

APÓSITO POLIMÉRICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA LEISHMANIASIS CUTÁNEA

**PAOLA ANDREA RAMOS GONZÁLEZ
DANIELA VILLA MORENO**



**ESCUELA DE INGENIERÍA DE ANTIOQUIA –
UNIVERSIDAD CES
INGENIERÍA BIOMÉDICA
ENVIGADO
2012 - 2**

APÓSITO POLIMÉRICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA LEISHMANIASIS CUTÁNEA

**PAOLA ANDREA RAMOS GONZÁLEZ
DANIELA VILLA MORENO**

Trabajo de grado para optar al título de Ingenieras Biomédicas

Director:

Bruno Travi, DVM, Ph.D

Universidad de Texas



**ESCUELA DE INGENIERÍA DE ANTIOQUIA –
UNIVERSIDAD CES
INGENIERÍA BIOMÉDICA
ENVIGADO
2012 - 2**

Dedico este trabajo a Dios que es el motor de mi vida y que hizo posible que llegaré hasta aquí. A mis padres que con su esfuerzo y dedicación me han apoyado y me han dado una educación integral. A los profesores y a todas las personas que de una u otra forma han estado a mi lado durante este tiempo y que me han ayudado de muchas maneras a seguir adelante con todos mis proyectos.

Paola Andrea Ramos González

Dedico este trabajo a todos los que me han apoyado a lo largo de mi formación profesional. A mi familia y a Dios por no dejarme desfallecer en momentos de dificultad, y a mis compañeros de carrera y maestros por acompañarme en el proceso de aprendizaje.

Daniela Villa Moreno

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Escuela de Ingeniería de Antioquia por la formación integral brindada a lo largo de estos años y por la financiación de este trabajo de grado.

De igual manera al Ces Sabaneta, al ICMT y al laboratorio de biomateriales por brindarnos los equipos necesarios y materiales requeridos para la realización de nuestro proyecto. A buena parte de su personal, que fue de gran importancia en la asesoría del uso de los equipos.

Al Dr. Bruno Travi, por creer en nuestro trabajo, por su disposición, acompañamiento y su buena dirección en este proceso; por sus importantes aportes desde su experiencia y a la Universidad de Texas por el suministro del Disulfiram. A Claudia Elena Echeverri por su buena asesoría y a Pedronel Araque Marín por su valiosa contribución de la emulsión del Disulfiram en la incorporación de este, en el apósito polimérico.

A la SIU, por permitirnos realizar la microscopía electrónica de barrido SEM a cargo de Darling Perea M, que con su colaboración nos permitió obtener imágenes valiosas para la comprensión del fenómeno de liberación del principio activo.

A nuestras familias por sus esfuerzos y dedicaciones a lo largo de todo nuestro proceso académico, por siempre estar a nuestro lado y ser nuestro más grande apoyo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN.....	3
1. PRELIMINARES.....	4
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
1.1.1 Contexto y caracterización del problema	4
1.1.2 Formulación del problema	5
1.2 OBJETIVOS DEL PROYECTO.....	5
1.2.1 Objetivo General.....	5
1.2.2 Objetivos Específicos	5
1.3 MARCO DE REFERENCIA	5
1.3.1 Generalidades de la Leishmaniasis	5
1.3.2 Tratamientos de la leishmaniasis cutánea	8
1.3.3 Disulfiram	11
1.3.4 Generalidades de los apósitos.....	13
2. METODOLOGÍA.....	23
2.1 MATERIALES Y EQUIPOS	23
2.2 PROCEDIMIENTO	25
2.2.1 Síntesis del apósito	25
2.2.2 Caracterización del apósito	25
2.2.3 Evaluación de la cinética de liberación del apósito	25
3. DESARROLLO DEL PROYECTO	27
3.1 SÍNTESIS DEL APÓSITO.....	27

3.2	CARACTERIZACIÓN DEL APÓSITO	29
3.2.1	Caracterizaciones morfológicas y de superficie	29
3.2.2	Caracterizaciones mecánicas	30
3.3	EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE LIBERACIÓN DEL APÓSITO	31
4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	32
4.1	SÍNTESIS DEL APÓSITO.....	32
4.2	CARACTERIZACIÓN DEL APÓSITO	33
4.2.1	Estructura química.....	33
4.2.2	Caracterizaciones morfológicas y de superficie	36
4.2.3	Caracterizaciones mecánicas	45
4.3	EVALUACIÓN DEL APÓSITO	47
4.3.1	Curva calibración Disulfiram	47
4.3.2	Cinética de liberación del disulfiram a través del apósito	48
5.	CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES	51
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	53

LISTA DE TABLAS

pág.

Tabla 1. <i>Casos de Leishmaniasis por departamento en el año 2011. Tomado de (Pública, 2011)</i>	6
Tabla 2. <i>Tratamientos para la leishmaniasis. Tomado de (García-Almagro, 2005).</i>	10
Tabla 3. <i>Generalidades del Disulfiram. Tomado de (Pubchem , 2012)</i>	12
Tabla 4. <i>Requerimientos básicos de los apósitos. Modificada de (Gatica, 2005)</i>	21
Tabla 5. <i>Equipos utilizados en el desarrollo del proyecto</i>	23
Tabla 6. <i>Materiales y reactivos utilizados en el desarrollo del proyecto.</i>	24
Tabla 7. <i>Factores y niveles de los factores del experimento.</i>	28
Tabla 8. <i>Tratamientos realizados</i>	29
Tabla 9. <i>Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de alginato al 1%.</i>	45
Tabla 10. <i>Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de quitosano al 1%...</i>	45
Tabla 11. <i>Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de PVA al 5%.</i>	45
Tabla 12. <i>Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de alginato, quitosano y PVA.</i>	46
Tabla 13. <i>Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de alginato, quitosano y PVA cargado con Disulfiram.</i>	46
Tabla 14. <i>Generalidades del ácido oleico. Tomado de (Pubchem)</i>	67
Tabla 15. <i>Generalidades del tween 80. Tomado de (Pubchem).</i>	68

LISTA DE FIGURAS

pág.

Figura 1. <i>Efecto del Disulfiram en el metabolismo del Alcohol. Tomada de Medscape. ...</i>	13
Figura 2. <i>Tipos de apósitos existentes en el mercado. Tomado de (Jiménez, 2008)</i>	15
Figura 3. <i>Estructura química del alginato. Tomada de (Webber & Shull, 2004).</i>	17
Figura 4. <i>Obtención de Quitina y Quitosano (Velásquez, 2006).</i>	18
Figura 5. <i>Estructura química de la Quitina y del Quitosano (Gatica, 2005).</i>	19
Figura 6. <i>Estructura química del PVA.</i>	20
Figura 7. <i>Liofilizador.</i>	29
Figura 8. <i>Sacabocado y tipo de probetas utilizadas para los ensayos de tensión.</i>	30
Figura 9. <i>Desarrollo de los ensayos de tensión en la máquina universal a una probeta sacada del apósito cargado con Disulfiram.</i>	30
Figura 10. <i>Muestra control de PVA al 5%.</i>	32
Figura 11. <i>Apósito de Alginato, Quitosano, PVA y Disulfiram luego de salir del liofilizador</i>	33
Figura 12. <i>Espectro del Alginato de sodio al 1%. Imagen obtenida mediante FTIR.</i>	34
Figura 13. <i>Espectro del Quitosano al 1%. Imagen obtenida mediante FTIR.</i>	34
Figura 14. <i>Espectro del PVA al 5%. Imagen obtenida mediante FTIR.</i>	35
Figura 15. <i>Espectro del Disulfiram. Imagen obtenida mediante FTIR.</i>	35
Figura 16. <i>Espectro del apósito cargado con Disulfiram. Imagen obtenida mediante FTIR.</i>	36
Figura 17. <i>Vista en el microscopio de la morfología del Alginato. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura. .</i>	37

Figura 18. Vista en el microscopio de la morfología del quitosano. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura. .	38
Figura 19. Vista en el microscopio de la morfología del PVA. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura.....	39
Figura 20. Vista en el microscopio de la morfología del apósito construido con alginato, quitosano y PVA. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura.	40
Figura 21. Vista en el microscopio de la morfología del apósito construido con alginato, quitosano y PVA. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura.	41
Figura 22. Imágenes de SEM del alginato al 1%.....	42
Figura 23. Imágenes de SEM del quitosano al 1%.....	43
Figura 24. Imágenes de SEM del PVA al 5%.....	43
Figura 25. Imágenes de SEM del Disulfiram.	43
Figura 26. Imágenes de SEM del apósito de control con la mezcla de alginato, Quitosano y PVA al 1%.....	44
Figura 27. Imágenes de SEM del apósito cargado con Disulfiram.	44
Figura 28. Comparación de las propiedades mecánicas de cada uno de los apósitos realizados.	47
Figura 29. Curva de calibración del Disulfiram.....	47
Figura 30. Curva de calibración final de Disulfiram	48
Figura 31. Liberación del disulfiram en el tiempo.	50
Figura 32. Liberación del disulfiram en el tiempo	50

LISTA DE ANEXOS

pág.

