



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**IMPRESIÓN 3D DE MEDICAMENTOS:
PARCHES DE MICROAGUJAS EN EL
TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES**

Autor: Patricia Gómez Viñas

Fecha: Julio 2020

Tutor: Dolores Remedios Serrano López

ÍNDICE

RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	3
OBJETIVOS	4
METODOLOGÍA	4
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	5
1. Técnicas de impresión 3D	5
1.1 Impresión 3D basada en inyección de tinta.....	6
1.2 Sistemas de impresión 3D basada en deposición a través de boquillas.....	7
1.3 Sistemas de impresión por láser.....	9
2. Estudios relacionados con las aplicaciones de la impresión 3D sobre dispositivos de aplicación tópica	11
2.1 Sistema de parche de microagujas con fármaco encapsulado y sensor microcalentador integrado impreso en 3D para el manejo del dolor.....	11
2.2 Parches de microagujas impresos en 3D para liberación transdérmica de insulina.....	13
2.3 Parches de microagujas impresos en 3D para terapia anticancerígena contra tumores de piel.....	16
CONCLUSIONES	21
BIBLIOGRAFÍA	21

RESUMEN

El mundo de la impresión 3D cada vez está tomando más fuerza en la industria farmacéutica, permitiendo la fabricación de medicamentos que en el futuro podrían suponer un gran avance en la calidad de vida de los pacientes. Entre las técnicas más utilizadas se encuentran la inyección por chorro tinta, las impresoras basadas en extrusión por boquilla, incluidas las microjeringas con presión asistida (PAM) y el modelado por deposición fundida (FDM) y, por último, la estereolitografía (SLA).

A lo largo de este trabajo se recogen tres estudios que se desarrollaron con el fin de demostrar el beneficio que puede aportar la impresión 3D a la fabricación de formas farmacéuticas de administración transdérmica como son los parches de microagujas. A su vez, dichas investigaciones tenían el objetivo de tratar enfermedades locales, como el dolor, y sistémicas mediante la combinación de más de una técnica de impresión, abriendo así la puerta a un futuro muy prometedor en el que con un simple parche de microagujas podrían tratarse enfermedades como la diabetes o el cáncer.

Palabras clave: impresión 3D, parche, microagujas, liberación transdérmica

ABSTRACT

The world of 3D printing is becoming increasingly more important in the pharmaceutical industry, enabling the manufacture of drugs that could represent a major advance in the quality of life of patients. Among the most widely used techniques inkjet printing, nozzle extrusion-based printers, including pressure-assisted microsyringes (PAM) and fused-deposition modeling (FDM) are the most commonly used strategies followed by, stereolithography (SLA).

In this work, three studies are collected to demonstrate the benefit that 3D printing can bring to the manufacture of transdermal pharmaceutical forms such as microneedle patches. These studies aim at treating local diseases, such as pain, and systemic diseases by combining more than one printing technique, opening the landscape of 3D printing towards topical therapies based on the use of a simple microneedle patch could treat diseases such as diabetes or cancer.

Key words: 3D printing, patch, microneedles, transdermal delivery

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La impresión 3D es una metodología de fabricación que se comenzó a utilizar en la industria a principios de 1990 para la producción de prototipos de manera rápida, barata y automatizada. Se patentó en 1993 un método de fabricación basado en polvo en el que utilizando cabezales de impresión por inyección de tinta se imprimió un sólido en 3D por extrusión de gotas de aglutinante sobre un lecho de polvo^{1,2}. Una vez se vio que el método aumentaba considerablemente la producción se trasladó su uso a la industria con la fabricación de un medicamento impreso en 3D que a día de hoy es el único de este tipo comercializado, el Spritam®¹. Fue aprobado en 2015 por la FDA (Food and Drug Administration) y fabricado por el laboratorio Aprelia Pharmaceuticals mediante la tecnología de fabricación que denominaron como ZipDose. Consiste en un comprimido de levetiracetam, un fármaco indicado para el tratamiento de ciertos tipos de epilepsia y fue diseñado para dispersarse en la cavidad bucal, por lo que se destina a pacientes con dificultad para tragar comprimidos o cápsulas que sufren un episodio de epilepsia en donde es imprescindible que el fármaco se disgregue y empiece a absorberse en cuestión de segundos³.

Anteriormente, los métodos para la administración de fármacos de actuación sistémica eran principalmente las vías oral, intravenosa e intramuscular mientras que la vía tópica era empleada fundamentalmente para dolencias locales de la piel. Actualmente hay numerosos estudios que refutan esta última vía como una muy buena opción para la administración de fármacos útiles a nivel sistémico, si bien no solo para el tratamiento de enfermedades como el cáncer, dolor neuropático o la aplicación de vacunas, sino que también pueden serlo para el diagnóstico de enfermedades. A su vez, las formas farmacéuticas más convencionales para esta vía de administración son los parches transdérmicos, consistentes en el fármaco a administrar y excipientes tales como sustancias adhesivas para que este pudiera permanecer adherido a la piel. En 1976 se desarrolló el primer parche transdérmico de escopolamina con la intención de que se consiguiesen concentraciones plasmáticas más estables. Sin embargo, a día de hoy y gracias a los recientes avances que se han venido produciendo en la terapéutica, se están implementando nuevas formas de fabricación de medicamentos para liberación transdérmica y, en consecuencia, nuevas formas farmacéuticas que permiten perfiles de liberación más

controlados y sostenidos en el tiempo sin fluctuaciones bruscas, lo cual es una ventaja frente a las formas orales⁴.

La piel es un órgano extenso que actúa a modo de barrera de protección del organismo. Está conformada por la epidermis, en la parte más superficial de la piel y compuesta por el estrato córneo, y la dermis, debajo de la epidermis. Esta última, se encarga de acoger vasos sanguíneos y nervios de la piel, mientras que la primera capa o estrato córneo, al ser un órgano de protección, es de naturaleza lipófila y supone un conjunto de células muertas, los queratinocitos, que hacen que esta capa tenga poca flexibilidad y sea difícil el paso de fármacos a través de ella⁵. (Fig. 1). Es por ello que, su uso como vía de administración se encontraba reducido a fármacos lipófilos y cuyo tamaño molecular no fuera elevado, pues esto también era un impedimento en su paso a través de la piel. Para solventar estas limitaciones que presentaban los parches en la administración transdérmica, se desarrollaron unos sistemas diseñados para una mejor absorción de los fármacos a través de la piel, los parches de microagujas. Estos dispositivos consisten en unas agujas de tamaños que oscilan entre 25-2000 μm de altura, 50-250 μm de ancho de base y 1-25 μm de diámetro en la punta, y que se diseñaron para que evitaran la capa de estrato córneo y liberaran directamente el fármaco cerca de los capilares sanguíneos para que pudiera pasar a circulación sistémica, pero sin que lleguen a alcanzar los nervios de la dermis, por lo que son indoloros. En la actualidad se han comercializado dispositivos como el DermaRoller[®], un rodillo de microagujas y el MicroHyala[®] que se emplean para la liberación de ácido hialurónico en el tratamiento de las arrugas, es decir, en cosmética⁶. Si los parches de microagujas se utilizaran también con fármacos se conseguiría una mayor adherencia al tratamiento y cumplimiento terapéutico por parte de los pacientes, lo cual supondría un impacto muy positivo en su calidad de vida y en la salud pública.

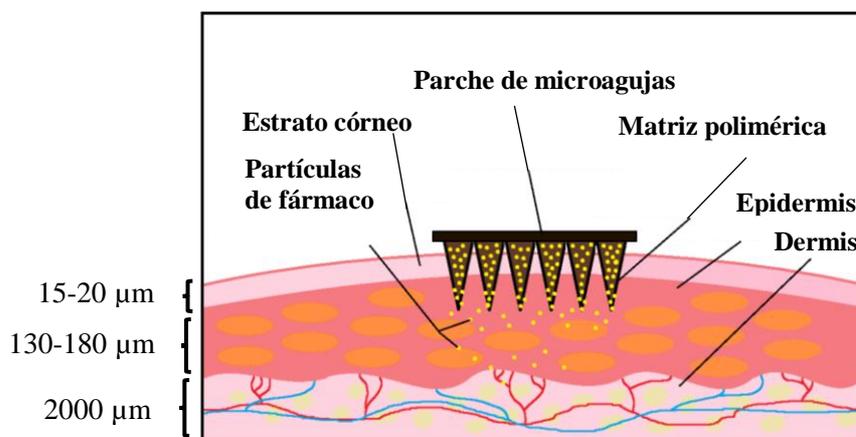


Fig. 1. Esquema del fundamento de un parche de microagujas.

OBJETIVOS

1. Conocer el procedimiento de la impresión 3D de medicamentos, así como su diseño y fabricación.
2. Dar constancia de los distintos métodos de impresión 3D más utilizados en la industria farmacéutica.
3. Demostrar la utilidad de la impresión 3D en la fabricación de dispositivos para la administración transdérmica de fármacos.

METODOLOGÍA

Para la elaboración de este trabajo se ha recurrido a una revisión bibliográfica de artículos científicos y libros disponibles tanto en inglés como en castellano en bases de datos como PubMed, Elsevier, Science Direct o Research Gate desde el año 2012 hasta la actualidad.

Por último, se utilizó el programa informático Paint (Microsoft, EE. UU) para la realización de los esquemas y figuras ilustrativos de los distintos tipos de impresoras 3D más utilizadas en la actualidad y el gestor bibliográfico EndNote para las referencias bibliográficas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Tipos de tecnologías de impresión 3D

En la actualidad, la tecnología de impresión 3D consiste en un conjunto dentro de lo que se conoce como técnicas RP (Rapid Prototyping), que es un grupo amplio de procesos de fabricación en los que se utiliza un software de diseño de formas 3D conocido como CAD (Computer Aided Design). Estas técnicas RP incluyen procesos que requieren de la formación de capas por deposición de material que a su vez está controlada digitalmente, por lo que a día de hoy a este tipo de tecnologías se les denomina procesos de fabricación aditiva (additive manufacturing (AM)) o fabricación de forma libre sólida (solid freeform fabrication (SFF)).

