cometa en PBMC

- *Ensayo en fibroblastos humanos HFF-1*

Después de realizar el mismo ensayo MTT en fibroblastos humanos HFF-1, los resultados fueron visiblemente parecidos a los realizados en las células mononucleares de sangre periférica, mostrándose un ligero aumento en la viabilidad celular tras la exposición al fármaco (Dexametasona fosfato 8mg) pasando del 65% en PBMC a 80% en HFF-1, los mismos resultados fueron observados tras la exposición al agente de bioadhesión PCF se observa el caso contrario una disminución del 10%, pasando de 88% en PBMC al 98% en HFF-1.

En términos generales los componentes individuales del crecimiento no presentan disminución significativa mientras que el sistema cargado con dexametasona fosfato presenta una disminución del 14% en la viabilidad celular con respecto al sistema sin cargar. De acuerdo a la Norma ISO 10993-5:2009 un material que presenta menos de 70% de viabilidad celular se considera como potencialmente citotóxico, por lo tanto, el grado de viabilidad celular en el sistema mucoadhesivo creado no es considerado toxico. Los resultados gráficos y sus datos son expresados en la figura 15.



Figura 15. Resultados del ensayo cometa en HFF-1

6.4 ENSAYO DE PERMEACIÓN “*ex vivo*”

Los ensayos de permeación se realizaron en celdas de difusión de Franz de volumen nominal de 7.5 mL (del compartimento receptor), controlando la temperatura a 37 ± 0.5 °C. el compartimento receptor fue llenado con solución amortiguadora PBS (Anexo 4). Después de colocadas los parches mucoadhesivos sobre la membrana mucosa (porcina) en el compartimento donador (área de 0.7854 cm²), se tomaron alícuotas a diferentes tiempos, analizadas posteriormente por HPLC por un Cromatógrafo Thermo Scientific Ultimate 3000 de inyección automática y detector ultravioleta-visible (UV-VIS) con columna analítica, RAININ (SPHERISORB 0DS2 COLUMN, 5 µm, 4.6 mm x 250 mm). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

La concentración inicial de dexametasona fosfato en detectada en el compartimento donador se observó a partir de la tercera hora del comienzo de la permeación, con una concentración total de 0.11 mg, la cual continuó aumentando como se muestra en la figura 16, hasta llegar a su pico a las 7 horas de iniciado el proceso con una concentración final de 0.94 mg de dexametasona fosfato permeada.

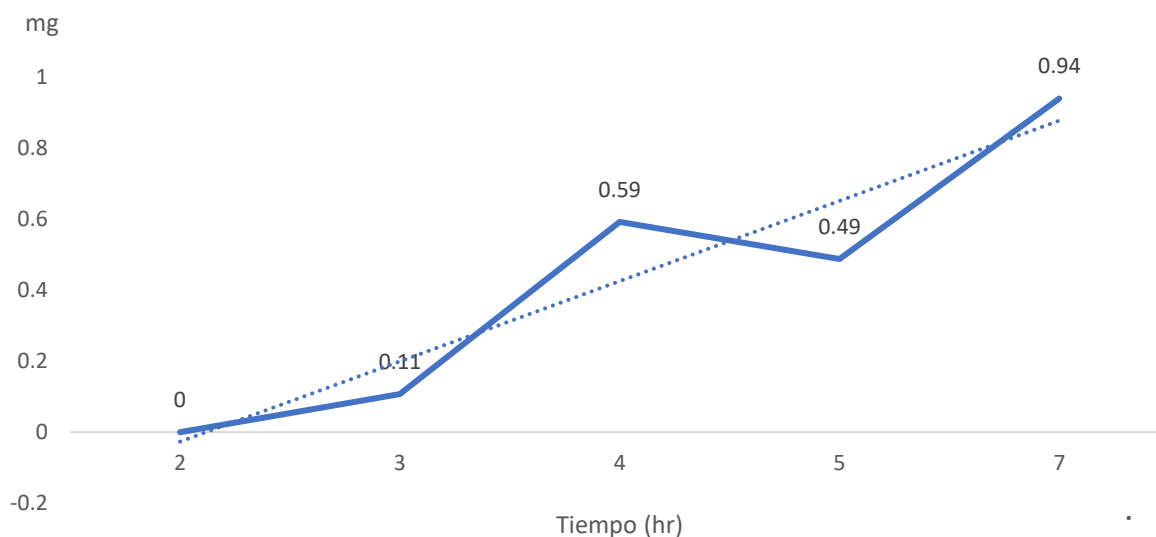


Figura 16. Permeabilidad de Dexametasona Fosfato en membrana oral porcina

Las concentraciones encontradas en el compartimento aceptor (*Permeada*), la superficie de la membrana (*No Permeada*) y la que se quedó *en membrana* fueron 0.94 ± 0.39 , 1.95 ± 0.65 y 5.11 ± 0.96 mg respectivamente. Estas concentraciones son expresadas en porcentaje en la figura 17.

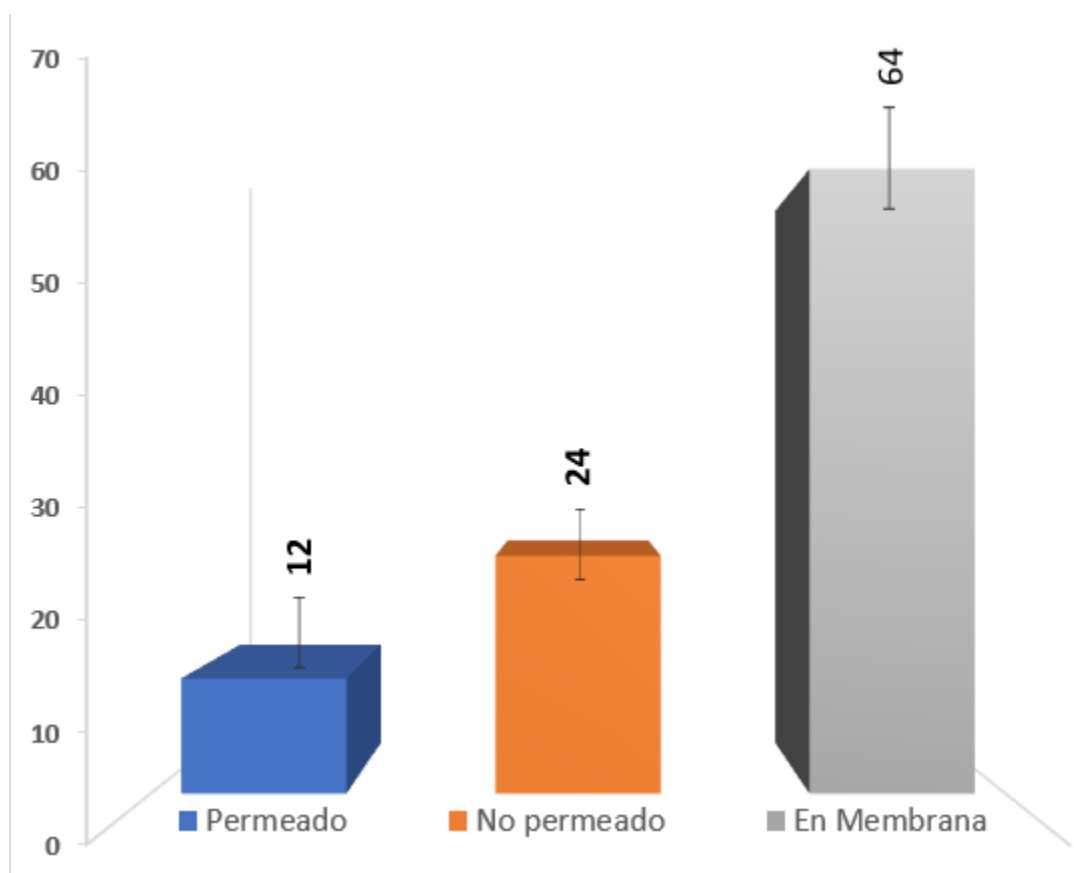


Figura 17. Porcentaje de Dexametasona Fosfato permeada, No permeada y en membrana en el ensayo ex vivo de permeabilidad