Anexo 1. Protocolo para la preparación de Quitosano al 1% p/v.....	62
Anexo 2. Protocolo para la preparación de Alginato de sodio al 1% p/v.....	64
Anexo 3. Emulsión trabajada con el disulfiram.....	66

RESUMEN

La curación de las heridas y lesiones en la piel, ha sido un tema que se trata desde la antigüedad, recurriéndose a varios mecanismos para el tratamiento de estas; desde vendajes, hierbas, ungüentos y otras alternativas modernas como los apósitos. Estos últimos, son de gran importancia en este campo, porque promueven la curación de las heridas, protegiéndolas del medio exterior, absorbiendo el exudado, liberando en muchos casos algún tipo de fármaco y contribuyendo con la cicatrización de los tejidos. Son muchos los materiales que se utilizan en la construcción de los apósitos y poco a poco se ha ido convirtiendo en un tema de mayor interés para el personal médico.

La Leishmaniasis por su parte, es una enfermedad endémica, que genera en las personas grandes lesiones en su piel. Son de difícil tratamiento y dejan grandes cicatrices en los pacientes. Actualmente se considera un gran problema de salud pública y una epidemia que ha tenido poco interés y apoyo. Colombia por su parte, es un país que sufre esta problemática, debido a su ubicación geográfica. Actualmente no se tiene un tratamiento para esta enfermedad que contribuya de forma directa en la eliminación parasitaria y que promueva la cicatrización de estas heridas de manera localizada, ya que normalmente son tratamientos tóxicos que tienen efectos secundarios, o que son de difícil acceso para quienes viven retirados de las ciudades.

Este trabajo de investigación consistió en el desarrollo de un apósito polimérico, compuesto de Alginato, Quitosano y Alcohol Polivinílico (PVA), cargado con Disulfiram como principio activo para el tratamiento de la Leishmaniasis Cutánea. Para la síntesis de este, se utilizaron tres polímeros que contenían el fármaco disuelto en forma de emulsión, debido a la propiedad hidrofóbica que este tiene, compuesta por aceite de girasol, ácido oleico y tween 80.

Se realizaron pruebas de microscopia óptica y SEM a los controles poliméricos y al apósito desarrollado, para determinar la estructura de cada polímero, la topología y superficie; así mismo, para caracterizar la red polimérica que conformaba el apósito, con los tres polímeros y la inmersión del principio activo. De igual forma se realizaron pruebas mecánicas por medio de una maquina de ensayos universales.

Finalmente, se realizó un análisis de la cinética de liberación de la droga incorporada al apósito donde los resultados mostraron una aparente liberación controlada del medicamento. Sin embargo se necesitan estudios adicionales para confirmarlo.

Los análisis desarrollados en este proyecto son un primer paso en la búsqueda de una solución efectiva para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea.

Palabras clave: Leishmaniasis, Apósito, Disulfiram, polímeros, emulsión.

ABSTRACT

Wound healing and the treatment for skin lesions has been a challenge and concern since ancient times, and many different approaches have been tried for this matter. Some of them are the common bandages, herbs, ointments and recently, the use of wound dressings have become more popular. The wound dressings promote wound healing by protecting it from the environment, absorbing the exudate, accelerating the healing and in many cases, releasing drugs for an even faster treatment. There are many materials that can be used for these applications and this topic is becoming of more interest to the investigators and all the people working in the health sector.

Leishmaniasis is an endemic disease that affects a lot of people causing big and sometimes incapacitating ulcers in the skin. These lesions are hard to treat and usually leave big scars on the skin. Nowadays, this disease is considered to be a public health problem and investigations aimed at finding new ways of treatment is essential. Colombia, due to its ecological characteristics is one of the South American countries that suffer this problem the most. There is no effective treatment that simultaneously contribute to healing and elimination of the parasites, and most of these treatments are toxic and have secondary effects or are of difficult access to people living outside the cities.

This research consisted on the development of a polymeric wound dressing of alginate, chitosan and PVA, loaded with Disulfiram as an active principle for the treatment of cutaneous leishmaniasis. For its synthesis, the drug was dissolved in an emulsion consisting of sunflower oil, oleic acid and tween 80, in order to incorporate it to the mix of the three polymers. This was necessary due to the hydrophobic nature of the drug.

All the controls as well as the final wound dressing, were studied using an optical microscope and SEM to determine the corresponding superficial structure and porosity. Mechanical tests were made as well. Finally, an analysis of the kinetic of drug release from the wound dressing was performed, showing an apparently controlled release of the drug. Nevertheless, additional studies are required to confirm this conclusion.

The studies developed in this project are the first step to finding a solution of a no toxic and effective treatment for cutaneous leishmaniasis.

Key words: Leishmaniasis, wound dressing, Disulfiram, polymers, emulsion.

INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis cutánea es una problemática de salud pública Colombiana, que ha afectado por décadas a campesinos, indígenas, población rural, fuerzas militares y civiles, que se encuentran en zonas críticas, propicias para el desarrollo de esta enfermedad. Desde el año 2003, en nuestro país se registra un incremento en los casos de personas contagiadas y es preocupante la aparición de nuevos focos, debido a la deforestación y a la gran cantidad de zonas selváticas con las que contamos (Echeverry, Milena, & Trujillo, n.d.).

Los pacientes pueden presentar heridas cerradas, llagas verrugosas o úlceras con bordes más elevados, siendo en su mayoría indoloras y con un crecimiento lento. El tratamiento de primera mano son antimoniales pentavalentes, como el Glucantime® y otra droga llamada Pentostam®. Por otra parte, se adelantan estudios clínicos con cápsulas de Impavido® (Miltefosina), que sugieren solo su uso en caso del tipo cutáneo, transmitida por leishmania panamensis (Echeverry et al., n.d.).

Dada la estructura socioeconómica que se tiene en el país, la escasa investigación en este tema, las condiciones geográficas y la toxicidad de los medicamentos existentes, se hace necesario desarrollar una nueva alternativa que sea económicamente viable, de fácil producción, de bajo impacto ambiental y que cumpla con los requerimientos médicos (Pública, 2011).

Para esto se analizan los tratamientos existentes los cuales son dolorosos, tóxicos y costosos para los pacientes, y en búsqueda de una nueva alternativa se opta por trabajar con un apósito polimérico cargado con un fármaco, el cual tiene propiedades antiparasitarias que ataca la infección de forma más localizada y efectiva (González Urbà, 2008), (Velez, Hendrickx, Robledo, & Agudelo, 2001).

En el desarrollo del apósito se emplea tres materiales, dos polímeros de origen natural y uno polimérico, que contienen en su interior un medicamento utilizado tradicionalmente para combatir el alcoholismo, pero que igual forma esta siendo utilizado para la cura de la leishmaniasis cutánea. La función del apósito es actuar como sistema de liberación del principio activo y contribuir con la curación de la lesión de la piel. Para caracterizarlo se hicieron pruebas de microscopia óptica y microscopia electrónica de barrido, con el fin de observar la morfología y la conformación de su estructura interna. Se realizaron además, pruebas mecánicas de tracción para encontrar el modulo de elasticidad y de disolución para evaluar la cinética de liberación del apósito cargado (Echeverry et al., n.d.).

1. PRELIMINARES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.1 Contexto y caracterización del problema

La leishmaniasis es una enfermedad producida por parásitos del género *leishmania*, transmitida por la picadura del flebótomo hembra. Existen tres formas diferentes de leishmaniasis: la cutánea, que afecta la piel produciendo úlceras muchas veces de difícil tratamiento; la mucosa, que involucra las membranas mucosas de la nariz, el paladar, la faringe y la laringe; y la leishmaniasis visceral que es de característica sistémica y puede incluso causar la muerte si no se aplica un tratamiento oportuno (Instituto Nacional de Salud, 2009).