A la hora de obtener una SFF hay que tener en cuenta una serie de factores tales como la enfermedad que queremos tratar o diagnosticar, la vía de administración más adecuada y, en consecuencia, la forma farmacéutica que supondría un mayor rendimiento en el balance beneficio/riesgo. Además, una vez seleccionada la forma farmacéutica, se deben valorar los materiales y el proceso de fabricación de la misma, lo que lleva implícito un buen número de posibles dificultades que pudieran surgir durante la elaboración del medicamento 3D tales como la adición del principio activo a la SFF (si el principio activo es termolábil podría degradarse durante el proceso si este requiere altas temperaturas o, por otro lado, en aquellas tecnologías que requieran el uso de solventes que puedan degradar el fármaco, etc.). A su vez, también pueden darse complicaciones como la formación de figuras amorfas e irregulares, con baja resistencia mecánica, las cuales pueden derivar en problemas de estabilidad o en un menor cumplimiento terapéutico por parte del paciente. Este tipo de dificultades pueden variar en función de la técnica de impresión 3D que se utilice y que se verán con mayor detalle posteriormente^{1,7}. Sin embargo, lo que sí es común a todas las técnicas es que tanto la EMA como la FDA imponen unas pautas regulatorias a través de guías que garanticen la seguridad y fiabilidad y que incluyan pruebas y caracterización de los medicamentos 3D^{7,8}.

Una vez fijado el objetivo a alcanzar, comienza el diseño de la forma a imprimir mediante un software anteriormente mencionado, el CAD, que permite realizar modelos en 3D con distintas formas y volúmenes para diseñar la SFF deseada. El diseño se llevará a cabo teniendo en cuenta el tipo de tecnología a utilizar y, por ende, de los materiales que se emplearán en el proceso y también el fármaco a cargar sobre el objeto fabricado en 3D. A continuación, y tras concluir el diseño de la forma y sus dimensiones, se procede al cambio de formato desde el software CAD a otro que permita cortar el objeto en 3D en capas 2D que lo componen^{7,9}. Normalmente el formato más utilizado universalmente es el STL, pero también se pueden utilizar otros como el AMF. Este archivo STL es un modelo de superficie teselada o triangulada que será procesado por el software de corte permitiendo el visionado de las láminas 2D del objeto para que la impresora 3D fabrique la forma capa por capa en función del grosor que se

ha programado para las mismas⁹. Sin embargo, el archivo STL no puede ser leído ni procesado por la máquina 3D sino que el software de corte guarda la información como instrucciones de Control Numérico por Computadora (CNC) en un código G que es el que finalmente reconoce la impresora y controla los motores y extrusores de la misma¹⁰.

En cuanto a las distintas formas de impresión 3D, se categorizan actualmente en siete familias de acuerdo con las normas ISO/ASTM52900-15¹¹. Sin embargo, solo tres de ellas tienen aplicación en la industria farmacéutica en la actualidad y que son los sistemas basados en impresión por chorro de tinta, los sistemas de deposición basados en boquillas y los sistemas de impresión basados en el uso de un láser. A su vez, estas tecnologías se dividen en diversos subgrupos de los que se hablará a continuación^{1,12}.

1.1 Impresión 3D basada en inyección de chorro de tinta

Se trata de una técnica denominada así para incluir a aquellas metodologías de impresión que utilizan la deposición controlada digitalmente de pequeñas gotas de líquido sobre un sustrato para la fabricación de objetos 3D. Por otro lado, se puede dividir en dos tipos fundamentalmente que son la inyección de tinta continua y la inyección gota a gota y que se diferencian el uno del otro en el proceso físico por el que las gotas son generadas¹.

La inyección continua de tinta es un proceso consistente en la expulsión de un flujo continuo de líquido a través de un orificio que al entrar en contacto con la fuerza de tensión superficial se rompe en varias gotas. Para conseguir que se forme un flujo continuo cada gota que lo compone tiene que estar “dirigida” hacia un sitio de impacto para crear un modelo impreso. Esto se lleva a cabo induciendo una carga eléctrica sobre algunas de las gotas que, posteriormente, al ser sometidas a un campo eléctrico se desvían del eje principal de la corriente de modo que las gotas desechadas son recogidas en una especie de “canalón” y recirculadas por el sistema. Por otro lado, la inyección gota a gota consiste en expulsar esta sólo cuando se necesita y, a diferencia de la inyección continua, la fuerza de eyección no proviene de un fluido continuo que ejerce presión sobre la boquilla, sino que procede de unas fuentes de energía situada en el cabezal, muy cerca de cada boquilla. Los cabezales, por lo tanto, pueden estar compuestos por numerosas boquillas o si son especializados solo poseer una boquilla cerca de la cual estarían los dispositivos que crearían la fuerza para expulsar la gota. Es importante tener en cuenta que la gota puede romperse por la tensión superficial en gotas más pequeñas y este efecto no es el buscado en este procedimiento. Para evitarlo, se deben controlar las condiciones de expulsión del líquido o modificar las características reológicas del mismo. Como se ha mencionado anteriormente, la gota será expulsada por la boquilla mediante la generación de una fuerza por parte de una fuente de energía que puede ser de dos tipos, el primero consiste en un cabezal térmico compuesto por elementos resistivos que no son buenos conductores de la electricidad. Esto implica que al hacer pasar una corriente eléctrica por el cabezal esta se acumula y la temperatura aumenta hasta 300°C, lo cual supone la evaporación de un pequeño volumen de líquido hasta estado gaseoso aumentando la presión y, ejerciendo la fuerza necesaria para la eyección de una gota del material líquido a imprimir. Este método implica la elección de un solvente que sea volátil para poder aumentar la presión y expulsar la gota y que suele ser el agua debido a la elevada temperatura que alcanza. Esta limitación, sin embargo, no se da en el segundo tipo de cabezal, que consiste en un cristal que cambia bruscamente de forma provocando también un cambio en el volumen de líquido exponiéndolo a un aumento de la tasa de cizallamiento, lo que genera la presión adecuada para favorecer la salida de la gota^{1,13} (Fig. 3).

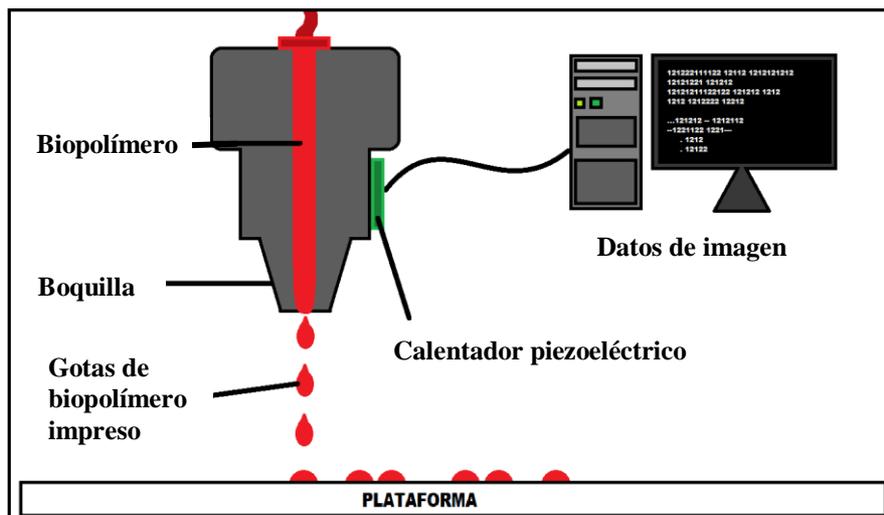


Fig. 3. Esquema de una impresora de inyección por chorro de tinta

Finalmente, la impresión por inyección gota a gota puede subdividirse en deposición de gota sobre gota para formar un sólido cuando cada una de ellas se une a la anterior o deposición de gota sobre sólido cuando cada una se deposita sobre una capa de material sólido como, por ejemplo, polvo, impresora mediante la cual se obtuvo Spritam[®], como se ha mencionado^{1,13}.

1.2 Sistemas de impresión 3D basada en deposición a través de boquillas

Los principales inconvenientes que presenta el anterior método son la escasa dureza, resolución limitada y baja permisibilidad de carga de fármaco con la que se obtiene la forma farmacéutica. Sin embargo, este método basado en la deposición por boquilla podría ser una alternativa eficiente ya que se diferencia del anterior en la manera en la que se depositan y se forman las capas del medicamento 3D. Con la inyección de tinta se expulsaban gotas que se unían formando el objeto o se depositaban sobre un sólido posterior a la eyección, mientras que en este caso se mezclarían el líquido y el sólido antes de su paso por la impresora y esta deposita la carga sobre una plataforma de manera que va formando capa por capa el objeto en 3D¹.

A su vez, esta técnica de impresión 3D puede dividirse en dos subtipos en función del material que utilicemos y de si aplicamos calor sobre el mismo para fundirlo y elaborar otra forma a partir de una inicial o, si por el contrario no aplicamos calor sino otro método para expulsar a través de la boquilla el material que conformará el medicamento. Estos subtipos son, por un lado, las microjeringas con presión asistida (PAM) y, por otro, el modelado de deposición fundida (FDM)¹⁴.