La cantidad de dexametasona fosfato permeada a través de la mucosa es congruente con la encontrada en otros estudios donde se muestra que la permeabilidad de este fármaco a través de diferentes membranas mucosas y piel es baja como se encontró en Veit JGS, 2022 y Duarah S, 2021

Por otra parte, los bajos resultados de permeabilidad fueron comparados con las predicciones arrojadas por el simulador SwissADME, el cual calcula diferentes parámetros relevantes de farmacocinética de las moléculas (Figura 18). Las predicciones obtenidas por el simulador arrojan una, baja absorción de la molécula DEX-P a través del tracto gastrointestinal, nula penetración de la misma a través de la barrera hematoencefálica y una permeación de 7.58×10^{-10} a través de la piel considerada como baja permeabilidad, lo cual concuerda con lo encontrado en Salt AN et al. 2018.

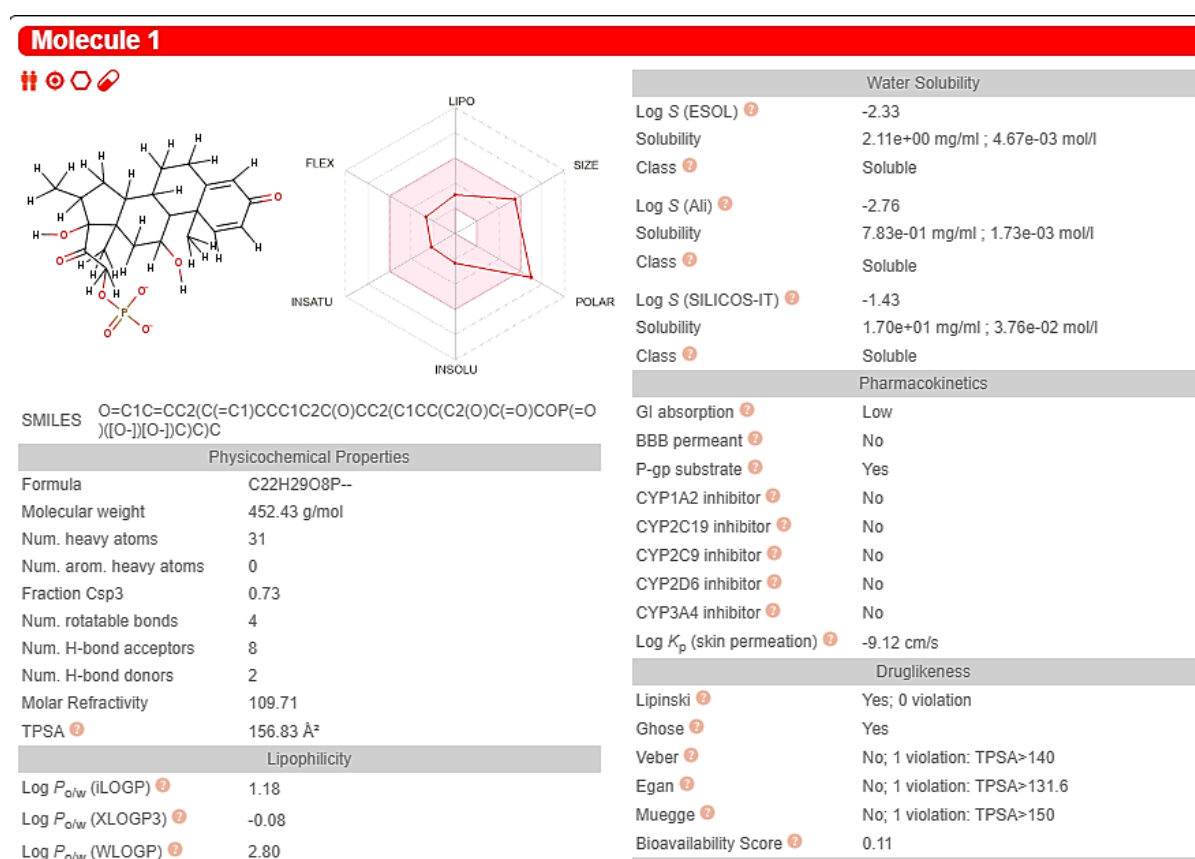


Figura 18. Predicción de parámetros arrojados de SwissADME para Dexametasona Fosfato

6.5 ENSAYO DE ADHESIVIDAD “*ex vivo*”

Para la realización de los ensayos de adhesión se utilizó un analizador de texturas Brookfield CT3 con una sonda cilíndrica como porta muestras y el accesorio TA-MA para pruebas de adhesión, las muestras fueron evaluadas mediante la determinación de la fuerza de desprendimiento, fuerza de unión y mucoadhesividad. Se utilizaron muestras de 1 cm cuadrado montadas en la sonda cilíndrica como se muestra en la figura 16. Inicialmente las muestras fueron evaluadas a diferentes tiempos de contacto de 30 a 15 segundos con una fuerza de 1N y una velocidad de desprendimiento de 1 mm/s, con la intención de determinar el tiempo de contacto adecuado para llevar a cabo el estudio, la cual fue de 120 segundos y de acuerdo a Woertzl el tiempo de contacto puede ser entre 30 a 600 segundos.