Aunque son muchos los síntomas que afectan a quienes sufren esta enfermedad, como son la fiebre, fatiga, dificultad para respirar y deglutir, congestión nasal, entre otras, sin duda, las lesiones en la piel son las más comunes y de más difícil tratamiento (Instituto Nacional de Salud, 2009).

Esta enfermedad ha sido registrada en aproximadamente 88 países del mundo, siendo Colombia uno de ellos. Se calcula que ocurren anualmente en el mundo alrededor de 12 millones de casos de leishmaniasis. En Colombia, los lugares con clima cálido y muy húmedo son ideales para transmitir la enfermedad, estando actualmente muchas personas en riesgo de contraerla. De todos los casos que se presentan de leishmaniasis en Colombia al año, el 95% de ellos es de tipo cutánea (Instituto Nacional de Salud, 2009). Debido al alto porcentaje de pacientes infectados y al número de personas que se encuentran actualmente en riesgo de infección, el cual es de aproximadamente 350 millones, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica esta enfermedad como prioritaria para la investigación y el control (Velez, Hendrickx, Robledo, & Agudelo, 2001).

Hasta el momento, no se tiene un tratamiento efectivo para la enfermedad, por lo que se tienen más medidas preventivas que correctivas. Una vez se ha contraído la enfermedad, se acude al uso de medicamentos como los antimoniales pentavalentes, el alopurinol, la miltefosina y otros, que en general tienen efectos secundarios, pueden ser costosos o difíciles de administrar (Velez et al., 2001).

El uso de apósitos y antisépticos ha sido en su mayor parte cosmético, para reducir cicatrices o acelerar la curación de las lesiones, pero pocos han sido usados como método principal de tratamiento. Para el tipo de heridas causadas por la leishmaniasis se recomiendan apósitos de tipo hidrocoloide (apósitos de polímeros con propiedades de absorción media) y con carboximetilcelulosa, y se recomiendan que sean poco adhesivos (González Urbà, 2008).

1.1.2 Formulación del problema

En Colombia es necesario buscar soluciones efectivas para el tratamiento de las lesiones cutáneas de personas que sufren leishmaniasis, ya que por presentarse comúnmente en zonas rurales es difícil tener acceso a tratamientos costosos o que requieren de constante asistencia de un médico. Diseñar un apósito que contenga un principio activo efectivo para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea y acelere el tratamiento, puede ser un gran apoyo para las personas que padecen ese tipo de enfermedad.

1.2 OBJETIVOS DEL PROYECTO

1.2.1 Objetivo General

Desarrollar un apósito polimérico cargado con un principio activo efectivo que ayude al tratamiento de la leishmaniasis cutánea.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar un apósito polimérico que permita la liberación controlada de fármacos.
- Establecer las propiedades mecánicas y estructurales del apósito mediante pruebas de tracción y microscopia óptica.
- Evaluar la cinética de liberación del apósito cargado con Disulfiram por medio de ensayos de disolución.

1.3 MARCO DE REFERENCIA

1.3.1 Generalidades de la Leishmaniasis

La leishmaniasis es una enfermedad producida por parásitos del género *Leishmania*, transmitida por la picadura del flebótomo hembra. Este insecto, infecta a animales como marsupiales, primates, roedores y mamíferos carnívoros, y a seres humanos, inyectando a la dermis parásitos en fase promastigote (que tiene un largo flagelo para su movimiento), y que son posteriormente fagocitados por los macrófagos del hospedero y convertidos en amastigotes (estado en el que se encuentra dentro de la célula infectada). Según la especie del parásito, se presentan en el paciente diferentes manifestaciones clínicas, que comprometen la piel, las mucosas y órganos internos (Panagiotis Mitropoulos, 2010).

Existen tres formas diferentes de leishmaniasis: la cutánea, que afecta la piel produciendo úlceras muchas veces de difícil tratamiento; la mucosa, que involucra las membranas mucosas de la nariz, el paladar, la faringe y la laringe; y la leishmaniasis visceral que es de característica sistémica y puede incluso causar la muerte si no se aplica un tratamiento oportuno. Aunque son muchos los síntomas que afectan a quienes sufren esta enfermedad, como son la fiebre, fatiga, dificultad para respirar y deglutir, congestión

nasal, entre otras, sin duda, las lesiones en la piel son las más comunes y de más difícil tratamiento (Instituto Nacional de Salud, 2009).

El primer estudio sobre la leishmaniasis y las lesiones cutáneas fue hecho por Alexander Russell en 1756, debido a que tuvo un paciente que quedó con graves lesiones y cicatrices luego de sufrir la enfermedad. La leishmaniasis se distribuye en el Viejo y Nuevo mundo y puede ser endémico-epidémica. África, Asia, el Mediterráneo y el Medio Oriente, conforman el Viejo mundo, mientras que Norte, Centro y Suramérica, Australia y el Sur del Pacífico, hacen parte del Nuevo mundo. En el Nuevo Mundo la primera descripción clínica sobre un caso similar se hizo en Brasil en 1895 (Bari, 2006).

Esta enfermedad endémica ha sido registrada en aproximadamente 88 países del mundo, siendo Colombia uno de ellos. Se calcula que ocurren anualmente en el mundo alrededor de 12 millones de casos de leishmaniasis. En Colombia, los lugares con clima cálido y muy húmedo son ideales para transmitir la enfermedad, estando actualmente muchas personas en riesgo de contraerla. De todos los casos que se presentan de leishmaniasis en Colombia al año, el 98% de ellos es de tipo cutánea, con 8111 casos de los 8293 registrados en el 2011 (Pública, 2011). Debido al alto porcentaje de pacientes infectados y al número de personas que se encuentran actualmente en riesgo de infección, el cual es de aproximadamente 350 millones, la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica esta enfermedad como prioritaria para la investigación y el control (Velez et al., 2001). A continuación, se muestra en la Tabla 1 el número de casos de Leishmaniasis cutánea, mucosa y visceral para cada departamento de Colombia en el año 2011. Según el Instituto Nacional de Salud, los departamentos que contribuyen al 73% de los casos de Leishmaniasis son: Antioquia, Guaviare, Caquetá, Meta, Nariño, Vaupés, Santander y Putumayo, siendo el departamento de Antioquia el que más alto porcentaje de casos presenta (Pública, 2011).

Tabla 1. Casos de Leishmaniasis por departamento en el año 2011. Tomado de (Pública, 2011)

PROCEDENCIA	L. CUTÁNEA	L. MUCOSA	L. VISCERAL
AMAZONAS	29	36	0
ANTIOQUIA	1849	0	2
ARAUCA	8	1	0
ATLANTICO	2	0	0
BARRANQUILLA	5	0	0
BOLIVAR	189	0	8

BOYACÁ	96	4	1
CALDAS	200	0	0
CAQUETÁ	489	18	0
CARTAGENA	9	0	1
CASANARE	18	0	0
CAUCA	166	1	0
CESAR	43	1	0
CHOCÓ	270	1	0
CÓRDOBA	253	3	4
CUNDINAMARCA	167	5	1
GUAINÍA	21	0	0
GUAJIRA	26	0	0
GUAVIARE	776	17	0
HUILA	30	1	0
MAGDALENA	16	0	0
META	739	22	0
NARIÑO	526	6	1
NORTE DE SANTANDER	111	2	0
PUTUMAYO	365	3	0
QUINDÍO	21	0	0
RISARALDA	99	1	0
SANTANDER	395	7	1
SANTA MARTA	9	1	0

SUCRE	67	0	7
TOLIMA	379	5	2
VALLE	210	1	2
VAUPÉS	402	12	0
VICHADA	106	3	0
TOTAL	8111	152	30

○ **Diagnóstico de la enfermedad**

En 1926 Montenegro desarrolla su test cutáneo DTH que aún es usado como diagnóstico (García-Almagro, 2005).

Las principales manifestaciones y síntomas de quien padece esta enfermedad son la fiebre, la fatiga, dificultad para respirar y deglutir y congestión y hemorragia nasal (Instituto Nacional de Salud, 2009). En la cutánea se presenta desfiguración de la piel y las membranas mucosas y úlceras y llagas en la piel, aunque estas últimas lesiones no tienden a ser dolorosas (Tappe, Müller, & Stich, 2010). En la leishmaniasis mucosa las úlceras se presentan en el paladar, la lengua, las encías, labios, nariz, tabique nasal, faringe y laringe. Finalmente en la sistémica o visceral se presenta una molestia abdominal, la fiebre dura semanas, la piel toma un color grisáceo, hay pérdida de peso, diarrea, vómito, adelgazamiento del cabello y sudores fríos (Instituto Nacional de Salud, 2009).