Las microjeringas de presión asistida constituyen una tecnología que no requiere calor ni fusión de materiales para la formación de objetos en 3D y que anteriormente era muy utilizada en ingeniería de tejidos para la fabricación de “andamios” de tejido blando que servían de soporte estructural a las células para la regeneración de dicho tejido. Actualmente han adquirido importancia en la industria farmacéutica por otras razones como su utilidad en la fabricación de medicamentos en 3D. Esta técnica consiste en la extrusión a temperatura ambiente de una pasta formada a partir de una mezcla de polímero, solventes y cualquier excipiente que sea requerido y que, junto con los anteriores, han de presentar unas características reológicas adecuadas para no obturar la boquilla y que la impresión se produzca

correctamente. Para dicho proceso de fabricación, la máquina está compuesta por un pistón neumático, mecánico y solenoide que genera una presión en el interior de una jeringa que contiene la pasta previamente formada de manera que esta se deposita a través de la boquilla sobre una plataforma capa por capa (Fig. 4). Hay que tener en cuenta que, aunque no son requeridas altas temperaturas durante el proceso de impresión, sí será necesario un procedimiento de secado post-impresión que podría suponer la deformación del objeto impreso o el encogimiento del mismo. Además, las estructuras obtenidas poseen una baja resistencia mecánica. La principal ventaja que suponen frente a la FDM es que permiten la adición de grandes cantidades de fármaco y que la impresión, en sí misma, no requiere de elevadas temperaturas¹⁴.

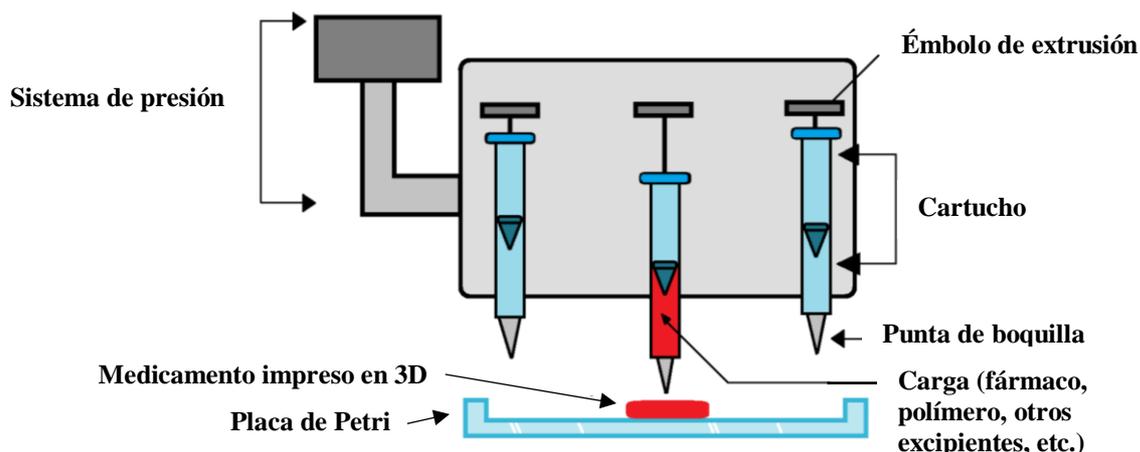


Fig. 4. Esquema de impresora de microjeringa con presión asistida (PAM)

Por otro lado, el modelado de deposición fundida o FDM es otra técnica de extrusión que requiere calor y, en concreto, la fusión de unos filamentos que son los que compondrán el objeto impreso. Se trata de una maquinaria diferente al anterior método y que está compuesta por un carrete que proporciona el filamento que, a su vez, es conducido mediante dos rodillos hacia un cabezal de impresión que contiene una cámara calefactora la cual se encarga de fundir el filamento y extruirlo por una boquilla que finalmente lo deposita en una plataforma capa por capa (Fig. 5). Es un sistema controlado digitalmente y al que previamente se le han introducido los datos y parámetros de impresión como la forma geométrica que ha de tener el objeto y las dimensiones de la misma. El filamento es extruido con el fármaco incorporado, es decir, es previamente cargado con el mismo antes de la impresión, lo cual es un factor importante a la hora de elegir el método y forma de impresión de un medicamento, puesto que el fármaco contenido en el mismo no ha de ser termolábil o que se degrade fácilmente por el calor. La forma de cargar el filamento con el fármaco puede ser a través de extrusión por fusión en caliente, es decir, mezclando el polímero, el fármaco y los aditivos necesarios antes de la fabricación del filamento o, por el contrario, una vez fabricado el filamento este es sumergido en una solución saturada del fármaco y diversos aditivos que puedan ser necesarios para favorecer la difusión pasiva. En cualquier caso, es cierto que la cantidad de principio activo que puede ser incorporado mediante difusión pasiva es bastante baja en comparación con la forma de extrusión anterior con microjeringa y presión asistida, pero en la actualidad hay filamentos que pueden contener hasta un 50% de principio activo y, además, una clara ventaja es el bajo coste de fabricación¹⁴.

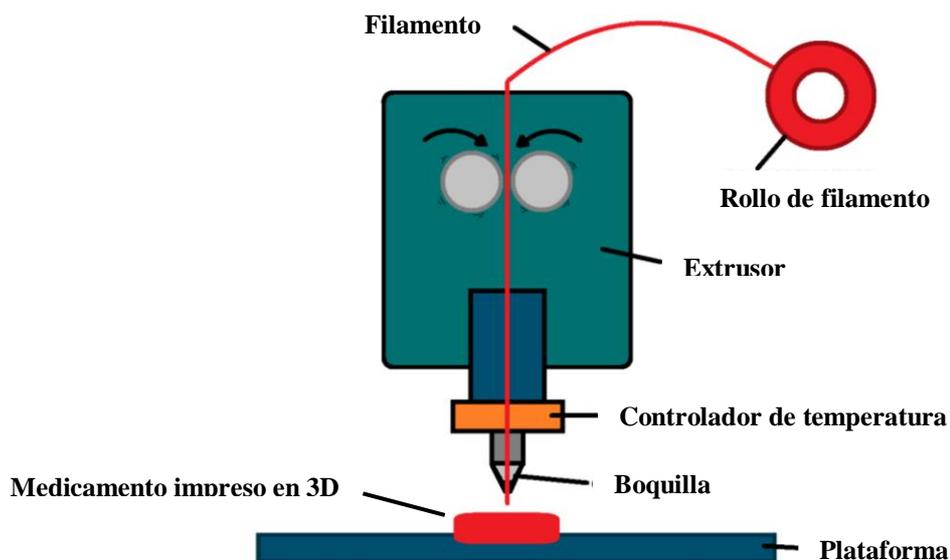


Fig. 5. Esquema de impresora de modelado por deposición fundida (FDM)

En ambos métodos de extrusión hay que tener en cuenta factores como la compatibilidad fármaco-polímero-excipientes puesto que una combinación inadecuada podría suponer el fracaso de la impresión. Además, podría decirse que la elección del polímero adecuado es importante ya que no solo afecta a la interacción que pudiera establecer con el principio activo, sino que también afecta a la estabilidad, toxicidad e incluso, en el caso de aquellos utilizados como modificadores de liberación, podría derivar en cinéticas erróneas o riesgo para la salud de los pacientes¹⁴.

1.3 Sistemas de impresión por láser

Esta metodología de impresión por láser es conocida con el nombre de estereolitografía (SLA) y es una de las técnicas que mayor resolución aporta entre todas las mencionadas anteriormente, además de una de las más utilizadas para la impresión de medicamentos. El concepto general consiste en un baño con una resina líquida compuesta por monómeros plásticos capaces de activarse al interactuar con la luz ultravioleta. Esto supone que el fotoiniciador, al incidir sobre él un haz de luz UV, provoca la liberación de moléculas de radicales libres capaces de interactuar unas con otras para formar cadenas de polímeros. Cuando esto sucede, la resina que antes estaba en estado líquido se endurece y forma un sólido de polímero plástico duro^{1,15}.

Hay principalmente dos maneras de realizar la impresión 3D con estereolitografía, de arriba hacia abajo (“top-down”) o de abajo hacia arriba (“bottom-up”). Si la impresión es de arriba hacia abajo quiere decir que el haz de luz estará situado encima del tanque de resina y que incidirá en el mismo desde esa posición, de modo que la plataforma que se encuentra dentro del tanque irá desplazándose hacia abajo según se vayan formando las capas de sólido. Para empezar, la plataforma se encuentra sumergida de la superficie una distancia equivalente al grosor deseado para la capa, de manera que la luz UV incide sobre la superficie formando la primera capa de sólido y cuando ya está elaborada la plataforma baja otra distancia equivalente al grosor requerido, cubriéndose la capa sólida formada de más resina líquida que será la siguiente capa a solidificar (Fig. 6). Por otro lado, de la otra manera de fabricar el objeto en 3D, de abajo hacia arriba, el haz de luz UV estaría situado debajo del tanque de resina, el cual dispondría de una ventana transparente que permitiría el paso de la luz. En este caso la plataforma va subiendo conforme se van formando las capas, de forma que se encuentra a ras

de la base del tanque tan solo separadas por el grosor deseado para la capa. Una vez se ha polimerizado y solidificado la primera capa, la plataforma sube para dejar que se llene el hueco de nuevo con más resina para formar las sucesivas capas hasta la fabricación total del objeto en 3D¹⁶ (Fig. 7).