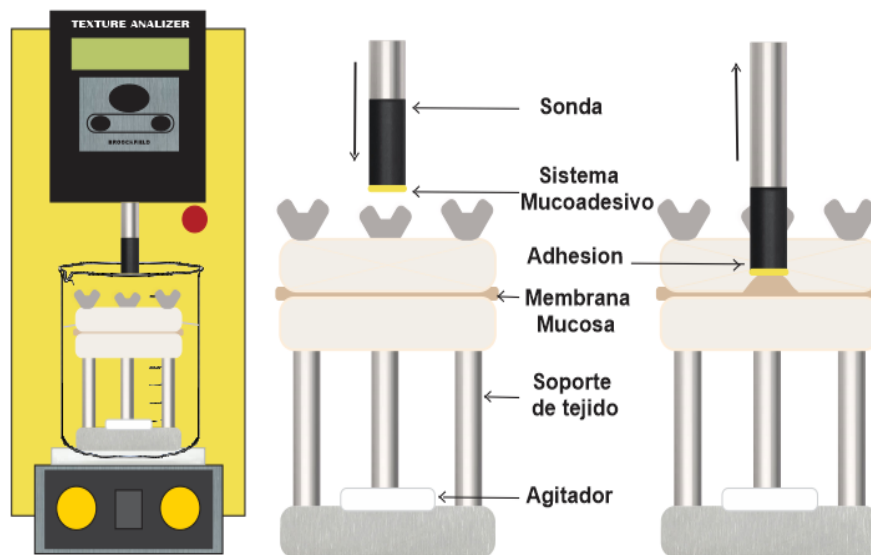


Figura 19. Diagrama del ensayo de mucoadhesión

Las fuerzas de desprendimiento para el sistema mucoadhesivo y las fibras de PCL fueron de 3.51 y 1.55 Newtons respectivamente. La fuerza de unión resultante obtenidas fueron 4.5 Ncm^{-2} para el sistema completo y 2.0 Ncm^{-2} para el PCL. Finalmente, la mucoadhesividad resultante para el sistema mucoadhesivo fue de 358 gr y 157 gr para las fibras de PCL. Los resultados son presentados en la figura 17.

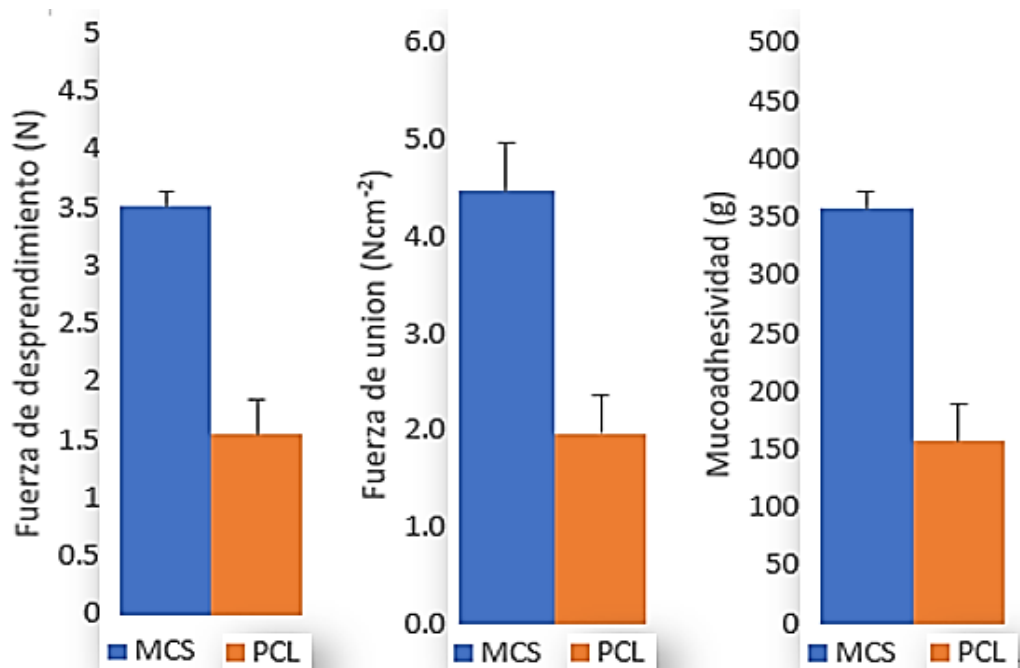


Figura 20. Grafica de resultados de propiedades adhesivas

Después de realizar la *Prueba t de Student* para muestras independientes se mostró que existen diferencias significativas entre las fuerzas de desprendimiento del sistema adhesivo y las fibras de PCL. Los resultados obtenidos durante este ensayo de acuerdo con los estudios publicados por El-Nabarawi et al. son propiedades apropiadas para un sistema adhesivo, las cuales pueden ser atribuidas al diámetro de fibra del sistema mucoadhesivo, aumentando el área de superficie disponible para entrecruzamiento entre las nanofibras y la red de mucinas de la mucosa oral, aunado a esto el sistema completo contiene PCF, conocido por sus propiedades adhesivas gracias a la presencia de grupos carboxilos expuestos que forman puentes de hidrogeno con las mucinas en el tejido mucoso, incrementando también las interacciones hidrofóbicas y las fuerzas de Van der Waals de acuerdo con Chatterjee et al.

6.6 ENSAYO DE BIOCOMPATIBILIDAD “*in vivo*”

Los animales de prueba fueron monitoreados para evaluar cualquier cambio en el comportamiento de sujeto que indicara dolor o incomodidad. Una vez que los

sujetos de prueba fueron sacrificados, la apariencia macroscópica del abazón de fue revisada posterior a la exposición de las nanofibras durante 8 horas. De acuerdo al especialista veterinario no se encontraron cambios visibles, inflamación o enrojecimiento del tejido expuesto. Se realizó la extracción quirúrgica del abazón y se tomaron las muestras histopatológicas para evaluación microscópica.

Los cortes histopatológicos preservados en formaldehído al 10% fueron evaluados por un especialista en el área en busca de Infiltración leucocitaria, Congestión Vascular y Edema, para esto las muestras fueron colocadas en un bloque de parafina y posteriormente seccionadas y teñidas con hematoxilina/eosina.

Las muestras fueron evaluadas conforme a los criterios mencionados en las tablas x y x en observación de animales. La mucosa del abazón izquierdo (sin parche) que intencionalmente fueron dejados como controles negativos para cada hámster se encontró sin cambios aparentes en todos los casos. Los resultados encontrados en las muestras son observados en la tabla 9. de donde se puede observar que la capa mucoadhesiva del sistema de liberación presento mínima respuesta celular, edema y congestión vascular en correlación con lo encontrado en la literatura, ya que estos polímeros son altamente biocompatibles con los tejidos donde son implantados (aceptados por la FDA).



Figura 21. Implantación de sistema mucoadhesivo en hamsters

No.	ID CASO	INF. INFLAMATORIO	CONGESTIÓN VASCULAR	EDEMA	GRADO	RESPUESTA	PROM
SCD	A1A	1	1	1	3	MÍNIMA	7
	A1B	2	2	1	5	LEVE	
	A2A	4	2	2	8	LEVE	
	A2B	3	3	3	9	MODERADA	
	A3A	4	3	3	10	MODERADA	
	A3B	2	2	2	6	LEVE	
SC	B1A	1	1	1	3	MÍNIMA	5
	B1B	1	1	1	3	MÍNIMA	
	B2A	3	1	1	5	LEVE	
	B2B	1	3	1	5	LEVE	
	B3A	2	1	1	4	MÍNIMA	
	B3B	4	3	1	8	LEVE	
PCL/ PCF	C1A	3	2	2	7	LEVE	4
	C1B	1	1	1	3	MÍNIMA	
	C2A	1	1	1	3	MÍNIMA	
	C2B	1	1	1	3	MÍNIMA	
	C3A	1	1	1	3	MÍNIMA	
	C3B	1	1	1	3	MÍNIMA	

Tabla 11. Resultados observados en los cortes histopatológicos

Por otra parte, la respuesta inflamatoria del tejido expuesto al sistema completo (PVP, PCL, PCF) fue de mínima a leve y congestión vascular, encontrándose una respuesta mínima en edema.