Para el diagnóstico de esta enfermedad se cuentan con diversos métodos y alternativas, para detectar el parásito y el tipo de leishmaniasis. La técnica que más se utiliza es una biopsia o un raspado del borde de la lesión cutánea y su posterior análisis de microscopia en las muestras teñidas con Hematoxilina eosina (histopatología) o Giemsa en caso de los raspados dérmicos. El cultivo de parásitos es otra alternativa, junto con técnicas moleculares como la PCR, para amplificar e identificar el ADN del parásito; pruebas de hipersensibilidad (Prueba de Montenegro) y pruebas serológicas para el caso de la detección de la leishmaniasis visceral (Panagiotis Mitropoulos, 2010), (Abadir, Patel, Frcpc, & Frcpc, 2010).

1.3.2 Tratamientos de la leishmaniasis cutánea

Para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea del Nuevo Mundo no se han creado cremas o apósitos que eliminen el parásito y promuevan una buena cicatrización de las grandes y severas lesiones que esta produce. Con el avance de la ciencia, el encontrar un tratamiento eficaz para las lesiones de la piel, se ha convertido en un problema que ha

ganado gran atención por parte de expertos. Esto, debido a que los principales tratamientos locales hasta ahora han tenido como función disminuir el dolor, mantener hidratada la lesión y contribuir con el cierre parcial de la herida, mas no eliminan el parásito por completo ocasionando la reincidencia de la lesión (Herndon, 2009).

La ingeniería de tejidos ha tomado parte importante en este asunto y ha impulsado la investigación en temas como la terapia celular y el uso de células madre en la recuperación de tejidos afectados, como alternativas de solución a lesiones en la piel (Lechner, 2007). El uso de apósitos y antisépticos ha sido en su mayor parte cosmético, para reducir cicatrices o acelerar la curación de las lesiones, pero pocos han sido usados como método principal de tratamiento (González Urbà, 2008).

Una vez se ha contraído la enfermedad, existen dos tipos de tratamientos, sistemáticos o locales a los cuales se puede recurrir. Entre los primeros está el uso de medicamentos como los antimoniales pentavalentes, pentamidina, alopurinol, la miltefosina, anfotericina y otros, y los agentes orales como fluconazol, sulfato de zinc y azitromicina. Estos en general tienen efectos secundarios, pueden ser costosos o difíciles de administrar (Velez et al., 2001; Machado et al., 2010; Meymandi, Javadi, Dabiri, Meymandi, & Nadji, 2011; Pimentel et al., 2011). En 1913, Vianna fue el primero en establecer la utilidad de los antimoniales en el tratamiento contra el parásito que ocasiona la enfermedad, al inyectar tártaro emético de forma intravenosa, y en 1942, Vilanova introduce el tratamiento intralesional con antimonio pentavalente (García-Almagro, 2005). Aproximadamente el 15% de los casos tratados con antimoniales deben recurrir a terapias adicionales e intensas (Maretti-Mira et al., 2011).

Los tratamientos locales incluyen infiltraciones en los sitios de la lesión, drogas tópicas como el imiquimod y la paromomicina y métodos físicos como la crioterapia, láser, calor local, terapia fotodinámica o cirugía (Meymandi et al., 2011). Las opciones de tratamiento con infiltraciones en los sitios de la lesión, pueden ser muy dolorosas y tener incluso efectos secundarios como inflamación y escozor. Debido a la termosensibilidad del parásito, la aplicación de calor local ha tenido tasas de curación similares a las obtenidas con las infiltraciones y sin presentar ningún tipo de toxicidad (Aronson et al., 2010). La terapia fotodinámica que ha tenido poca difusión, consiste en la aplicación de luz sobre las células afectadas para destruir la lesión rápidamente sin destruir el tejido normal circundante (González Urbà, 2008). Recientes estudios han enfocado su interés en el desarrollo de vacunas que puedan crear resistencia a posibles infecciones subsecuentes luego de una recuperación, mas aun no se ha desarrollado ninguna apropiada para el uso humano (Mayrink et al., 2010).

La Tabla 2 muestra de forma resumida los tratamientos que se tienen hoy en día según el tipo de leishmaniasis que se padezca y el grado de desarrollo de esta.

Muchos de los tratamientos tópicos han tenido resultados eficaces en pruebas con ratones pero aún no se han probado en humanos. El empleo de la paromomicina como agente terapéutico único ha demostrado no ser útil en leishmaniasis cutánea del viejo mundo (L. major). Tanto la cirugía, la terapia física y el tratamiento intralesional han tenido resultados favorables, pero falta una validación completa de ellos y en muchas

situaciones no pueden emplearse por la localización de las lesiones. Esto muestra la falta de tratamientos adecuados hoy en día para casos de lesiones cutáneas (García-Almagro, 2005).

Tabla 2. Tratamientos para la leishmaniasis. Tomado de (García-Almagro, 2005).

TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO		
TÓPICO	INTRALESIONAL	SISTÉMICO
<ul style="list-style-type: none">▪ Paromomicina▪ Imiquimod	<p>Antimoniales pentavalentes:</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Antimoniato de meglumina▪ Estibogluconato de sodio	<ul style="list-style-type: none">- Primera línea:<ul style="list-style-type: none">▪ Antimoniales- Segunda línea:<ul style="list-style-type: none">▪ Pentamidina▪ Anfotericina B- Tercera línea:<ul style="list-style-type: none">▪ Alopurinol▪ Ketoconazol▪ Imidazólicos
CIRUGÍA		
Biopsia	Extirpación de lesiones pequeñas	
TERAPÉUTICA FÍSICA		

Termoterapia	Crioterapia: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Nieve carbónica ▪ óxido nitroso ▪ Nitrógeno líquido 	Electroterapia
--------------	--	----------------

En Colombia como en todos los países endémicos, los principales afectados son personas con pocos recursos económicos, que viven en lugares marginados y retirados de centros de atención médicos y a los cuales se les trata con fármacos basados en antimonio pentavalente, con Miltefosina y Anfotericina B, que son los medicamentos disponibles para tratar cualquier tipo de leishmaniasis. Dichos medicamentos son de venta y distribución controlada, son tóxicos y cuentan con algunas desventajas y efectos secundarios poco deseables. En algunas ocasiones generan la muerte de las personas, debido a la alta dosis administrada y en otras hay fallas en el tratamiento por no cumplimiento de los pacientes, debido a su larga duración y molestia, generando así, resistencia a los fármacos utilizados (Panagiotis Mitropoulos, 2010), (Barragán, López-Velez, Olmo, & Podzamczar, 2010). Es por esto que existe un creciente interés en la búsqueda de nuevos tratamientos de uso tópico (Seifert, 2011).

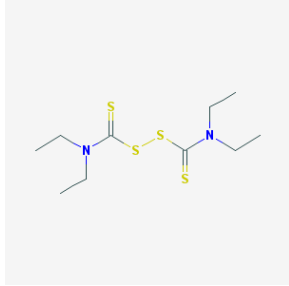
Los gobiernos y la industria farmacéutica han prestado poco interés a este asunto y es poca la investigación dedicada a esta enfermedad. Incluso, se presenta una estricta restricción por parte del gobierno al abastecimiento de los fármacos disponibles a entidades prestadoras de servicios de salud. Tanto es así que la OMS declaró como actividad prioritaria buscar y generar alternativas de tratamiento con un costo bajo, eficaces y de poca duración (Pecet, 2011).

1.3.3 Disulfiram

El disulfiram, utilizado en el tratamiento contra el alcoholismo, puede ser un buen candidato para el tratamiento de la leishmaniasis combinado con Glucantime, ya que disminuye la resistencia de los parásitos y potencializa la respuesta terapéutica (Namazi, 2008).

El disulfiram es un medicamento que administrado solo no es tóxico, pero influye de forma negativa en el metabolismo del alcohol como se muestra en la Figura 1, incrementando en la sangre los niveles de acetaldehído y actuando de forma directa sobre la aldehído deshidrogenasa, haciendo que el acetaldehído permanezca en el organismo, prolongando los síntomas del “guayabo o resaca”. Por esta razón se utiliza en el tratamiento contra el alcoholismo. Este genera síntomas secundarios adversos para la persona que consume alcohol, tales como: náuseas, vasodilatación, dificultades respiratorias, hipotensión, entre otros (Pubchem, 2012).