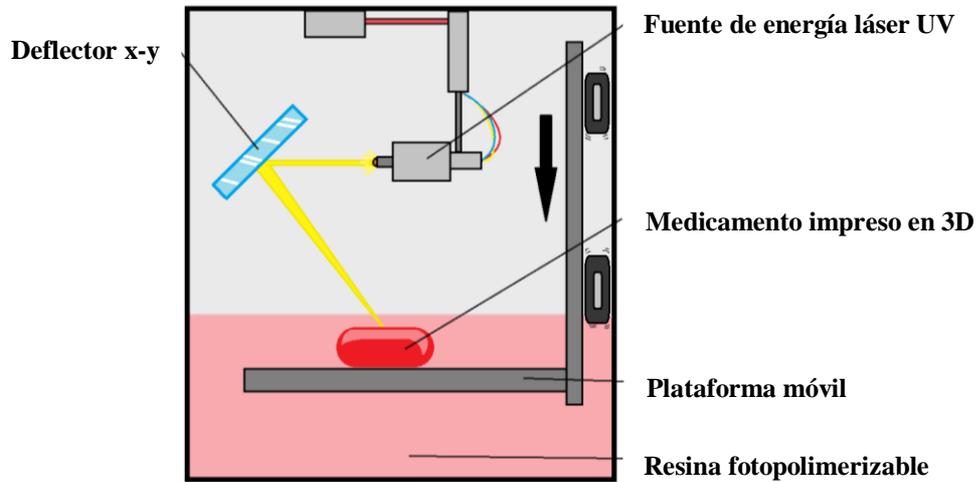


Fig. 6. Esquema de impresora por estereolitografía (SLA) modelo "top-down"

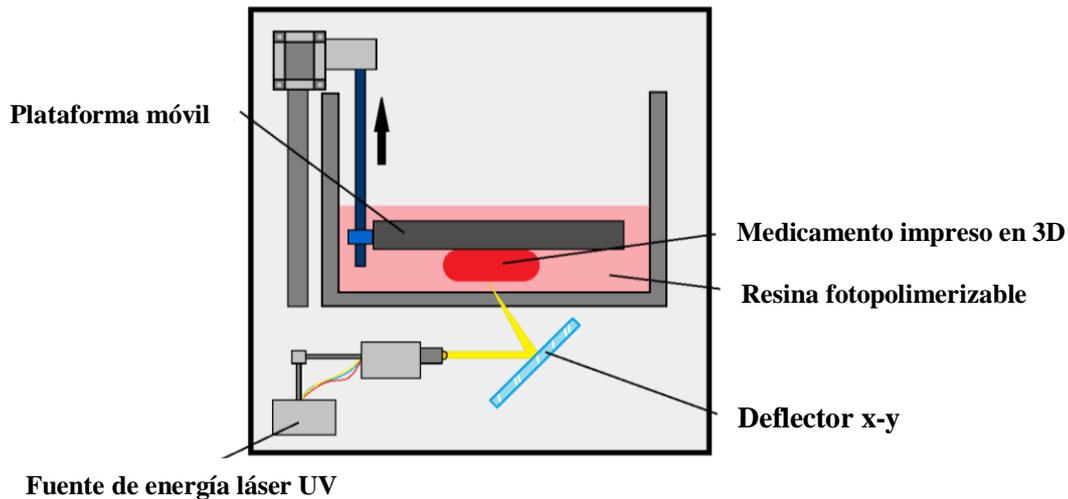


Fig.7. Esquema de impresora de estereolitografía (SLA) modelo "bottom-up"

En ambas situaciones es necesario hacer un proceso post-impresión consistente en el lavado del producto impreso con alcohol para retirar el exceso de resina y un proceso de curado con luz UV para endurecer la estructura. Este paso es imprescindible ya que el polímero formado ya no contiene los radicales libres pero la resina líquida sobrante sí, y son moléculas que presentan naturaleza genotóxica demostrada, por lo que hay que eliminarlas. A su vez, también en ambos casos hay que tener en cuenta el tipo de polímero a utilizar ya que de esto dependerá el correcto proceso de fabricación del producto. Deben ser materias primas fotopolimerizables, las cuales son difíciles de encontrar por el escaso número disponible de este tipo de resinas, por lo que esta podría considerarse una de las mayores limitaciones de esta técnica^{16,17}.

2. Estudios relacionados con las aplicaciones de la impresión 3D sobre dispositivos de aplicación tópica

A continuación, se muestran tres estudios diferentes con objetivos terapéuticos distintos pero cuyo nexo en común es la utilización de parches de microagujas que han sido fabricados mediante impresión 3D o que contienen algún elemento en su composición que ha sido fabricado por dicha técnica.

2.1 Sistema de parche de microagujas con fármaco encapsulado y sensor microcalentador integrado impreso en 3D para el manejo del dolor

En 2019 un grupo de científicos de la universidad de Virginia hizo público un estudio sobre la liberación transdérmica de fármacos destinados al tratamiento del dolor como, por ejemplo, el dolor lumbar, mediante parches de microagujas con la ayuda de un microcalentador incorporado al mismo parche. El objetivo del estudio era demostrar que al igual que el calor que era ampliamente utilizado para aliviar este tipo de dolor era efectivo, también podía ser útil para favorecer la difusión de fármacos a través de la piel a capas más profundas de la misma en combinación con el parche de microagujas¹⁸.

El diseño del dispositivo consistía en un parche de microagujas al que se le adjuntó en la cara superior un sensor obtenido por impresión 3D capaz de producir calor y transmitirlo a las microagujas que contienen el fármaco. Este sensor se fabricó con una solución a base de nanotubos de carbono de paredes múltiples o Multiwalled Carbon Nanotubes (MWCNT) y polidimetilsiloxano (PDMS), y su fabricación se llevó a cabo mediante una impresora 3D de chorro de tinta (Fig. 8). La concentración de la solución fue vital para la estabilidad de la forma impresa o, más concretamente, para la dispersión de la gota impresa. El parche de microagujas, por su parte, medía 1x1 cm y estaba fabricado con celulosa a partir de un molde de PDMS con huecos cónicos para formar las microagujas¹⁸.

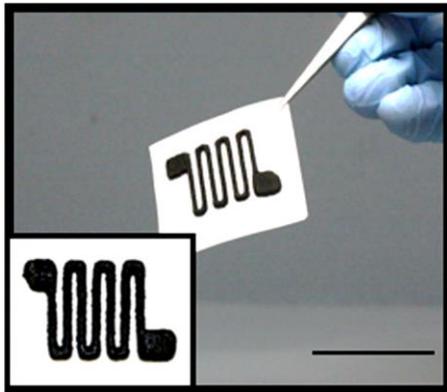


Fig. 8. Sensor microcalentador impreso sobre papel. Presenta patrón de meandro con 30 mm de largo y 20 mm de ancho. Compuesto por seis vueltas con un hueco de 2,5 mm medidos de centro a centro y dos cuadrados, uno en la esquina superior izquierda y otro en la inferior derecha de 5 mm cada uno¹⁸.

En el estudio se valoraron dos factores, en primer lugar, el nivel de adhesión del sensor al parche y su permanencia sin romperse o despegarse, es decir, la capacidad para integrarse al mismo y, en segundo lugar, el beneficio que pudiera aportar sobre el control de la velocidad de liberación y difusión del fármaco desde la superficie de la piel hasta la diana terapéutica local¹⁸.

El nivel de adhesión del microcalentador al parche se valoró para tener una idea sobre su elasticidad y resistencia a la fractura. Se llevó a cabo su impresión sobre distintas superficies con distinto nivel de curvatura para comprobar si el sensor continuaba adherido al parche y no sufría fragmentación. Esto se realizó para que los resultados pudieran ser extrapolados a la piel humana, es decir, las distintas curvaturas de los diferentes objetos emulaban las curvaturas y

formas que puede adoptar la piel y asegurar que el parche y el microcalentador no se separarían una vez aplicados por vía tópica. Para poder estudiar este factor, se jugó con las concentraciones y las curvaturas de diferentes objetos y se observó el efecto que podían tener en el nivel de dispersión de la gota impresa sobre dicho objeto¹⁸.

Se observó una gota impresa con la solución de MWCNT/PDMS con una concentración de MWCNT del 10% sobre una superficie de PDMS plana, definiendo como H_s la altura de la gota recién extrudida y H_i la altura de la misma pasados 30 minutos. Se estableció que la energía total del sistema de la gota en la superficie en equilibrio era la suma de la energía de interacción sólido-líquido y la energía potencial gravitatoria de la gota, que son función de H_s/H_i . Este cociente depende del radio de la aguja de impresión y de la curvatura del sustrato. Se definió que si la altura final era igual o mayor al 90% de la altura inicial no habría dispersión y, por tanto, los dispositivos impresos cumplirían los patrones establecidos. A su vez, también se estudió la misma gota de la solución impresa sobre un sustrato curvo de PDMS antes y después de 30 minutos transcurridos, obteniéndose como cociente H_s/H_i un porcentaje del 93,8% muy similar al porcentaje obtenido sobre la superficie plana, 92%. Se repitió el experimento pero con soluciones con un porcentaje de MWCNT del 3%, lo que generó un cociente de H_s/H_i de 42,3% para la superficie plana y de 59,4% para la superficie curva. Este resultado implicaría que tanto la concentración de 10% de MWCNT como la curvatura del sustrato impiden la dispersión, mientras que concentraciones inferiores favorecerían la dispersión¹⁸.

Para la verificación del rendimiento del microcalentador sobre el parche, se analizaron tanto las microagujas como la piel de las ratas utilizadas en el estudio. Se empleó una solución de MWCNT/PDMS con una concentración de MWCNT del 20% para la impresión del sensor, el cual se depositó directamente desde la boquilla sobre el parche de microagujas que contenían un fármaco modelo (colorante de fluorescencia en el infrarrojo cercano Cy5, cianina). Seguidamente se aplicó una fuente de energía sobre el microcalentador para que comenzase a producir calor sobre el parche con el objetivo de que este calor disolviese las agujas en la piel y el fármaco difundiera por sus distintas capas. Se observaron las microagujas antes de su aplicación sobre la piel de las ratas y después de 10 minutos transcurridos tras su aplicación, con y sin microcalentador. Los resultados obtenidos demostraban una mayor reducción de las dimensiones de las agujas en el parche con microcalentador incorporado que en el parche solo. Por otro lado, también se observaba a simple vista una mayor coloración azul en los agujeros creados por el parche de microagujas sobre la piel de las ratas en el parche con microcalentador respecto del que no lo llevaba, lo que corrobora una mayor disolución de las agujas y, por tanto, una mayor cantidad de fármaco (Cy5) difundido¹⁸.