Por último, el análisis de los cortes histopatológicos (Figura 19) del sistema mucoadhesivo cargado con dexametasona demostró tener una respuesta más elevada en relación a todos los parámetros con respecto a las muestras anteriores, esto se encuentra relacionado con la presencia de dexametasona y el policarbofilo en el sistema fibroso.

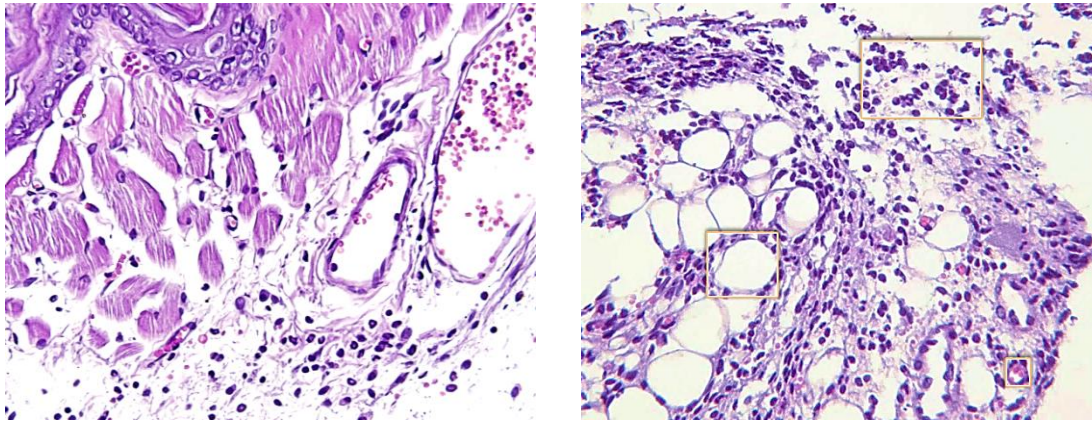


Figura 22. cortes histopatológicos teñidos con hematoxilina/eosina

En un aspecto general de acuerdo con el médico Histopatólogo encargado del realizar la evaluación microscópica de las muestras, no hay disrupción epitelio, no se presentan ulceraciones, no se observa necrosis ni patrones alérgicos, es decir, en un panorama más amplio no se observa un daño considerable en los tejidos.

6.7 EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD Y TIEMPO DE RESIDENCIA “*in vivo*”

Antes de probar el sistema mucoadhesivo en los voluntarios del ensayo en humanos, la citotoxicidad de los parches fue evaluada “*in vitro*” en células monucleadas de sangre periférica y en fibroblastos HFF-1, así como “*in vivo*” en la mucosa de hámsteres de siria. Los resultados del ensayo MTT muestran que los parches no disminuyen significativamente, por lo que clasifica como no irritante de acuerdo a las guías establecidas, del mismo modo, los ensayos “*in vivo*” no muestran daño considerable conforme los esquemas de la norma ISO 10993:5.

El ensayo de tiempo de residencia “*in vivo*” se realizó en 15 voluntarios adultos sanos de edades entre los 18 y 45 años, de acuerdo con los criterios de exclusión mencionados en la técnica descrita en la sección Materiales y Métodos. El tiempo de residencia del sistema mucoadhesivo fue evaluado en la gingiva labial superior por 180 minutos supervisando cada 15 minutos la primera hora.



Figura 23. Posicionamiento del sistema mucoadhesivo en la gingiva y degradación del mismo

Al finalizar el ensayo se les pidió a todos los voluntarios que contestaran un cuestionario de evaluación del parche (Anexo 3), las respuestas en porcentaje se encuentran descritas en la tabla 10. Durante el cuestionario se preguntó al voluntario si alguna vez, ha dejado de tomar algún medicamento como tableta o capsula por falta de agua o algún líquido para deglutir dicho medicamento, a lo que el 93% de los encuestados contesto: *Si*.

Parámetro	Criterio	Respuesta del voluntario (%)
Tiempo de desprendimiento	< 30 minutos	13.33
	30 min – 1 hora	20
	1 hora – 2 horas	26.66
	2 horas – 3 horas	40
Tamaño de parche	Adecuado	93.33
	Grande	6.66
	Pequeño	-
Comodidad del parche	Excelente	66.66
	Buena	33.33
	Mala	-

Sabor del parche	Insaboro	20
	Sabor ligero	66.66
	Desagradable	13.33
Facilidad de aplicación	Fácil	20
	Poco fácil	80
	Difícil	-
Irritación de la zona de aplicación	Muy irritada	-
	Poco irritada	-
	Sin irritación	100
Boca seca	Excesiva	-
	Poca	-
	No resequedad	100
Salivación	Excesiva	-
	Regular	93.33
	Disminuida	6.66
Interferencia con el habla	Ninguna	80
	Poca	20
	Mucha	-
Interferencia al pasar saliva	Ninguna	93.33
	Poca	6.66
	Mucha	-

Tabla 12. Resultados del cuestionario de aceptación

De acuerdo con los resultados obtenidos durante la evaluación del tiempo de residencia el promedio de retención del parche en el sitio aplicado fue de 106 ± 48 minutos, que de acuerdo con lo publicado por Colley HE en 2018, la adhesión evaluada in vitro es generalmente menor que la adhesión evaluada in vivo, aunque

muy pocos ensayos se han realizado en humanos, el tiempo de adhesión en tejido vivo se ve extendido gracias a la aumentada área de superficie que proveen las nanofibras del sistema mucoadhesivo así como a la presencia del PCF conocido por sus propiedades como agente adhesivo.

En termino de percepción por parte de los voluntarios del ensayo 14 de 15 voluntarios mencionaron que el tamaño del parche era el adecuado, de los cuales 10 identificaron el parche como excelente respecto a comodidad, mientras que el resto (5 voluntarios) menciono como buena. Por otra parte, 10 de los voluntarios (66%) mencionaron que el parche poseía un sabor ligero, 3 de ellos (20%) insaboro y 2 (13.33%) lo consideraron como un sabor desagradable, el sabor en algunos casos se debe a la presencia de un cuerpo extraño en la mucosa del individuo y en algunas ocasiones a residuos de muy baja concentración del solvente utilizado para la fabricación del mismo.

Dentro de los resultados se evaluó la facilidad de aplicación donde la mayoría de los voluntarios (80%) considero que era poco fácil de aplicar y el resto menciono que era relativamente fácil, la aplicación del parche (mencionaron) era poco fácil debido a el área donde debían aplicarlo, además de no poseer ninguna experiencia en el manejo de parches o algún tipo de sistema de liberación parecido. Ninguno de los participantes menciono presentar irritación o resequedad en el área de aplicación. En el parámetro de salivación la mayoría de los participantes (93%) comentaron que no se ve afectada, a su vez 12 de los participantes (80%) menciono que el uso del parche no interfirió con el habla, mientras que el resto opino que interfiere poco, la consideración de la interferencia con el habla según Abdelhakim HE, se debe a la sensación de un cuerpo extraño dentro de la boca y la percepción del voluntario de evitar hablar para evitar el movimiento del mismo.