Tabla 3. Generalidades del Disulfiram. Tomado de (Pubchem , 2012)

GENERALIDADES DEL DISULFIRAM	
Fórmula Molecular	$C_{10}H_{20}N_2S_4$
Estructura 2D	
Peso Molecular	296.5392 g/mol
Otros Nombres	Refusal, Antabuse, Esperal, Anticol, Teturam
Nombre (IUPAC)	Diethylcarbamothioylsulfanyl N, ,N-diethylcarbamodithioate
Contraindicaciones	Personas alérgicas al medicamento, pacientes intoxicados por alcohol, personas con enfermedades cardiovasculares, mujeres en embarazo o lactantes, pacientes con psicosis.

La absorción del disulfiram es lenta. De una dosis oral se absorbe del 80% al 90%. Su acción real con la presencia del alcohol, tarda entre una o dos horas. Este fármaco se absorbe totalmente en el tracto gastrointestinal y tarda aproximadamente 12 horas para cumplir su función. La mayor parte del medicamento se excreta por la orina en forma de sulfato y después de una semana aún se encuentra parte de este en el organismo (Pubchem, 2012).

Además, se ha comprobado que el disulfiram aplicado localmente por inyecciones intradérmicas disminuye significativamente la carga parasitaria en animales infectados con *L. panamensis* o *L. major*. Sin embargo, un problema a resolver, se relaciona con la baja penetración e irritación que produce el medicamento aplicado en forma tópica con distintas formulaciones (Travi y col. no publicado). Las principales características de este medicamento se muestran en la Tabla 3.

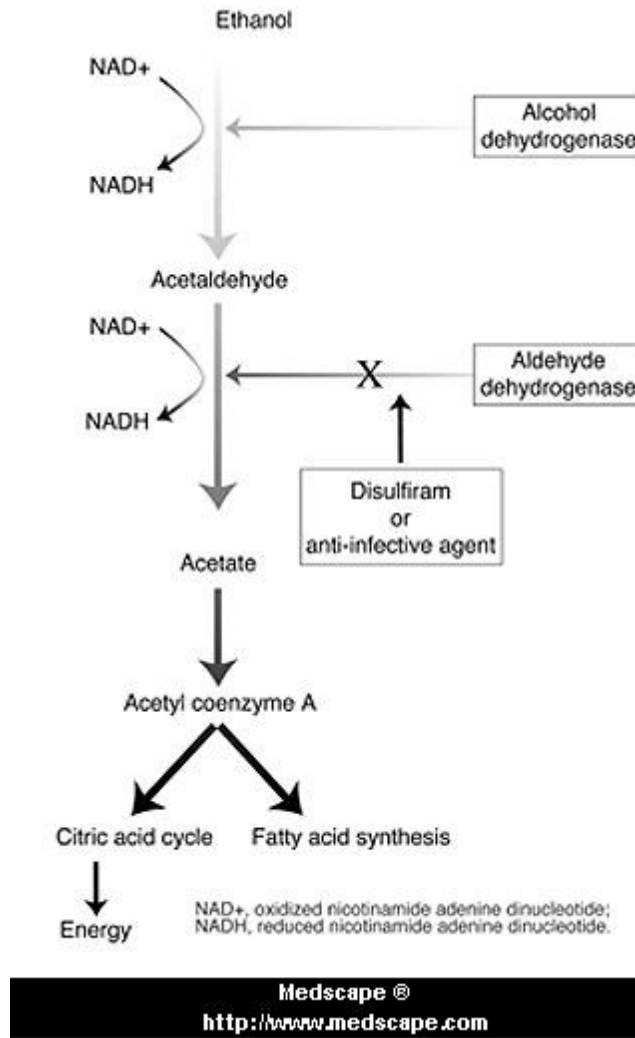


Figura 1. Efecto del Disulfiram en el metabolismo del Alcohol. Tomada de Medscape.

1.3.4 Generalidades de los apósitos

○ Historia de los apósitos

La historia de los apósitos se remonta al año 60.000 a.C, cuando los hombres usaban hierbas para sanar las quemaduras. Los egipcios por su parte, utilizaban resina de los arboles, aceites, mirra y goma en sus heridas; además fueron los primeros en hablar de los cuidados de las heridas: lavar, proteger e inmovilizar (Jiménez, 2008).

Con el paso del tiempo, el aumento de las guerras y el uso de la pólvora en estas, los médicos se vieron obligados a perfeccionar sus técnicas en el tratado de heridas. Ambroise Paré, fue la primera persona en tratar heridas de arma de fuego con vendajes limpios que se cambiaban constantemente. Con las guerras bélicas, se empezaron a

producir vendajes de cáñamo, algodón y lino para cubrir a los heridos, además de adicionar alquitrán o ácido carbólico para que las vendas no se adhirieran a la piel y fueran un medio antiséptico (Jiménez, 2008).

Durante la primera guerra mundial, era obligatorio para los soldados el portar su vendaje personal, impregnado de parafina, lo mismo que durante la segunda guerra mundial, en donde se continuó usando vendajes de algodón y gasas que absorbieran el exudado de la herida (Jiménez, 2008).

George Winters en 1962, demostró que la cicatrización de las heridas era más eficaz en ambientes húmedos que en secos. A partir de este estudio, se empezaron a producir apósitos que proporcionaran a la lesión un ambiente húmedo (Jiménez, 2008).

En el momento de tratar una herida, lo primero que se debe hacer es una identificación del tipo de lesión y una evaluación integral al paciente, ya que existen factores como: el estado nutricional, el uso de medicamentos, sus antecedentes y su entorno psicosocial, que intervienen de manera importante en el proceso de cicatrización. La herida debe permanecer húmeda en todo momento y se debe retirar el tejido necrótico, cuidando la piel de su alrededor y disminuyendo al máximo el dolor (Jiménez, 2008).

- **Apósitos**

Se conocen dos tipos de terapias locales: la primera es la curación convencional, que usa gasa o algodón como apósitos de baja absorción, los cuales generan un periodo de cicatrización más largo y un tratamiento más doloroso, ya que al remover estos materiales, se puede producir sangrado. A esta, se le suma las curaciones empíricas, donde se aplican soluciones yodadas, antisépticas y ungüentos. La segunda es la curación avanzada, que hace uso de apósitos que proporcionan un ambiente húmedo a la herida y tienen un periodo de remoción mayor (Jiménez, 2008).

- **Proceso de cicatrización de las heridas**

La cicatrización por su parte, es un proceso biológico y natural del cuerpo, con la finalidad de sanar un tejido dañado. La cicatrización cuenta con tres etapas: inflamatoria, proliferativa y de remodelación (Zavala et al., 2009).

En su primera fase se da una agregación plaquetaria, en donde estas células inicializan la cascada de curación, contribuyendo a la formación de un tapón que disminuye la hemorragia. Los monocitos y neutrófilos son las primeras células en llegar a la herida en su defensa microbiana. Los monocitos se transforman posteriormente en macrófagos y son estos, los encargados de la fagocitosis, la estimulación de migración de fibroblastos y la formación de matriz extracelular (Zavala et al., 2009).

En la segunda fase, se observa que los queratinocitos reconstruyen la epidermis y reparan la membrana basal. Se construye tejido de granulación y participan diversas

sustancias que poco a poco van cerrando la herida, como el colágeno y proteínas de la matriz (Zavala et al., 2009).

Finalmente, en la tercera fase el tejido formado preliminarmente es degradado y renovado. Esto se hace con el fin de formar una cicatriz mucho más fuerte. Para esto, se elimina el tejido muerto, se eliminan bacterias y van migrando células para remplazar a las muertas. Esta fase es la de mayor duración, pues finaliza meses después de haberse cumplido la cicatrización (Zavala et al., 2009).

Las heridas pueden ser crónicas, cuando tienen alguna interrupción en alguna de las fases del proceso de cicatrización y no se restaura la anatomía y fisiología del tejido afectado; ejemplo de estas son las úlceras por presión o las úlceras generadas en el miembro inferior debido al constante movimiento y apoyo. Por otro lado, las heridas agudas, llevan un proceso de curación ordenado y el tiempo de curación es aproximadamente de un mes, reintegrando la fisiología y anatomía de la zona afectada. En esta clasificación se encuentran las heridas debidas a traumatismos o a procedimientos quirúrgicos (Jiménez, 2008).

○ Tipos de apósitos

Existen múltiples tipos de apósitos en el mercado y diferentes materiales para su construcción. Los más utilizados se encuentran en la *Figura 2*. Según el tipo específico de aplicación que se desee se escoge el tipo de apósito, ya que cada uno tiene propiedades y funciones diferentes para la gran variedad de heridas que se presentan (Jiménez, 2008).