Por último, en el análisis de la piel de las ratas para la constatación del rendimiento del parche, se llevaron a cabo tres análisis. Las áreas de piel que habían sufrido la aplicación del parche se diseccionaron y se dividieron en tres grupos para la realización de distintas pruebas analíticas. Un primer grupo fue destinado a la obtención de imágenes de fluorescencia de tejidos, el segundo grupo fue teñido con hematoxilina/eosina y procesado histológicamente y un tercer grupo fue aislado para un ensayo de difusión *in vitro* en medio tamponado con PBS. Se produjo una mayor intensidad de fluorescencia emitida por el colorante Cy5 en el caso del parche con microcalentador que en el parche en solitario, lo que indica que se acumula una mayor cantidad inicial en la zona de depósito del parche cuando hay calentamiento y, además, que la difusión es mayor ya que se observan señales de fluorescencia en zonas más profundas de la piel¹⁸.

En resumen, el estudio se realizó para probar que la impresión en 3D podía ser útil para la obtención de un microcalentador que no solo ayudase al alivio de los síntomas de dolor lumbar, sino que también favoreciera la liberación y difusión del fármaco a través de la piel permitiendo su llegada más rápidamente al lugar de acción, lo cual es importante en el manejo del dolor. Los resultados muestran que, en efecto, el microcalentador impreso en 3D suponía una mayor difusión del fármaco y de manera más rápida por parte del parche de microagujas que en el parche sin microcalentador, lo que abre las puertas a una mayor investigación.

2.2 Parches de microagujas impresos en 3D para liberación transdérmica de insulina

En 2019 un grupo de investigadores de las universidades de Kent (Reino Unido) y BRAC (Bangladesh) investigaron y desarrollaron un parche de microagujas impreso en 3D utilizando la técnica de impresión de estereolitografía. Este estudio se llevó a cabo con el fin de implementar una nueva técnica de administración de insulina transdérmica en sustitución de la actual administración subcutánea¹⁹.

La motivación principal de la fabricación del parche fue que en los casos de diabetes mellitus tipo 1 y casos graves de la DM tipo 2 que requieren de la administración de insulina mediante una aguja subcutánea, los pacientes sufren de dolor, engrosamiento de la piel y en algunos casos fobia a las agujas, lo que suele derivar en una reducción del cumplimiento terapéutico. Por esta razón, la implementación de un parche de microagujas que se pueda obtener con una cierta rapidez y elevada reproducibilidad podría suponer una alternativa eficaz e indolora en la administración de insulina de dichos pacientes. Otro de los motivos por los que se decidió desarrollar este parche fue que, a pesar, de que se han investigado profundamente para la liberación de insulina en diversos estudios, aquellos dispositivos de liberación transdérmica se realizaron con microagujas solubles, lo que hace que la velocidad de acción de la insulina dependa de la tasa de disolución de las agujas. Esto implica que podrían no ser tan adecuados para una acción rápida de la insulina como las impresas en 3D, por lo que este estudio podría superar este obstáculo mediante dicho método alternativo de fabricación¹⁹.

Las matrices de microagujas fueron primeramente diseñadas con dos tipos de formas geométricas, una fue en forma de pirámide de dimensiones 1x1 mm y la otra en forma de lanza de 0,08x1 mm. Estos diseños se trasladaron en formato STL a una impresora de estereolitografía (SLA) y se imprimieron los parches empleando un biopolímero de Clase 1, con un post-tratamiento de curación para la eliminación de la resina no polimerizada. A continuación, se recurrió a un método de recubrimiento de las microagujas con el fármaco (insulina en este caso), lo que derivaría en una mayor rapidez de acción con respecto a los parches de agujas solubles del resto de estudios. Para el recubrimiento se utilizaron tres soluciones diferentes de insulina con distintos transportadores de azúcares, estas fueron insulina y manitol a una proporción de 5:1 p/p, insulina y xilitol 5:1 p/p e insulina y trehalosa 5:1 p/p. Para la formación de las capas de insulina con el azúcar sobre las agujas se utilizó una impresora de inyección de chorro de tinta con cristal piezoeléctrico, la cual no produjo gotas satélite. La razón por la que se utilizaron distintos azúcares para transportar la insulina es porque se ha observado en distintos estudios que favorecen la preservación de la misma en sus estructuras de alfa hélice y lámina beta, impidiendo así su rápida degradación y permitiendo la conservación una vez depositada la capa sobre las microagujas. La figura 9 muestra distintas imágenes tomadas mediante microscopía óptica de barrido (SEM)¹⁹.

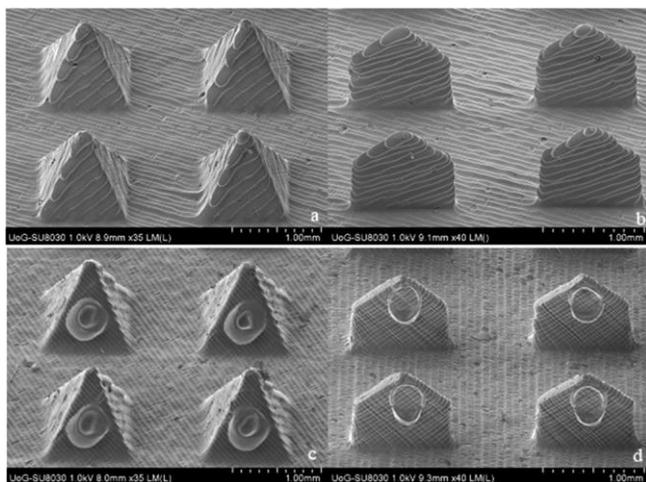


Fig. 9. Imagen tomada por SEM¹⁹.
a) Microaguja pirámide sin recubrir.
b) Microaguja de lanza sin recubrir.
c) Microaguja de pirámide recubierta
d) Microaguja de lanza recubierta.

Una vez fabricados los parches, se evaluaron dos factores, en primer lugar el comportamiento mecánico de las microagujas y, en segundo lugar, la capacidad de difusión de la insulina desde las agujas hasta las distintas capas de la piel¹⁹.

La evaluación del comportamiento mecánico de las microagujas se llevó a cabo fijando el parche a una placa metálica y ejerciendo presión de manera axial contra un bloque de metal a la vez que se medía la fuerza ejercida hasta el fallo de la aguja y la rotura completa de la misma. Esto se realizó tanto para los parches con agujas en forma de pirámide como para aquellas en forma de lanza, para examinar en detalle la resistencia a la fractura de ambas geometrías y dilucidar cuál era más resistente y adecuada¹⁹.

En el registro de la fuerza contra el desplazamiento se observó cómo aumentaba la carga hasta que se produjo la fractura de la aguja, y los resultados de resistencia a la misma para cada una de las geometrías. Para las agujas en forma de lanza se registró un pico a los 175 N y a continuación una caída de la fuerza, lo que se ve justificado porque al presentar unas dimensiones axiales mayores que las ecuatoriales, cuando se llegó al pico de fuerza la aguja se rompió en dirección perpendicular a la de la fuerza ejercida y ya no hubo más carga que ejercer. Sin embargo, la pirámide mostró alteración en la continuidad de la gráfica a una fuerza de 457 N, lo que se debería a que al ejercer la carga comenzando por el pico de la pirámide, este fue el primero en romperse y, por tanto, el primer fallo de la aguja. No obstante, la fuerza ejercida sigue aumentando constantemente ya que el resto de la aguja sigue bajo compresión y sin romperse. Los resultados de comportamiento mecánico de las microagujas muestran, por tanto, que la geometría de la pirámide sería la más resistente a la fractura y, además, que ambos modelos se fracturan a una fuerza de carga considerablemente mayor a la necesaria para la penetración de la piel, tal y como se muestra en el ensayo de penetración sometido sobre piel de cerdo¹⁹.

El segundo factor, la difusión del fármaco insulina a través de la piel mediante el parche de microagujas, se realizó mediante dos ensayos siendo el primero de ellos *in vitro* sobre piel porcina y el segundo *in vivo* sobre ratones de experimentación. El estudio *in vitro* se llevó a cabo sobre secciones de piel porcina en las que se aplicó el parche de microagujas con la insulina y el transportador ejerciendo presión con los dedos durante 30 segundos. Posteriormente fueron montadas en una célula de difusión de Franz a 37°C y se fueron recogiendo muestras mediante un colector automático cada hora un volumen de 6-6,5 mL y a las que se realizó un análisis estadístico mediante una prueba no paramétrica de Mann-Whitney¹⁹.

Los resultados obtenidos para las agujas en forma de lanza y de pirámide fueron muy similares aunque la geometría de la pirámide reveló perfiles de liberación más rápidos, un 80% a los 2 minutos y un 86-92% a los 8 minutos, debido a una mayor superficie de hidratación y de cubierta de insulina y transportador, mientras que las tasas de liberación de la geometría de lanza fueron ligeramente más lentas, un 62-70% a los 2 minutos y un 81-84% a los 8 minutos, al presentar menor superficie de hidratación. Por otro lado, las soluciones en las que iba inmersa la insulina (manitol, xilitol y trehalosa) mostraron un aumento tanto en la conservación de la misma en su forma nativa como en su velocidad de liberación. Esto se debe principalmente a que al ser de naturaleza hidrófila, la hidratación es mayor y, en consecuencia, la disolución también, lo que sumado a que las capas de recubrimiento son finas supone un aumento neto de la velocidad de liberación¹⁹.