VII. CONCLUSIONES

Durante el presente trabajo de investigación se logró evaluar biológicamente un sistema mucoadhesivo para su potencial uso en la liberación de dexametasona. Este logro se consiguió mediante la integración de diferentes andamios de fibras poliméricas, fabricadas mediante la técnica de electrohilado.

El sistema mucoadhesivo fue diseñado y construido por 3 capas: Capa de liberación (PVP 50%, DEX 8 mg), Capa de adhesión (PCL 10%, PCF 1.25%) y Capa impermeable (PCL 10%).

Los ensayos prueban un excelente set de propiedades adhesivas por parte del sistema fibroso, además de no presentan disminución significativa en la viabilidad celular en los ensayos “*in vitro*” en células mononucleadas, así como en fibroblastos humanos. Aunado a esto los ensayo “*in vivo*” no muestran daño considerable sobre el tejido expuesto al sistema adhesivo. Por otra parte, el tiempo de adhesión es considerados como aceptable para la liberación rápida de la dexametasona.

La evaluación de la percepción de la utilización del sistema mucoadhesivo obtuvo excelentes resultados, con una buena aceptación por parte de los individuos que participaron en el estudio.

Los resultados encontrados en los ensayos de permeabilidad congruentes con las predicciones de el simulador del SwissADME, demuestran que la permeabilidad del sistema de liberación a través de la mucosa es baja, y que la mayor parte de la concentración del sistema de liberación es retenida dentro de la membrana oral.

En base a los hallazgos observados durante los ensayos realizados durante este proyecto se considera que el sistema mucoadhesivo fibroso es eficiente para liberación de dexametasona unidireccionalmente en la mucosa oral.

VIII. REFERENCIAS

1. Ahmed FE, Lalia BS, Hashaikeh R. A review on electrospinning for membrane fabrication: Challenges and applications. *Desalination*. 2015;356:15-30. doi:10.1016/j.desal.2014.09.033
2. Andersen ME, Al-Zoughool M, Croteau M, Westphal M, Krewski D. The future of toxicity testing. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*. 2010 Feb;13(2-4):163-96. doi: 10.1080/10937404.2010.483933
3. Anderson JM. Future challenges in the in vitro and in vivo evaluation of biomaterial biocompatibility. *Regen Biomater*. 2016 Jun;3(2):73-7. doi: 10.1093/rb/rbw001
4. Andrews GP, Lavery TP, Jones DS. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *Eur J of pharm and biopharma*. 2009;71 (505-518). <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.09.028>
5. Bansil R, Turner BS. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science Vol 11*. 2006 (164-170) ISSN 1359-0294. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.11.001>.
6. Bansil R, Turner BS. The biology of mucus: Composition, synthesis and organization. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018 Jan 15;124:3-15. doi: 10.1016/j.addr.2017.09.023.
7. Beachley V, Wen X. Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2009;29(3):663-668. doi:10.1016/j.msec.2008.10.037
8. Bhardwaj N, Kundu SC. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnol Adv*. 2010;28(3):325-347. doi:10.1016/j.biotechadv.2010.01.004

9. Boddupalli B, Mohammed Z., Nath R, Banji D. Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *J Adv Pharm Technol Res.* 2010;1(4):381. doi:10.4103/0110-5558.76436
10. Bonser LR, Erle DJ. Putting Mucins on the Map. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019 Mar 15;199(6):681-682. doi: 10.1164/rccm.201809-1818ED
11. Brako F, Thorogate R, Mahalingam S, Raimi-Abraham B, Craig DQM, Edirisinghe M. Mucoadhesion of Progesterone-Loaded Drug Delivery Nanofiber Constructs. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2018:acsami.8b03329. doi:10.1021/acsami.8b03329
12. Byrd JC, Bresalier RS. Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2004 Jan-Jun;23(1-2):77-99. doi: 10.1023/a:1025815113599
13. Campisi G, Paderni C, Saccone R, Di Fede O, Wolff a, Giannola LI. Human buccal mucosa as an innovative site of drug delivery. *Curr Pharm Des.* 2010;16(6):641-652. doi:10.2174/138161210790883778
14. Chaturvedi M, Kumar M, Pathak K. A review on mucoadhesive polymer used in nasal drug delivery system. *J Adv Pharm Technol Res.* 2011;2(4):215. doi:10.4103/2231-4040.90876
15. Chen YS, Squier CA. Ultrastructure of oral squamous-cell. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 2004 Nov;44(5):744-53. doi: 10.1016/0030-4220(77)90384-x.
16. Colley HE, Said Z, Santocildes-Romero ME, et al. Pre-clinical evaluation of novel mucoadhesive bilayer patches for local delivery of clobetasol-17-propionate to the oral mucosa. *Biomaterials.* 2018;178:134-146. doi:10.1016/j.biomaterials.2018.06.009

17. Corfield AP. Mucins: a biologically relevant glycan barrier in mucosal protection. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Jan;1850(1):236-52. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.05.003
18. Dhanisha SS, Guruvayoorappan C, Drishya S, Abeesh P. Mucins: Structural diversity, biosynthesis, its role in pathogenesis and as possible therapeutic targets. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018 Feb;122:98-122. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.12.006
19. De la Cruz Carranza HO, Asmat Abanto AS, Guerrero Guevara R. Efectividad del tratamiento profiláctico con dexametasona de 8 y 4 mg para controlar el edema poscirugía de terceros molares incluidos: ensayo clínico aleatorizado de grupos en paralelo. *Rev Española Cirugía Oral y Maxilofac*. 2013;35(4):157-161. doi:10.1016/j.maxilo.2013.05.006
20. Deepak A, Kumar A, Rath GG. Nanofiber in transmucosal drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2018;43 (379-387). doi: 10.1016/j.jddst.2017.11.008
21. Dott C, Tyagi C, Tomar LK, et al. A mucoadhesive electrospun nanofibrous matrix for rapid oramucosal drug delivery. *J Nanomater*. 2013;2013. doi:10.1155/2013/924947
22. Duque Sánchez LM, Rodríguez L, López M. Electrospinning: The Nanofibers Age. *Rev Iberoam Polímeros Vol Iber Polímeros*. 2014;14(141):10-27. <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/ENE13/duque.pdf>.
23. Duarah S, Sharma M, Wen J. Rapid and simultaneous determination of dexamethasone and dexamethasone sodium phosphate using HPLC-UV: Application in microneedle-assisted skin permeation and deposition studies. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2021 Apr 30;1170:122609. doi: 10.1016/j.jchromb.2021.122609

24. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007 Jun;35(4):495-516. doi: 10.1080/01926230701320337
25. Escobar-Chavez JJ, Merino-Sanjuan V, Lopez-Cervantes M, et al. The tape-stripping technique as a method for drug quantification in skin. *J Pharm Pharm Sci.* 2008;11(1):104-130. doi:10.1016/j.ijpharm.2004.05.016
26. Fieldson G, Barbari TA. The Use of FTIR-ATR Spectroscopy to Characterize Diffusion in Polymers. Vol 34.; 1993. doi:10.1016/0032-3861(93)90765-3
27. Garg K, Bowlin GL. Electrospinning jets and nanofibrous structures. *Biomicrofluidics.* 2011;5(1):1-19. doi:10.1063/1.3567097
28. Giardino R, Fini M, Nicoli AN, Parrilli A. Testing the in vivo biocompatibility of biocomposites. *Biomedical Composites. Pub Srs in Biomaterials.* 2017; (2): 357-374. doi:10.1016/B978-0-08-100752-5.00016-0
29. Grewal H, Dhakate SR, Goyal AK, Markandeywar TS, Malik B, Rath G. Development of transmucosal patch using nanofibers. *Artif Cells, Blood Substitutes, Biotechnol.* 2012;40(1-2):146-150. doi:10.3109/10731199.2011.637924
30. Haider A, Haider S, Kang IK. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arab J Chem.* 2018; 11(8):1165-1188 doi:10.1016/j.arabjc.2015.11.015
31. Hao J, Heng PWS. Buccal delivery systems. *Drug Dev Ind Pharm.* 2003;29(8):821-832. doi:10.1081/DDC-120024178
32. Harding SE. Mucoadhesive interactions. *Biochem Soc Trans.* 2003;31(5):1036-1041. doi:10.1042/BST0311036

33. Hombach J, Bernkop-Schnürch A. Mucoadhesive drug delivery systems. *Handb Exp Pharmacol.* 2010;(197):251-66. doi: 10.1007/978-3-642-00477-3_9.
34. Hu X, Liu S, Zhou G, Huang Y, Xie Z, Jing X. Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. *J Control Release.* 2014;185(1):12-21. doi:10.1016/j.jconrel.2014.04.018
35. Huang ZM, Zhang YZ, Kotaki M, Ramakrishna S. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Compos Sci Technol.* 2003;63(15):2223-2253. doi:10.1016/S0266-3538(03)00178-7
36. Huzum B, Puha B, Necoara RM, Gheorghevici S, Puha G, Filip A, Sirbu PD, Alexa O. Biocompatibility assessment of biomaterials used in orthopedic devices: An overview (Review). *Exp Ther Med.* 2021 Nov;22(5):1315. doi: 10.3892/etm.2021.10750
37. Islam TU, Gandhi PS. Viscous Fingering in Multiport Hele Shaw Cell for Controlled Shaping of Fluids. *Sci Rep.* 2017;7(1):16602. Published 2017 Nov 30. doi:10.1038/s41598-017-16830-3
38. Jurak M, Wiącek AE, Ładniak A, Przykaza K, Szafran K. What affects the biocompatibility of polymers? *Adv Colloid Interface Sci.* 2021 Aug;294:102451. doi: 10.1016/j.cis.2021.102451.
39. Khalf A, Madihally S V. Recent advances in multi-axial electrospinning for drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm.* 2017;112:1-17. doi:10.1016/j.ejpb.2016.11.010
40. Khutoryanskiy VV. Advances in mucoadhesion and mucoadhesive polymers. *Macromol Biosci.* 2011 Jun 14;11(6):748-64. doi: 10.1002/mabi.201000388.

41. Koirala S, Nepal P, Ghimire G, Basnet R, Rawat I, Dahal A, Pandey J. Formulation and evaluation of mucoadhesive buccal tablets of aceclofenac. *Heliyon*. 2021; 7(3) e06439. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06439>.
42. Lam JKW, Cheung CCK, Chow MYT, et al. Transmucosal drug administration as an alternative route in palliative and end-of-life care. *Adv Drug Deliv Rev*. 2020;160:234-243. doi:10.1016/j.addr.2020.10.018
43. Linden SK, Sutton P, Karlsson NG, Korolik V, McGuckin MA. Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunol*. 2008 May;1(3):183-97. doi: 10.1038/mi.2008.5
44. Luo T, Gao L, Chen X, Xu K, Niu M. Genotoxicity of Nanocarriers. *Curr Drug Metab*. 2018;19(2):110-123. doi: 10.2174/1389200218666171031122346
45. Ma J, Rubin BK, Voynow JA. Mucins, Mucus, and Goblet Cells. *Chest*. 2017. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chest.2017.11.008>
46. Mansuri S, Kesharwani P, Jain K, Tekade RK, Jain NK. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system. *React Funct Polym*. 2016;100:151-172. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2016.01.011
47. Marin E, Boschetto F, Pezzotti G. Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. *J Biomed Mater Res A*. 2020 Aug 1;108(8):1617-1633. doi: 10.1002/jbm.a.36930.
48. Melhem H, Regan-Komito D, Niess JH. Mucins Dynamics in Physiological and Pathological Conditions. *Int J Mol Sci*. 2021 Dec 20;22(24):13642. doi: 10.3390/ijms222413642.
49. Moharamzadeh K. Biocompatibility of oral care products. *Biocompatibility of Dental Biomaterials*. 2017, Pages 113-129. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100884-3.00008-4>

50. Morales JO, McConville JT. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films. *Eur J Pharm Biopharm.* 2011;77(2):187-199. doi:10.1016/j.ejpb.2010.11.023
51. Nafee NA, Ismail FA, Boraie NA & Mortada LM. Mucoadhesive Delivery Systems. I. Evaluation of Mucoadhesive Polymers for Buccal Tablet Formulation. *Drug Development and Industrial Pharmacy.* 2004;30:9, 985-993. DOI: 10.1081/DDC-200037245
52. Patel VF, Liu F, Brown MB. Advances in oral transmucosal drug delivery. *J Control Release.* 2011 30;153(2):106-16. doi: 10.1016/j.jconrel.2011.01.027.
53. Pather SI, Rathbone MJ, Senel S. Current status and the future of buccal drug delivery systems. *Expert Opin Drug Deliv.* 2008 May;5(5):531-42. doi:10.1517/17425247.5.5.531.
54. Petrou G , Cruzier T . Mucins as multifunctional building blocks of biomaterials. *Biomater Sci.* 2018 Aug 21;6(9):2282-2297. doi: 10.1039/c8bm00471d
55. Rajaram DM and Laxman SD. Buccal Mucoadhesive Films: A Review. *Sys Rev Pharm.* 2017;8(1):31-38. <https://doi.org/10.5530/srp.2017.1.7>
56. Raut HK, Das R, Liu Z, Liu X, Ramakrishna S. Biocompatibility of Biomaterials for Tissue Regeneration or Replacement. *Biotechnol J.* 2020 Dec;15(12):e2000160. doi: 10.1002/biot.202000160.
57. Roggen EL. In vitro Toxicity Testing in the Twenty-First Century. *Front Pharmacol.* 2011;2:3. Published 2011 Feb 7. doi:10.3389/fphar.2011.00003
58. Rossi S, Sandri G, Caramella CM. Buccal drug delivery: A challenge already won? *Drug Discov Today Technol.* 2005;2(1):59-65. doi:10.1016/j.ddtec.2005.05.018