Figura 2. Tipos de apósitos existentes en el mercado. Tomado de (Jiménez, 2008)

A su vez, los apósitos se clasifican en primarios y secundarios. Los primarios, son lo que tienen contacto con la herida y los secundarios son apósitos que recubren el apósito primario o absorben el exudado de la herida. Según la acción de los apósitos, estos también se clasifican en activos y pasivos. Los pasivos destruyen el tejido de granulación y son los materiales utilizados en el tratamiento convencional de las heridas. Los activos, poseen diversas características, que hacen que la herida permanezca en un ambiente húmedo y se aumente el tiempo de curación. Los materiales son esterilizados, no dejan residuos, no se adhieren y para el paciente son menos traumáticos. Los apósitos, independientemente al grupo que pertenezcan, cumplen con la misma función curativa: favorecer y hacer parte activa de la cicatrización de heridas y quemaduras (Jiménez, 2008).

Para el tratamiento de úlceras se aconseja un apósito que sea absorbente mas que no se adhiera completamente a la herida para evitar lastimarla. Así mismo, debido a la variedad entre una herida y otra y a los diferentes sitios de aplicación, se busca un apósito fácil de aplicar y que sea ajustable (Baranoski, 2008).

⇒ **HIDROCOLOIDES**

Los apósitos hidrocoloides son oclusivos o semi-oclusivos. Cuando se ponen en contacto con la piel del paciente se gelifican, debido a sus partículas hidroactivas y esto contribuye de buena forma a mantener la lesión en un ambiente húmedo. Están compuestos de gelatina, carboximetilcelulosa, poliisobutileno y pectinas (Walker, 1996). Estos apósitos son impermeables al agua y a las bacterias del medio, absorben de forma eficiente el exudado de la herida y son naturalmente adherentes. En el mercado se consiguen apósitos de estos materiales y son distribuidos por marcas registradas como: Duoderm, Cutinova, Comfeel, Un Derm, entre otras (Jiménez, 2008).

⇒ **ALGINATO**

El alginato es un copolímero lineal aniónico compuesto de bloques de guluronato (bloques G) y mannuronato (bloques M) (Nair & Laurencin, 2006). Los iones divalentes se entrecruzan uniendo los residuos gulurónicos (Gomes et al., n.d.). Es derivado del ácido alginico presente en las algas pardas. Su estructura química se muestra en la Figura 3. Este polisacárido es estable en un rango de pH de 4-10, es hidrofílico y soluble en soluciones acuosas.

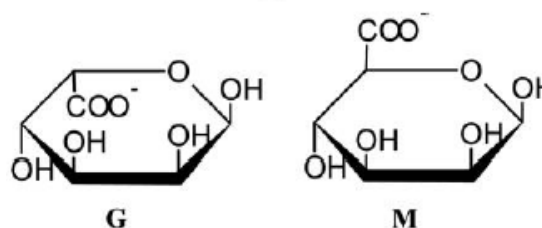


Figura 3. Estructura química del alginato. Tomada de (Webber & Shull, 2004).

El alginato aumenta la proliferación de fibroblastos y activa la función de los macrófagos, además que con la liberación del calcio, en el caso del Alginato de calcio, se activa aún más la cascada de coagulación; pero tiene el limitante de disminuir los queratinocitos y las células endoteliales. Al entrar en contacto el alginato con la herida forma un gel al tener contacto con el exudado y puede absorber de 20 a 30 veces su peso, lo que es de gran importancia en la absorción de este. La remoción del apósito se hace con suero fisiológico y no produce mayor molestia para el paciente y si queda material en la herida, es degradado fácilmente por lisozimas. (Gatica, 2005)

El alginato muestra poca resistencia a la tracción y a la compresión (Lai, Abu'Khalil, & Craig, 2003). Según las aplicaciones en las que se utilice, su módulo de Young tiende a variar. En aplicaciones de reemplazo de cartílago se han encontrado módulos de aproximadamente 0,2 MPa (Stevens, 2004). Al medir el módulo de perlas de alginato usadas para encapsular células madre se ha encontrado que este varía entre 20 y 70 kPa (Hwang et al., 2009); (Banerjee et al., 2010); (Li et al., 2011). Otros autores que han realizado pruebas de tracción a hidrogeles de alginato y han encontrado módulos mayores de 1000 kPa (Drury, Dennis, & Mooney, 2004).

El Alginato es indicado para heridas, úlceras vasculares y por presión con alta cantidad de exudado, pero no para heridas secas. Hasta la fecha solo se ha publicado un estudio donde se encontró una reacción desfavorable para un paciente, siete meses después del uso del apósito, por parte de las células gigantes al momento de hacer hemostasis, lo que sugiere que fibras que queden adheridas a la herida, podrían causar problemas a largo plazo (Gatica, 2005).

Los apósitos de alginato se pueden encontrar en las siguientes presentaciones: cinta de alginato especial para cavidades, apósitos de alginato de calcio y alginato de Calcio asociado a hidrocoloides. En el mercado, se encuentran posicionadas en la venta de estos apósitos, marcas como: Algiderm, Algosteril, Un Derm Alginato (Jiménez, 2008).

⇒
COLÁGENO

El colágeno es la proteína más abundante en el cuerpo humano. Es fuertemente usada en ingeniería de tejidos gracias a su presencia en muchos tejidos corporales y a sus propiedades elásticas (Q. Chen, Liang, & Thouas, 2012). Los apósitos de colágeno son buenos en tejido de granulación, pero se deben evitar en tejido afectado. Estos materiales

están compuestos de colágeno tipo I y de alginato. Crean una matriz para el crecimiento celular y la migración de las células; además que absorben el exudado. La compañía Johnson & Johnson, con su marca registrada Fybracol Plus, vende apósitos de colágeno (Jiménez, 2008).

⇒ QUITOSANO Y QUITINA

La quitina, es un copolímero catiónico de gran abundancia en la naturaleza. Sus fuentes de extracción son las paredes celulares de los hongos, las algas y el exoesqueleto de algunos crustáceos. El quitosano por su lado, esta presente de forma natural en las paredes de plantas y hongos, aunque la principal fuente de producción es la desacetilación enzimática de la quitina (Velásquez, 2006). (Figura 4).

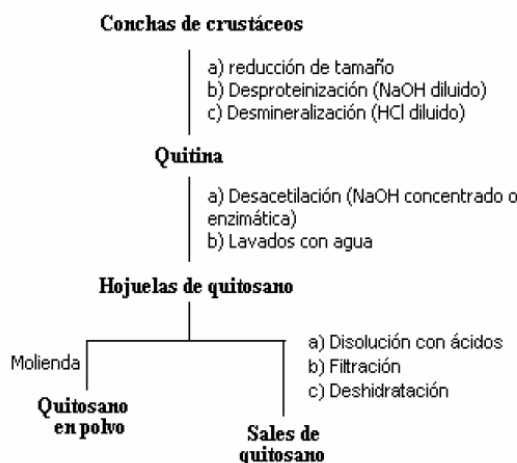


Figura 4. Obtención de Quitina y Quitosano (Velásquez, 2006).

Para obtener quitosano a partir de quitina, deben removerse proteínas del caparazón, utilizando hidróxido de sodio diluidos y una disolución de ácido clorhídrico con carbonato de calcio. Posteriormente la quitina se expone al sol o se le agrega permanganato de potasio o ácido oxálico. Por último, la quitina se somete a altas temperaturas y a hidróxido de Sodio para que sea desacetilizada y se produzca el quitosano (Velásquez, 2006). La estructura química del quitosano se presenta en la Figura 5.

Han sido demostradas las propiedades del quitosano, que lo hacen un material natural propicio para su uso en aplicaciones de ingeniería de tejidos. Este, promueve la síntesis de colágeno, intensifica la acción de macrófagos, fibroblastos, queratinocitos y ayuda a formar tejido de granulación (Jiménez, 2008). Además, el quitosano es resistente a la compresión y a la tracción (Lai et al., 2003).

Algunos autores han medido las propiedades mecánicas de este material y han obtenido resultados de módulos de Young entre 3 kPa y 3 GPa para películas delgadas (Seok Bong Kim, 2004); (Subramanian & Lin, 2005), y hasta de 15 MPa para scaffolds (Dinan,

Bhattarai, Li, & Zhang, n.d.). Los quitosanos preparados en una solución de 3% de ácido acético tienen un módulo de aproximadamente 1800 MPa (Aleksseeva, Fedoseeva, Frolov, Nistratov, & Smirnova, 2009).