En lo referente al estudio *in vivo*, se usaron ratones a los que previamente se les había inducido hiperglucemia. Antes de la inducción de la diabetes, a los ratones se les permitió acceder libremente a jaulas con dieta controlada durante 3 días. Transcurrido este tiempo se les inyectó una solución de estreptozocina (70 mg/Kg) en tampón ácido cítrico para inducir la hiperglucemia, la cual fue comprobada en ayunas a través de la glucemia basal durante una semana hasta que la glucemia fue de 300 mg/dL. A continuación, se les anestesió e incorporó el parche de microagujas en la parte superior del cuerpo con la insulina y los tres tipos de transportadores de azúcar, y fueron divididos en tres grupos de estudio con un tamaño de muestra de 3 ratones por grupo. El grupo 1 fue denominado grupo control o negativo y al que no se le trató con la insulina, el grupo 2 correspondió al tratado con insulina en aguja subcutánea y el grupo 3 fue el correspondiente al parche de microagujas con la insulina incorporada. Después de 2 horas, los parches fueron retirados y se tomaron muestras de sangre de la vena yugular de los ratones en todos los grupos a las 0, 1, 2, 3 y 4 horas tras el tratamiento con la insulina¹⁹.

En los siguientes gráficos se muestran los resultados obtenidos en concentración de glucosa y concentración de insulina en plasma a diferentes tiempos para los distintos grupos de ratones, los no tratados (control negativo), los tratados con inyección subcutánea de insulina (control positivo) y los tratados con parche de microagujas cubiertas con insulina¹⁹ (Fig. 10 y Fig. 11)

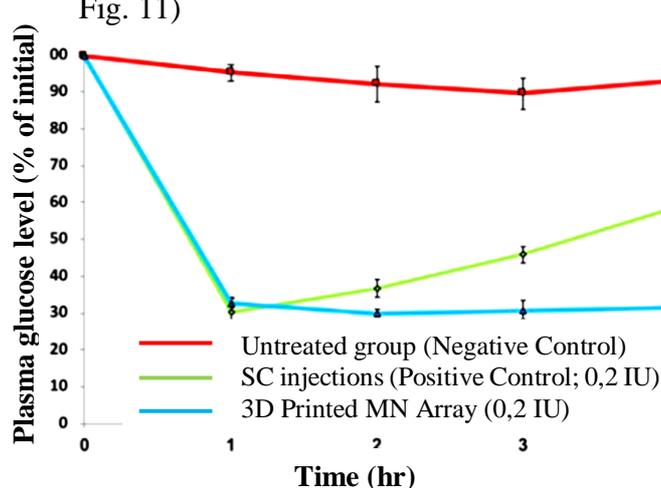


Fig. 10. Gráfico de concentraciones plasmáticas de glucosa a las 0-4 h tras la administración de inyección subcutánea o parche de microagujas¹⁹.

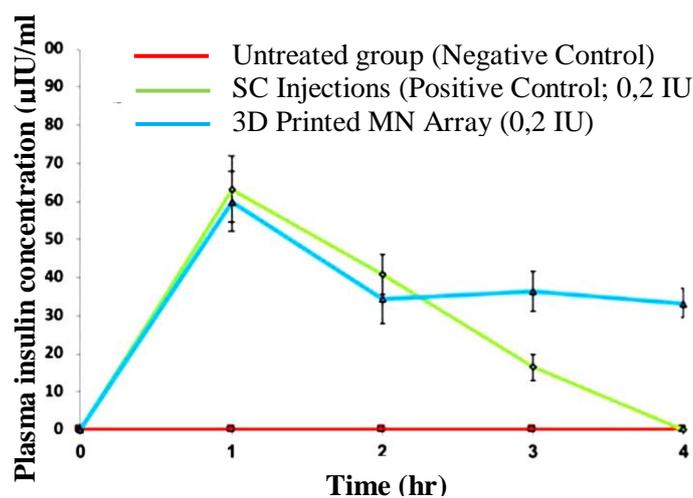


Fig. 11. Gráfico de concentraciones plasmáticas de insulina a las 0-4 h tras la administración de inyección subcutánea o parche de microagujas¹⁹.

En la gráfica de concentración de glucosa se observa un pico de descenso en la primera hora tras la administración tanto para la inyección subcutánea como para el parche de microagujas, siendo ligeramente mayor el descenso con la inyección subcutánea, aunque sin diferencia estadística. La distinción concluyente se observa en el transcurso de las 3 horas restantes dado que en la inyección subcutánea los niveles de glucosa en plasma comienzan a ascender de nuevo progresivamente, mientras que en el parche de microagujas estos niveles se mantienen reducidos de manera constante en el mismo periodo de tiempo. Los niveles de glucosa de los ratones no tratados se mantienen elevados y constantes tal y como cabía esperar¹⁹.

Por otro lado, en la gráfica de niveles de insulina en plasma, se observa que tanto la aguja subcutánea como el parche de microagujas alcanzan un pico máximo de insulina también ligeramente mayor en el caso de la aguja subcutánea, pero de nuevo sin diferencia estadística. Transcurridas dos horas post-administración, la insulina en ambos casos desciende de forma similar, pero en el resto del tiempo hasta alcanzar 4 horas la insulina administrada por el parche de microagujas se mantiene en niveles constantes en plasma, mientras que en la aguja subcutánea estos niveles disminuyen gradualmente hasta la nulidad¹⁹.

Se pudo concluir finalmente que los parches de microagujas impresas mediante estereolitografía eran de gran calidad y que, una vez recubiertos con soluciones de insulina y transportadores de azúcar con impresión por chorro de tinta, no solo eran altamente resistentes a la fractura respecto a otras microagujas metálicas, sino que eran más efectivas manteniendo estables los niveles de glucosa e insulina en sangre que la inyección por vía subcutánea de insulina, tal y como demuestran los estudios *in vivo* realizados sobre ratones diabéticos. Este hallazgo supone un importante apoyo para los pacientes diabéticos que requieren insulina puesto que, facilitaría la administración de la misma y con mayor efectividad, lo que a su vez derivaría en un mayor cumplimiento del tratamiento y en una mejoría en su calidad de vida¹⁹.

2.3 Parches de microagujas impresos en 3D para terapia anticancerígena contra tumores de piel

En un estudio llevado a cabo por varias facultades del Reino Unido y en colaboración con la Universidad de Bangladesh, se desarrolló un parche de microagujas en forma de cruz impreso en 3D y cargado con cisplatino para la evaluación de su efectividad *in vivo* en el tratamiento de cáncer escamoso humano de piel en ratones²⁰.

Para realizarlo se utilizó el método de impresión 3D de estereolitografía para la fabricación de las microagujas y, a continuación, se empleó la impresión por inyección de chorro de tinta para el recubrimiento de las mismas con una solución de cisplatino, fármaco antineoplásico. Los materiales utilizados para la fabricación del parche fueron una resina de polímero biocompatible la cual una vez polimerizada con la aplicación del láser dando la forma de cruz a las microagujas fue lavada con alcohol isopropílico para eliminar la resina no polimerizada y expuesta a un proceso de curación mediante luz ultravioleta. La geometría de las agujas fue diseñada en forma de cruz, con unas dimensiones de 1 milímetro de altura, 1 milímetro de anchura y cada una de las aletas de la cruz medía 0,43 milímetros. Para el recubrimiento de las agujas con el fármaco se elaboró una solución de cisplatino acompañada de un polímero hidrófilo de polivinil caprolactama-acetato de polivinilo-polietilenglicol (Soluplus®), que fueron depositadas en forma de gotículas sobre las microagujas mediante una impresora de inyección de chorro de tinta con cristal piezoeléctrico. El proceso de recubrimiento se realizó cuidadosamente y con varios ciclos para asegurar que no quedaba

ningún recoveco de la aguja sin cubrir con la solución del fármaco y el copolímero, y se llevó a cabo con las microagujas colocadas a 45° respecto a la boquilla y se incubaron a temperatura ambiente durante 24 horas para favorecer la evaporación del disolvente (agua desionizada), quedando así una cubierta homogénea de partículas finas sobre las microagujas²⁰.

Para valorar la calidad de la impresión y el posterior recubrimiento, así como la capacidad de penetración, se obtuvieron imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) para lo primero y, por otro lado, imágenes de tomografía de coherencia óptica para lo segundo. Además, también se visualizó la punción de las microagujas a simple vista y se realizó la medición de la fuerza de perforación. Las imágenes de SEM muestran la gran calidad con la que fueron impresas las microagujas en forma de cruz, con una resolución de 25 micras para el eje z y de 140 para los ejes x e y (Fig. 12). También se puede apreciar la adecuada deposición de la capa de fármaco sin la formación de gotas satélite. Por otro lado, la tomografía de coherencia óptica analizó la profundidad y el ancho de penetración de las microagujas sobre piel porcina neonatal. Para realizarlo se fabricaron otras microagujas, pero en este caso, en vez de impresas en 3D fueron moldeadas con polimetilviniliter con anhídrido maleico (PMVE/MA), para comparar la penetración de estas con las impresas con SLA. Los experimentos se realizaron primero sobre 8 capas de parafilm (1000 micrómetros de espesor aproximadamente) como control para calibración. Se presionaron con los dedos los dos tipos de microagujas sobre el parafilm y la piel porcina y los resultados que se obtuvieron reflejan que la profundidad alcanzada con las microagujas impresas en 3D fue del 82% mientras que en aquellas moldeadas fue del 73,4%, lo que podría atribuirse a la mayor resolución en la impresión 3D que en la fabricación mediante moldes. La eficiencia de la penetración puede explicarse por la suavidad de la piel porcina neonatal que es fácil de perforar, pero también al diseño en forma de cruz, que permite un desgarramiento más eficaz para la creación de microcanales²⁰.