59. Roy SK, Prabhakar B. Bioadhesive polymeric platforms for transmucosal drug delivery systems - A review. *Trop J Pharm Res.* 2010;9(1):91-104. doi:10.4314/tjpr.v9i1.52043
60. Russo E, Selmin F, Baldassari S, et al. Journal of Drug Delivery Science and Technology A focus on mucoadhesive polymers and their application in buccal dosage forms. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2016;32:113-125. doi:10.1016/j.jddst.2015.06.016
61. Salamat-Miller N, Chittchang M, Johnston TP. The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005;57(11):1666-1691. doi:10.1016/j.addr.2005.07.003
62. Salt AN, Hartsock JJ, Piu F, Hou J. Dexamethasone and Dexamethasone Phosphate Entry into Perilymph Compared for Middle Ear Applications in Guinea Pigs. *Audiol Neurootol.* 2018;23(4):245-257. doi: 10.1159/000493846.
63. Sattar M, Sayed OM, Lane ME. Oral transmucosal drug delivery--current status and future prospects. *Int J Pharm.* 2014 Aug 25;471(1-2):498-506. doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.05.043
64. Schattling P, Taipaleenmäki E, Zhang Y, Städler B. A Polymer Chemistry Point of View on Mucoadhesion and Mucopenetration. *Macromol Biosci.* 2017 Sep;17(9). doi: 10.1002/mabi.201700060
65. Shaikh R, Raj Singh T, Garland M, Woolfson Ad, Donnelly R. Mucoadhesive drug delivery systems. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(1):89. doi:10.4103/0975-7406.76478
66. Shinkar DM, Dhake AS, Setty CM. Drug Delivery from the Oral Cavity: A Focus on Mucoadhesive Buccal Drug Delivery Systems. *PDA J Pharm Sci Technol.* 2013;66(5):466-500. doi:10.5731/pdajpst.2012.00877

67. Singh R, Sharma D, Garg R. Review on Mucoadhesive Drug Delivery System with Special Emphasis on Buccal Route: An Important Tool in Designing of Novel Controlled Drug Delivery System for the Effective Delivery of Pharmaceuticals. *J Dev Drugs*. 2017;06(01):1-12. doi:10.4172/2329-6631.1000169
68. Smart JD. Buccal drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv*. 2005;2(3):507-517. doi:10.1517/17425247.2.3.507
69. Smart JD. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv Drug Deliv Rev*. 2005;57(11):1556-1568. doi:10.1016/j.addr.2005.07.001
70. Sofi HS, Abdal-Hay A, Ivanovski S, Zhang YS, Sheikh FA. Electrospun nanofibers for the delivery of active drugs through nasal, oral and vaginal mucosa. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020 Jun;111:110756. doi:10.1016/j.msec.2020.110756
71. Sudhakar Y, Kuotsu K, Bandyopadhyay AK. Buccal bioadhesive drug delivery - A promising option for orally less efficient drugs. *J Control Release*. 2006;114(1):15-40. doi:10.1016/j.jconrel.2006.04.012
72. Sun X, Abioye RO, Okagu OD, Udenigwe CC. Peptide-Mucin Binding and Biosimilar Mucus-Permeating Properties. *Gels*. 2021 Dec 21;8(1):1. doi:10.3390/gels8010001.
73. Thakkar S, Misra M. Electrospun polymeric nanofibers: New horizons in drug delivery. *Eur J Pharm Sci*. 2017;107(July):148-167. doi:10.1016/j.ejps.2017.07.001
74. Tyagi C, Tomar L, Choonara YE, Toit LC Du, Kumar P, Pillay V. Electrospun Nanofiber Matrix with a Mucoadhesive Backing Film for Oramucosal Drug Delivery. *Int J Mater Mech Manuf*. 2014;2(1):81-85. doi:10.7763/IJMMM.2014.V2.105

75. Valizadeh A, Mussa Farkhani S. Electrospinning and electrospun nanofibres. *IET Nanobiotechnology*. 2014;8(2):83-92. doi:10.1049/iet-nbt.2012.0040
76. Varghese J, Sakho HM, Parani S, Thomas S. Introduction to nanomaterials: synthesis and applications. *Nanomaterials for Solar Cell Applications*. 2019;75-95. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813337-8.00003-5>
77. Veit JGS, Birru B, Wang Y, Singh R, Arrigali EM, Park R. An Evaluation of the Drug Permeability Properties of Human Cadaveric In Situ Tympanic and Round Window Membranes. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022 Aug 23;15(9):1037. doi: 10.3390/ph15091037.
78. Velasco Barraza RD, Álvarez Suarez AS, Villarreal Gómez LJ, Paz González JA, Iglesias AL, Vera Graziano R. Designing a Low Cost Electrospinning Device for Practical Learning in a Bioengineering Biomaterials Course. *Rev Mex Ing Biomédica*. 2016;37(1):7-16. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61943766002>.
79. Verma S. Polymers in designing the mucoadhesive films: A comprehensive review. 2018;12 (2). <https://doi.org/10.22377/ijgp.v12i02.1783>
80. Wang C, Wang J, Zeng L, Qiao Z, Liu X, Liu H, Zhang J, Ding J. Fabrication of Electrospun Polymer Nanofibers with Diverse Morphologies. *Molecules*. 2019 Feb 26;24(5):834. doi: 10.3390/molecules24050834.
81. Woodley J. Bioadhesion: new possibilities for drug administration. *Clin Pharmacokinet*. 2001;40(2):77-84. doi: 10.2165/00003088-200140020-00001.
82. Xu Y, Kim C-S, Saylor DM, Koo D. Polymer degradation and drug delivery in PLGA-based drug–polymer applications: A review of experiments and theories. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*. 2017;105(6):1692-1716. doi:10.1002/jbm.b.33648

83. Yu, T., Andrews, G. P., & Jones, D. S. Mucoadhesion and Characterization of Mucoadhesive Properties. *Mucosal Delivery of Biopharmaceuticals* 2014;35–58. doi:10.1007/978-1-4614-9524-6_2
84. Zhang H, Zhang J, Streisand JB. Oral mucosal drug delivery: clinical pharmacokinetics and therapeutic applications. *Clin Pharmacokinet.* 2012;41(9):661-80. doi: 10.2165/00003088-200241090-00003

IX. ANEXOS

ANEXO 1. CRONOGRAMA

Actividades (Bimestral)	1	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24
Revisión de literatura	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Escritura de Tesis	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Síntesis de nanofibras de PVP a través de la técnica de electrohilado	x	x										
Mucoadhesión “ <i>in vitro</i> ” (Analizador de texturas Brookfield CT3)			x									
Biocompatibilidad “ <i>in vitro</i> ” de las nanofibras de PVP/DEX-F (ensayo citotoxicidad: Lf/Mc).				x	x							
Biocompatibilidad “ <i>in vivo</i> ” de las nanofibras de PVP/DEX-F (ensayo sensibilidad: Ratones Balb/c)						x						
Permeación “ <i>ex vivo</i> ” (Células de difusión vertical de Franz)						x						
Tiempo de residencia “ <i>in vivo</i> ” y aceptación del paciente (6 voluntarios sanos)							x					
Análisis de resultados				x	x	x	x	x	x	x		
Publicación de artículo científico										x	x	
Defensa de Tesis												x

ANEXO 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERIA Y TECNOLOGIA UNIDAD VALLE DE LAS PALMAS

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre del Protocolo	:	<u>Evaluación de la eficacia de un sistema mucoadhesivo multicapa para la liberación de fármaco en la mucosa oral</u>
Financiamiento:	:	<u>Universidad Autónoma de Baja California</u>
Investigador Responsable	:	<u>Dr. Luis Jesús Villarreal Gómez</u>
Depto.	:	<u>Bioingeniería</u>
Correo Electrónico	:	<u>Perez.graciela@uabc.edu.mx</u>
Teléfono de Contacto	:	<u>(664) 328 2337</u>

El propósito de esta información es ayudarle a tomar la decisión de participar -o no-, en una investigación científica.