Las aplicaciones de la quitina y el quitosano tienen un campo amplio de acción; desde la agricultura, la medicina, la cosmética, tratamiento de aguas y biosensores. Propiamente en el área biomédica, estos materiales son conocidos desde la antigüedad como un aligerado tratamiento de heridas. En la actualidad, se hacen vendajes, cremas antibacteriales y suturas quirúrgicas con estos materiales. El encontrar hidrogeles que contengan quitosano, también hace parte de una constante búsqueda por encontrar biomateriales para la liberación controlada de fármacos y otras aplicaciones biomédicas, como es el caso de hidrogeles de quitosano y ácido itacónico y los constituidos por PVA, quitosano y glicerol (Velásquez, 2006).

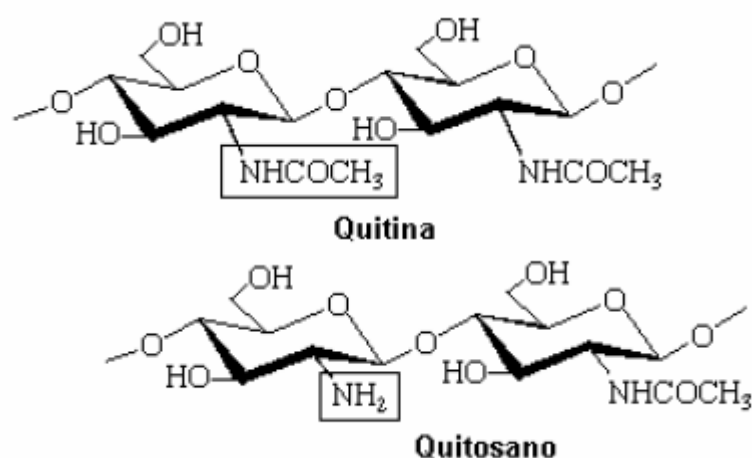


Figura 5. Estructura química de la Quitina y del Quitosano (Gatica, 2005).

El quitosano no es soluble en el agua, en bases y en algunos solventes orgánicos, pero disuelve en ácidos orgánicos y minerales diluidos. Su solubilización es debida a la protonación de su grupo funcional amino y permanece en solución hasta un pH de 6,2, ya que en un pH mayor forma geles precipitados (Gatica, 2005).

Los apósitos son una de las aplicaciones médicas de la quitina y el quitosano. Estos materiales son naturalmente adhesivos y cuentan con propiedades antibacteriales y fungicidas, son permeables al oxígeno, y esto contribuye a que sean buenos materiales para la curación de heridas y quemaduras (Jayakumar, Prabakaran, Sudheesh Kumar, Nair, & Tamura, 2011).

El alginato y el quitosano se han usado en conjunto para el desarrollo de apósitos y esponjas que sirvan como liberadores de fármacos, como apoyo para la curación de heridas y como scaffolds para crecimiento celular. Esto debido a las excelentes propiedades que se han comprobado en el tema de biocompatibilidad, ya que el cuerpo tiende a absorber estos componentes y los productos de degradación no son tóxicos. Además tienen buenas propiedades mecánicas y son polisacáridos de fácil manipulación (Lai et al., 2003).



HIDROGELES

Los hidrogeles son materiales compuestos por la combinación de agua, carbohidratos complejos, glicol, glicerina, acrilamida, óxido de polietileno, entre muchos otros. Dentro de los hidrogeles cabe destacar los compuestos por carboximetilcelulosa y los polímeros como el óxido de poliuretano, más un alto porcentaje de agua. La función de estos apósitos es la rehidratación de la herida y la desbridación del tejido afectado. Las marcas más conocidas registradas en el mercado son Nu-gel, Tegagel y Vigilon (Walker, 1996).



POLI (VINIL) ALCOHOL

El poli (vinil alcohol) o PVA es un polímero sintético, no tóxico y con fuertes propiedades mecánicas pero poca capacidad de difusión de materiales a través de él (Álvaro A. A. De Queiroz, 2006).

Este polímero es preparado del polivinil acetato al remplazar los grupos acetatos con grupos hidróxilo. Es usado fuertemente en farmacología, como lubricante ocular y en la fabricación de recubrimientos superficiales para esponjas, cosméticos y otros productos (NCBI). La estructura química se muestra a continuación en la *Figura 6*

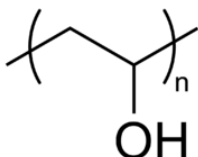


Figura 6. Estructura química del PVA.

El PVA es fuertemente utilizado en el área farmacéutica para el desarrollo de drogas y como gotas hidratantes ópticas (NCBI). Es soluble en agua y muy fácil de manipular, ya que tiene propiedades adhesivas y emulsificantes, es no tóxico e inoloro, es flexible y resistente a condiciones extremas del ambiente (Wen-Yuan Chuang, 1999).

En la literatura se reportan módulos de Young del PVA que varían entre 20 y 600 kPa (Duboeuf, Basarab, Brusseau, Delachartre, & Vray, 2007); (Fromageau et al., 2007) aunque otros autores han encontrado módulos de hasta 12 MPa (Rahman, Islam, Hamdan, Jusoh, & Ibrahim, 2010); (W. Chen, Tao, Xue, & Cheng, 2005). Estas variaciones en los resultados se deben a los diferentes métodos de preparación del PVA, a la variación en los pesos moleculares, a los diferentes ciclos de enfriamiento y a los diferentes métodos para medir las propiedades mecánicas de un material (Duboeuf, Basarab, Brusseau, Delachartre, & Vray, 2007).

- **Apósitos interactivos**

Son apósitos poliméricos permeables a gases (O_2 y CO_2) y al vapor de agua, e impermeables a microorganismos y al agua. Son transparentes y esto hace que sea fácil observar la herida y su proceso de cicatrización, pero no son capaces de absorber el exudado. Las marcas registradas en el mercado, que comercializan este tipo de apósitos son: Bioclusive, Op-site, Tegaderm y Mefilm (Jiménez, 2008).

Para el tipo de heridas causadas por la leishmaniasis se recomiendan apósitos de tipo hidrocoloide (apósitos de polímeros con propiedades de absorción media) y con carboximetilcelulosa, y se recomiendan que sean poco adhesivos (González Urbà, 2008).

Al ser la leishmaniasis una enfermedad endémica en Colombia y puesta en el olvido, la generación de un apósito de liberación controlada de un principio activo que permita el tratamiento y la cicatrización de lesiones cutáneas, siendo este lo menos invasivo posible y de un costo asequible, puede ser la solución a muchas personas que actualmente padecen esta enfermedad y deben tratar con ella en su diario vivir (Velez, Hendrickx, Robledo, & Agudelo, 2001).

- **Requerimientos de los apósitos**

Los apósitos por su parte deben cumplir con características específicas, que faciliten una adecuada curación de las heridas y una buena adaptación con el tejido. A continuación en la Tabla 4 se muestran los principales requerimientos que se deben tener en cuenta en el momento de su fabricación (Gatica, 2005).

Tabla 4. Requerimientos básicos de los apósitos. Modificada de (Gatica, 2005)

ESTERILIZACIÓN	Todo su proceso debe hacerse garantizando la esterilización del apósito.
PERMEABILIDAD	El apósito debe permitir el intercambio de gases, pero debe ser impermeable a microorganismos. Debe tener buena absorción del exudado.
PROPIEDADES MECÁNICAS	La elasticidad y la flexibilidad son importantes aspectos, al mismo tiempo que su resistentencia y durabilidad.
BIOCOMPATIBILIDAD	Debe ser hipoalergénico y no tóxico.
pH ADECUADO	Un pH ácido evita la acción de los microorganismos patógenos circundantes.

BAJA ADHERENCIA CON LA HERIDA	Se debe tener poca adhesión con la herida, para evitar daños al tejido de granulación y evitar que el apósito deje residuos en la herida.
OTROS	Fácil adaptabilidad a todas las partes del cuerpo. De bajo costo.

2. METODOLOGÍA

2.1 MATERIALES Y EQUIPOS

En las siguientes tablas se encuentran los equipos y materiales que se utilizaron en el desarrollo de este proyecto.