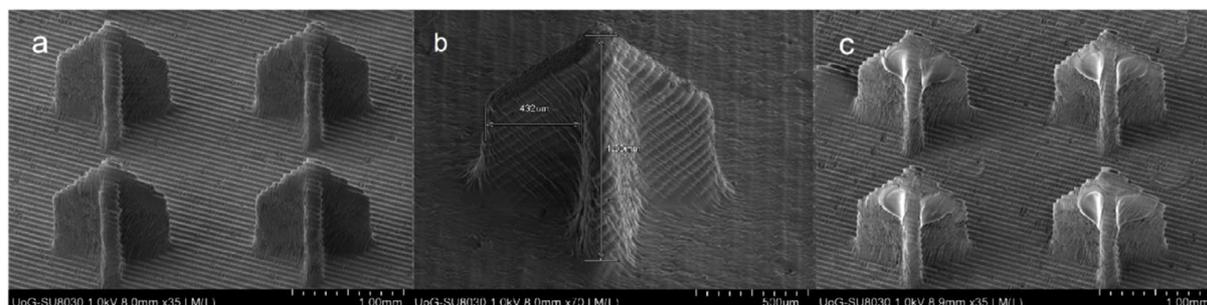


Fig. 12. Imágenes obtenidas por SEM²⁰. a) y b) Microagujas sin recubrir. c) Microagujas recubiertas con la solución de cisplatino y el copolímero polivinil caprolactama-acetato de polivinilo-polietilenglicol.

A su vez, para evaluar la capacidad de liberación del fármaco a la piel por parte de las microagujas, se realizó en primer lugar una visualización a simple vista de la punción en la piel con las mismas, para lo cual se empleó un colorante como es el azul de metileno simulando el fármaco, de manera que se colocó el parche sobre la piel porcina presionando con un analizador de textura y retirando para observar las cruces azules en la piel porcina. Se observó cómo recién retirado el parche a las 0h se apreciaban las punciones azules en forma de cruz y cada hora hasta alcanzar las 4h se distinguía como el color iba disminuyendo hasta desaparecer debido a la absorción del colorante por parte de la piel. Esta prueba también se realizó con un colorante fluorescente cuya señal luminosa de fluorescencia iba desapareciendo conforme se absorbía en la piel²⁰.

Otro ensayo que fue realizado fue el de resistencia y fuerza de penetración de las microagujas también sobre piel porcina neonatal con un analizador de textura. Las secciones de piel se colocaron en placas de Petri que a su vez estaban fijadas a la sonda fija del instrumental mientras que el parche se colocó en la sonda móvil que se movía a una velocidad de 0,01 mm/s. Se realizó este mismo experimento, pero con microagujas metálicas para obtener una comparativa y ambos ensayos se repitieron cinco veces. Una vez realizados los ensayos no se detectó ninguna aguja rota o dañada, lo que significa que presentan buena resistencia. Se registraron los datos de fuerza ejercida frente al desplazamiento que mostraron un aumento progresivo de la pendiente hasta un pico máximo de fuerza con la posterior caída brusca debido a la introducción completa de las microagujas. Se detectó finalmente que la fuerza necesaria para la penetración en la piel de las agujas impresas en 3D era considerablemente menor que la requerida por las agujas metálicas, en concreto 1,8N y 3,9N respectivamente, lo que demuestra que además de ser resistentes y seguras, las microagujas impresas mediante SLA son más fáciles de aplicar y con una mayor eficiencia²⁰.

Antes de realizar los ensayos *in vivo* e *in vitro* para evaluar, por un lado, la difusión del fármaco a la piel y, por otro, su eficacia antitumoral una vez administrado mediante el parche, se preparó el material que se iba a requerir para dichos ensayos. En primer lugar, al investigar el proceso de impresión por chorro de tinta, se detectó que al alterar el número de ciclos de recubrimiento se obtenía un rango de cantidades de CPT/Soluplus[®], por lo que el ensayo *in vitro* tuvo lugar para dilucidar qué cantidad de carga era la más adecuada. En segundo lugar, para que el ensayo *in vivo* pudiera realizarse era necesario que los ratones vivos desarrollaran el tumor epidermoide escamoso para el cual se estaba estudiando la efectividad del parche de cisplatino. Para ello, se hizo un cultivo de línea celular de carcinoma escamoso humano A-431 de manera que dichas células crecieron en monocapa en un medio de cultivo DMEM complementado con suero bovino fetal 10% (v/v), L-glutamina 1% v/v y penicilina-estreptomicina 0,5% v/v a una temperatura de 37°C en atmósfera húmeda y con 5% de CO₂. En cuanto a los ratones utilizados fueron seleccionados ratones albinos Balb/c de 7-8 semanas y 18-25 gramos de peso a los que se les inoculó 1x10⁶ células/dosis/ratón de forma subcutánea en el costado del mismo. Se monitorizó el crecimiento de los tumores desde el día 0 diariamente hasta pasados 10 días y también posteriormente durante el tratamiento para observar la evolución²⁰.

Una vez que se dispuso de todo el material se comenzaron los ensayos. En cuanto a la finalidad principal del ensayo *in vitro*, esta era determinar la carga de fármaco que era necesario utilizar en el recubrimiento de las microagujas, ya que el objetivo era conseguir la máxima liberación de fármaco en 1 hora puesto que las exigencias legales de Reino Unido solo permitían la aplicación de los parches sobre ratones vivos durante ese tiempo, por lo que antes de realizar el ensayo *in vivo* se estudió *in vitro* dicha carga de fármaco. Para este estudio se emplearon parches de microagujas recubiertos que variaban en un rango de 0,3 a 1,6 mg mientras que la carga de cisplatino variaba de 150 a 770 microgramos. Se aplicaron los parches en secciones de piel de cerdo que previamente había sido depositada en una solución salina de tampón fosfato y el conjunto de piel y parche de microagujas en forma de cruz se situaron en una celda Franz para el registro de las tasas de liberación²⁰.

Los resultados del ensayo sobre piel porcina mostraron que la liberación de cisplatino fue del 100% tanto en las matrices de microagujas recubiertas con capas finas como en aquellas de capas más gruesas con mayor carga de fármaco. La diferencia radica en la velocidad en la que se alcanza el 100% de la liberación pues, en el caso de aquellas cargas más bajas de cisplatino, la liberación del mismo fue del 90-100% en la primera hora de aplicación mientras

que en las cargas más altas se liberó el 45-65% en la primera hora y el 95-100% en el periodo de las 1-4 horas. Esto se explicaría porque las capas más finas de CPT/SOL permiten al polímero hidrófilo solubilizar mejor el cisplatino facilitando la liberación, mientras que cuando la carga de CPT es mayor, al ser este hidrófobo y encontrarse en mayor proporción la liberación se ve dificultada, por lo que para el ensayo *in vivo* se escogerán las que presentan una menor carga de cisplatino. Sin embargo, se concluye que el parche de microagujas en forma de cruz impresas con estereolitografía y recubiertas con inyección de chorro de tinta presenta un buen perfil de liberación²⁰.

Por último, para el ensayo *in vivo* se agruparon 16 ratones con el tumor desarrollado (tamaño mayor de 5 mm) en 4 grupos de 4 ratones cada uno a los que se les aplicó el parche con 20 mg de CPT/Kg de diferentes maneras durante un periodo de 10 días. El grupo A1 fue el grupo control, al cual se le aplicó el parche de microagujas sin carga de fármaco; el grupo B1 fue el grupo al que se le aplicó el parche con fármaco en el lugar del tumor; el grupo C1 fue el grupo al que se le aplicó el parche en un sitio próximo al tumor pero no en el mismo lugar del mismo; el grupo D1 fue constituido por ratones a los que se les aplicó el parche cargado en el lugar del tumor durante 8 días y los 2 días restantes se le cambió a un lugar próximo pero diferente al del tumor²⁰.

Como se puede observar en el siguiente gráfico, el grupo control desarrolló el tumor hasta que finalmente fueron eutanasiados. Por el contrario, el grupo tratado con el parche en el lugar del tumor sí presentó una regresión del mismo del 30%, aunque se esperaba un resultado de regresión mayor, lo que se atribuyó a la variación en la superficie del tumor respecto del resto de la piel y a que el parche podría no haberse adherido correctamente o podría haberse desplazado por los movimientos normales del ratón. Sin embargo, el resultado fue curioso en el caso del grupo C1 que fue tratado con el parche en un sitio próximo al tumor pero ajeno a él, en el que se observó una regresión completa del tumor (Fig. 13). El tratamiento se aplicó tres días después de alcanzar el volumen crítico 5 mm³ observándose una regresión de 8,2 mm³ a 1,3 en las primeras 24 horas de tratamiento y eliminándose el último resquicio tumoral al 5° día de tratamiento, suponiendo la total supervivencia de los animales. En cuanto al grupo D1 que fue tratado durante los 8 primeros días en el lugar del tumor y cambiado a un sitio ajeno pero próximo a este en los 2 días restantes, se detectó el cambio radical en estos últimos 2 días con una regresión tumoral del 93%. Este significativo nivel de eficacia en el grupo tratado en un lugar ajeno al tumor puede explicarse primeramente porque la piel de los ratones es menos gruesa que la porcina y, por tanto, más fácil de penetrar además de favorecer una difusión más facilitada del fármaco y, por otra parte, porque debido a que el fármaco difunde mejor que en la piel porcina, al administrarlo sobre superficie no alterada es capaz de alcanzar más fácilmente la circulación sistémica y que el antineoplásico llegue al lugar del tumor de forma más rápida y efectiva. Esto se ve corroborado en el grupo D1, donde la efectividad del tratamiento se detectó al cambiar el parche de sitio desde el lugar del tumor a otro lugar próximo²⁰.