Tome el tiempo que requiera para decidirse, lea cuidadosamente este documento y hágale las preguntas que desee al personal encargado de este estudio.

Este estudio está siendo financiado por la Universidad Autónoma de Baja California –Facultad de ciencias de la ingeniería y tecnología por la realización del mismo.

El propósito de este estudio de carácter preclínico es evaluar el tiempo de residencia de un novedoso sistema mucoadhesivo multicapa en un total de 10 voluntarios, el sistema está diseñado para la liberación de fármaco en la mucosa de revestimiento del área de la encía posterior en la cavidad oral, además de recabar datos de satisfacción o descomfort del sistema mucoadhesivo a través de un cuestionario de aceptabilidad y confortabilidad.

Usted ha sido invitado/a a participar en este estudio porque posee el rango de edad establecido para este estudio además de no presentar padecimientos orales relacionados con la mucosa oral, tales como Herpes, Aftas, candidiasis, entre otros.

El objetivo de este estudio es que usted mismo se instalará un sistema mucoadhesivo de tipo filme en el área de la mucosa en la cavidad oral, el cual deberá presionar por un mínimo de 40 segundos (como se muestra en el esquema 1), para posteriormente cronometrar el tiempo que dura adherido a su cavidad oral, el incremento de la salivación, enrojecimiento del área o molestias, entre otros.




ACTA DE CONSENTIMIENTO

Yo,, declaro que se me ha explicado el propósito de la investigación médica bajo el nombre **Evaluación de la eficacia de un sistema mucoadhesivo multicapa para la liberación de fármaco en la mucosa oral**, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que me asisten y que me puedo retirar de ella en el momento que lo desee.

- Declaro que firmo este documento voluntariamente, sin ser forzado a hacerlo.
- Declaro que no estoy renunciando a ningún derecho que me asista.
- Declaro que he sido informado que se me comunicará de toda nueva información relacionada con el estudio que surja durante la investigación y que pueda tener importancia directa para mi condición de salud.
- Declaro que he sido informado que tengo el derecho a reevaluar mi participación en esta investigación médica según mi parecer y en cualquier momento que lo desee.
- Al momento de la firma, se me entrega una copia firmada de este documento.

ANEXO 3. CUESTIONARIO DE ACEPTABILIDAD DEL PARCHÉ

	Clave de identificación del paciente: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Edad: ____ Sexo: F M
	CUESTIONARIO DE ACEPTABILIDAD Fecha: ____ / ____ / 2 0 2 1

ACEPTABILIDAD PARA PARCHÉ ORAL MUCOADHESIVO

- 1) ¿Alguna vez ha tenido algún tipo de dificultad para deglutir pastillas/capsula?
 SI NO
- 2) ¿Alguna vez ha dejado de tomar un medicamento como tableta/capsula por falta de líquido para tomarlo?
 SI NO
- 3) ¿Tomar un medicamento en forma de filme adhesivo le parece adecuado?
 SI NO

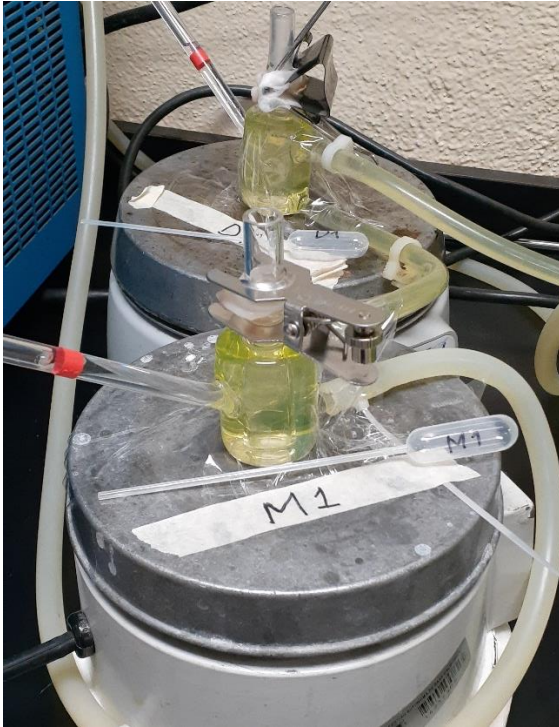
CONTESTE CONFORME A SU OPINION SOBRE EL PARCHÉ

Tiempo de desprendimiento	<input type="radio"/> < 30 min	<input type="radio"/> 30 m – 1 hr	<input type="radio"/> 2 – 3 hr	<input type="radio"/> > 3 hr
Tamaño del parche	<input type="radio"/> ADEACUDO	<input type="radio"/> GRANDE	<input type="radio"/> PEQUEÑO	
Comodidad del parche	<input type="radio"/> EXCELENTE	<input type="radio"/> BUENA	<input type="radio"/> MALA	
Sabor el parche	<input type="radio"/> INSABORO	<input type="radio"/> SABOR LIGERO	<input type="radio"/> DESAGRADABLE	
Facilidad de aplicación	<input type="radio"/> FACIL	<input type="radio"/> POCO FACIL	<input type="radio"/> DIFICIL	
Irritación de la zona aplicada	<input type="radio"/> MUY IRRITADA	<input type="radio"/> POCO IRRITADA	<input type="radio"/> NO IRRITADA	
Boca seca	<input type="radio"/> EXCESIVA	<input type="radio"/> REGULAR	<input type="radio"/> NO RESEQUEDAD	
Salivación	<input type="radio"/> EXCESIVA	<input type="radio"/> REGULAR	<input type="radio"/> DISMINUIDA	

- 4) ¿El uso del parche le causo interferencia al momento de hablar?
 NINGUNA MUY Poca Poca MUCHA
- 5) ¿El uso del parche le causo interferencia al pasar saliva?
 NINGUNA MUY Poca Poca MUCHA
- 6) ¿Estaría dispuesto a utilizar un parche para tratar el dolor e inflamación causado por algún padecimiento en la región bucal?
 SI NO

COMENTARIO SOBRE EL USO DEL PARCHÉ

ANEXO 4. ENSAYO DE PERMEABILIDAD EN MUCOSA PORCINA



ESCUELA DE CIENCIAS DE INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA (ECITEC)

LABORATORIO DE INGENIERÍA DE TEJIDOS Y BIOMATERIALES (B01)

LINTEB

DR. LUIS JESÚS VILLARREAL GÓMEZ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICA E INGENIERÍA (FCQI-UABC)

Laboratorio de Biofarmacia

Dr. José Manuel Cornejo Bravo

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES (IIM-UNAM)

Laboratorio de Polímeros

Dr. Ricardo Vera Graciano