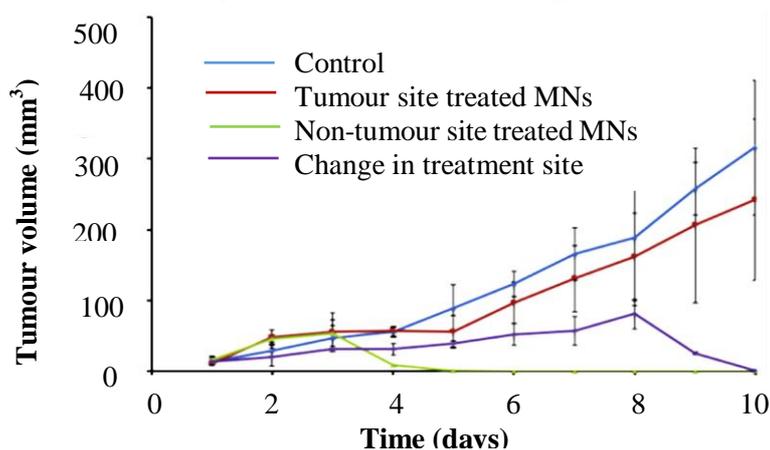


Fig. 13. Regresión del volumen del tumor (mm³) después del tratamiento con las microagujas con forma de cruz cargadas con cisplatino²⁰.

En base a los numerosos resultados positivos recogidos en el estudio mediante la realización de diferentes ensayos se puede concluir que el hecho de fabricar el parche de microagujas a través de impresión 3D mediante la combinación de las técnicas de estereolitografía para las microagujas e inyección de chorro de tinta para la carga de fármaco, permitía la obtención de parches con microagujas de gran calidad y resolución y, además, el diseño en forma de cruz aportaba resistencia al parche y beneficiaba considerablemente tanto la penetración en la piel como la liberación del principio activo. Por último, tanto los estudios *in vitro* como *in vivo* demuestran que es una metodología verdaderamente útil para tratamiento de cáncer de piel con antineoplásicos empleando como vía de administración la transdérmica, resultando en un 100% de supervivencia en los estudios *in vivo* realizados²⁰.

A continuación, en la tabla 1, se muestra una comparativa de los distintos estudios revisados para obtener una imagen global de cada uno y las principales diferencias entre ellos.

Estudio	Estudio 1	Estudio 2	Estudio 3
TIPO DE IMPRESIÓN	Inyección de chorro de tinta	- Microagujas: estereolitografía - Recubrimiento con el fármaco: inyección de chorro de tinta	- Microagujas: estereolitografía - Recubrimiento con el fármaco: inyección de chorro de tinta
MATERIALES	- Sensor microcalentador: Solución de MWCNT y PDMS - Microagujas: celulosa	- Microagujas: resina de biopolímero de clase I - Recubrimiento: fármaco + excipientes (5:1 p/p)	- Microagujas: resina de polímero biocompatible - Recubrimiento: fármaco + excipientes
FÁRMACO	Modelo: colorante fluorescente cianina (Cy5)	Insulina	Cisplatino
EXCIPIENTES	—	Xilitol, manitol y trehalosa en 3 soluciones diferentes	Solución de polímero hidrófilo Soluplus®
ACTIVIDAD DEL PARCHES	Reducción del dolor lumbar	Reducción de hiperglucemia	Disminución del tamaño del tumor de piel escamoso humano
CARACTERÍSTICAS DEL DISPOSITIVO	- Sensor impreso en 3D con forma de meandro: 30x20 mm - Parche de microagujas: 1x1 cm	Parche de 15x15x1 mm con dos formas diferentes de microagujas: - Lanza: 0,08x1 mm - Pirámide: 1x1 mm	Parche de 15x10x1,5 mm con microagujas en forma de cruz con dimensiones: - Anchura x altura: 1x1 mm - Cada aleta: 0,43 mm

Tabla 1. Resumen comparativo de cada estudio revisado.

CONCLUSIÓN

A lo largo de este trabajo se ha desarrollado con detalle el proceso de impresión 3D y las diferentes técnicas de impresión mediante las cuales en la actualidad es factible la fabricación de medicamentos de manera rápida, sencilla y reproducible y que, además, ha permitido la personalización de algunos tratamientos individualizando cada proceso a las necesidades del paciente.

En concreto, el tema a analizar ha sido su posible aplicación sobre la elaboración de formas farmacéuticas de aplicación transdérmica para el tratamiento de distintas enfermedades. Se ha puesto de manifiesto las ventajas que aportan las microagujas sobre la liberación transdérmica, como por ejemplo el uso de las mismas para administración sistémica de fármacos por vía tópica o la ausencia de dolor en su aplicación, lo que favorecería enormemente el cumplimiento y la adherencia a la terapia por parte de pacientes que tienen pánico a las agujas, además de verse demostrada una efectividad superior respecto a otros métodos convencionales de administración. Aunque se han fabricado microagujas con distintos materiales y estas han sido utilizadas principalmente en el campo de la cosmética, como el tratamiento de arrugas, esto ha supuesto un incremento en la investigación y el desarrollo de microagujas impresas en 3D para el tratamiento de enfermedades, desde tratamiento local del dolor a tratamiento sistémico de algunas patologías como la diabetes o, incluso, el cáncer.

A pesar de los múltiples beneficios que pueden aportar a la terapéutica actual, incluyendo la calidad de vida del paciente y, en consecuencia, un impacto positivo sobre la salud pública, aún no se ha conseguido comercializar ni extender el uso en la clínica de parches de microagujas para tratamiento de enfermedades sistémicas. Es por ello que, en base a los resultados obtenidos en diversos estudios reflejados en este trabajo, se abre una nueva oportunidad de desarrollo de este tipo de formas farmacéuticas impresas en 3D que quizá, en el futuro, pudieran utilizarse incluso para la administración de vacunas de manera más eficiente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Goole J, Amighi K. 3D printing in pharmaceuticals : A new tool for designing customized drug delivery systems. Int J Pharm [Internet]. 2016;499(1-2):376-94. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.12.071>
2. Sachs EM, Haggerty JS, Cima MJ, Williams PA. Three-dimensional printing techniques. EE.UU; 5,204,055, 1993.
3. Spritam [Internet]. [citado 30 de marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.spritam.com/#/patient/about-spritam/what-is-spritam>
4. Economidou SN, Lamprou DA, Douroumis D. 3D printing applications for transdermal drug delivery. Int J Pharm [Internet]. 2018;544(2):415-24. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.01.031>
5. Quinn AG. Biology of the skin and dermatological disease. Medicine (Baltimore) [Internet]. 2004;32(12):1-3. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1357303906706958>
6. Alkilani AZ, McCrudden MTC, Donnelly RF. Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum. 2015;438-70.
7. Serrano DR, Cerda JR, Fernandez-Garcia R, Perez-Ballesteros FL, Ballesteros MP, Lalatsa A. Market Demands in 3D Printing Pharmaceuticals Products. En: 3D Printing Technology in Nanomedicine [Internet]. Elsevier Inc.; 2019. p. 165-83. Disponible en:

- <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815890-6.00009-8>
8. FDA. Technical Considerations for Additive Manufactured Medical Devices - Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff. 2017. 31 p.
 9. Dumitrescu IB, Lupuliasa D, Drăgoi CM, Nicolae AC, Pop A, Şaramet G, et al. The age of pharmaceutical 3D printing. Technological and therapeutical implications of additive manufacturing. *Farmacia* [Internet]. 2018;66(3):365-89. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/326107177_The_age_of_pharmaceutical_3D_printing_Technological_and_therapeutical_implications_of_additive_manufacturing
 10. Brown AC, de Beer D, Conradie P. Development of a Stereolithography (STL) input and Computer Numerical Control (CNC) output algorithm for an entry-Level 3-D printer. *South African J Ind Eng* [Internet]. 2014 [citado 18 de junio de 2020];25(2):39-47. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/267640484_Development_of_a_Stereolithography_STL_input_and_Computer_Numerical_Control_CNC_output_algorithm_for_an_entry-Level_3-D_printer
 11. Jones J. 7 Families of Additive Manufacturing. A quick reference guide. 2018;15. Disponible en: <http://www.hybridmanutech.com/resources.html>
 12. Shahrubudin N, Lee TC, Ramlan R. An overview on 3D printing technology: Technological, materials, and applications. *Procedia Manuf* [Internet]. 2019;35:1286-96. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.promfg.2019.06.089>
 13. Daly R, Harrington TS, Martin GD, Hutchings IM. Inkjet printing for pharmaceuticals. A review of research and manufacturing. *Int J Pharm*. 2015;494(2):554-67.
 14. Azad MA, Olawuni D, Kimbell G, Badruddoza AZM, Hossain MS, Sultana T. Polymers for extrusion-based 3D printing of pharmaceuticals: A holistic materials-process perspective. *Pharmaceutics* [Internet]. 2020;12(2):1-34. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32028732/>
 15. Ngo TD, Kashani A, Imbalzano G, Nguyen KTQ, Hui D. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. *Compos Part B Eng* [Internet]. 2018;143(December 2017):172-96. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2018.02.012>
 16. Lamichhane S, Bashyal S, Keum T, Noh G, Seo JE, Bastola R, et al. Complex formulations, simple techniques: Can 3D printing technology be the Midas touch in pharmaceutical industry? *Asian J Pharm Sci*. 2019;14(5):465-79.
 17. Norman J, Madurawe RD, Moore CMV, Khan MA, Khairuzzaman A. A new chapter in pharmaceutical manufacturing: 3D-printed drug products. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017;108:39-50.
 18. Yin M, Xiao L, Liu Q, Kwon SY, Zhang Y, Sharma PR, et al. 3D Printed Microheater Sensor-Integrated, Drug-Encapsulated Microneedle Patch System for Pain Management. *Adv Healthc Mater* [Internet]. 2019;8(23):1-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/adhm.201901170>
 19. Economidou SN, Pere CPP, Reid A, Uddin MJ, Windmill JFC, Lamprou DA, et al. 3D printed microneedle patches using stereolithography (SLA) for intradermal insulin delivery. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2019;102(April):743-55. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.04.063>
 20. Uddin MJ, Scoutaris N, Economidou SN, Giraud C, Chowdhry BZ, Donnelly RF, et al. 3D printed microneedles for anticancer therapy of skin tumours. *Mater Sci Eng C* [Internet]. 2020;107(February 2019):110248. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110248>