Tabla 5. Equipos utilizados en el desarrollo del proyecto

EQUIPO	MARCA
Plancha térmica con agitación magnética	Schott Instruments
Balanza analítica APX-200 d=0.1 mg	Denver Instrument
Nevera Cool Master	Challenger
Horno para secar	Haceb
Campana desecadora Vakumfest	Duran
Estereoscopio SMZ1000	Nikon
Multímetro con termocupla	BK Precision
Liofilizador	Labconco
Espectrómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) Spectrum 100, con accesorio de muestras Universal ATR (Reflectancia Total Atenuada)	Perkin Elmer
Micropipeta Nichipet EX (1-10 ml, 20- 200 µL)	Nichiryo
Microscopio Óptico, Eclipse LV100	Nikon
Transformer (control de luz del estereoscopio) NI- 150	Nikon
Maquina universal	Instron
SOFTWARE	
Reconstrucción de superficies 3 D : NIS ELEMENTS D 3.1	

Maquina de ensayos universales: INSTRON BLUEHILL	
Espectrómetro UV-VIS Lambda 35	Perkin Elmer
Statgraphics Plus 5.0	Statistical Graphics Corp

Tabla 6. Materiales y reactivos utilizados en el desarrollo del proyecto.

Materiales	Marca	Reactivos	Marca
Beaker 250 mL	Schott Duran	Agua destilada	
Probeta 100 +_ 0,75 mL	Schott Duran	Poli (vinil alcohol) (PVA), 99% hidrolizado, PM 130000,	Sigma Aldrich
Cajas de Petri, 9 cm de diámetro		Alginato	
Planchas de agitación magnética		Quitosano	
Troquel		Disulfiram	
Frascos de almacenamiento con tapa de 25 mL	Schott Duran	NaCl	
Papel Vinipel			
Balón volumétrico de 50 mL		Hepes	
Pinza metálica			

2.2 PROCEDIMIENTO

Para el desarrollo del apósito cargado con el principio activo, la metodología se divide en varias etapas:

2.2.1 Síntesis del apósito

En esta etapa se hizo la selección de los requerimientos necesarios para la síntesis del apósito, suministrados por la literatura y se establece un proceso para la elaboración del apósito de alginato, quitosano y PVA.

Para la síntesis del apósito se tomaron concentraciones de alginato y quitosano del 1% y de PVA al 5%. Se congelaron las muestras y se llevaron al liofilizador.

2.2.2 Caracterización del apósito

Estructura química

Para analizar la composición química de los polímeros usados en el apósito se realizó un análisis del espectro de cada material, incluyendo al disulfiram, por medio de un espectrómetro Infrarrojo con Transformada rápida de Fourier (FTIR) Spectrum 100. (Perkin Elmer, Pais)

Superficie y morfología:

- **Microscopía óptica:** análisis de la porosidad y topografía del apósito. Se observó por un microscopio óptico la estructura y morfología del apósito y sus controles. Se realizó además, una reconstrucción de la superficie en 3D, con el objetivo de tener mejor detalle de la composición de las muestras.
- **Microscopía electrónica de barrido (SEM):** con el fin de observar más detalles de la estructura interna que conforma cada polímero, se realizó una microscopia electrónica de barrido para observar las estructuras que no se identificaban por medio de microscopía óptica.

Caracterización mecánica:

Para esta caracterización, se realizaron pruebas mecánicas de tracción. Esta etapa evalúa la flexibilidad del material y se caracteriza al apósito mecánicamente (límite elástico y constante de elasticidad), por medio de una máquina universal de ensayos (INSTRON 3345, EEUU).

2.2.3 Evaluación de la cinética de liberación del apósito

Pruebas de disolución: Análisis del apósito como liberador del principio activo.

Esta etapa consta del estudio de la cinética del sistema de liberación del principio activo, por medio de ensayos de disolución. De esta manera, se analizó la cantidad de fármaco que se disuelve por unidad de tiempo, bajo condiciones específicas. En este ensayo de disolución se incorpora el apósito en aceite de girasol bajo agitación, a una temperatura de 37°C.

Se tomaron muestras a los 10, 30, 60, 480 y 1440 minutos para analizar el comportamiento de liberación.

Finalmente, se realizó una espectrofotometría UV- Visible, para obtener a partir de la absorbancia, las concentraciones de disulfiram liberadas y poder construir un modelo.

3. DESARROLLO DEL PROYECTO

3.1 SÍNTESIS DEL APÓSITO

Los requerimientos fundamentales para el apósito a diseñar se basaron en las características descritas en la literatura. Así, como principal requerimiento se buscó la biocompatibilidad de los materiales de los apósitos, buscando aquellos que no fueran tóxicos ni irritantes. Segundo, se necesitaba un apósito que fuera durable y con buena resistencia y flexibilidad mecánica para que no se desintegrara al momento de usarlo. Como tercera característica se buscaron materiales con buena permeabilidad y absorción del exudado para evitar infecciones y aumentar el proceso de cicatrización y, que al mismo tiempo, no se quedaran adheridos a la herida para evitar daños en el tejido.

De esta forma se buscó una combinación de materiales que pudiera satisfacer las necesidades arriba descritas. Cuando el único componente de un apósito es el Alginato, este genera una activación de células importantes en la curación de las lesiones cutáneas, como los fibroblastos y macrófagos y es un material que absorbe muy bien el exudado, pero tiene el problema de disminuir la formación de los queratinocitos. Por esta razón, actuando de manera individual, solo mejora algunos requerimientos en el proceso de cicatrización de la herida. Por su parte, el Quitosano incrementa la proliferación de los queratinocitos y del colágeno, siendo en conjunto un buen complemento para la formación de complejos polielectrolito. (Gatica, 2005)

La literatura reporta que el complejo formado por Quitosano y Alginato, aplicado como sistema liberador de drogas y membranas que recubren las heridas, presenta mejores propiedades, a diferencia de los apósitos realizados con solo uno de estos materiales. Este complejo, es más estable a los cambios de pH y permite una liberación mucho más controlada de fármacos. (Gatica, 2005)

Para complementar el requerimiento de las buenas propiedades mecánicas con las que debía contar para su constante manipulación y uso, se seleccionó el PVA, polímero sintético biocompatible que también ha reportado grandes usos en el área de apósitos volviéndolos flexibles y resistentes (Rahman et al., 2010).

Para la construcción del apósito se seleccionaron dos polímeros naturales: Alginato a una concentración del 1% (P/V) y Quitosano con la misma concentración. Como polímero adicional que aportara mayores propiedades mecánicas y mayor elasticidad al apósito, se seleccionó Alcohol Polivinílico (PVA) a una concentración del 5%(P/V), que además sirvió para elaborar la emulsión con el Disulfiram, conformada por los componentes que se muestran en el Anexo 3. Debido a las restricciones de ventas del Disulfiram, este medicamento fue proporcionado por la Universidad de Texas.

DISEÑO DE EXPERIMENTO:

Para el diseño experimental de la síntesis del apósito polimérico, se tenían constantes las concentraciones y proporciones del Alginato, Quitosano y PVA, ya que previamente se había trabajado en una investigación con estos tres materiales, en el laboratorio de Biomateriales del CES Sabaneta; al igual que el tiempo de congelamiento, de liofilización y del tamaño de las muestras que permanecieron invariables (todas tenían un espesor de 3 mm y un diámetro de 9 mm).

Para el cálculo de la dosis del medicamento en el apósito, se usaron los resultados de experimentos realizados previamente en ratones a los que se les aplicó una suspensión que contenía disulfiram. En estos casos para un ratón promedio de 24 g se aplican aproximadamente 2 mg del principio activo. El apósito realizado en este proyecto tenía un volumen final de 25 mL, por lo que la concentración del medicamento en este fue de 0,08 mg/mL.

La hipótesis del experimento es: la mezcla de alginato, quitosano y PVA funciona como liberador de disulfiram.

Para esto, se definieron varios factores a analizar mostrados en la Tabla 7:

Tabla 7. Factores y niveles de los factores del experimento.

FACTORES	NIVELES DE LOS FACTORES
Polímero a utilizar	Alginato, quitosano, PVA
Concentración del principio activo	0,08 mg/mL en 25 mL de aceite
Morfología	Tamaño de poro
Propiedades mecánicas	Módulo de Young
Composición	FTIR
Secado	Liofilizado

Ya que el primer factor es el único que varía y los demás permanecen constantes los tratamientos resultantes se muestran en la Tabla 8.

De cada tratamiento se necesitaron 10 muestras para las pruebas de microscopía, una muestra para el SEM, una muestra para el FTIR y 3 muestras para las pruebas de tracción. Esto da un total de 15 muestras para cada tratamiento, excepto para el último que se necesitaron 5 más para hacer la prueba de disolución.

Tabla 8. Tratamientos realizados

Nº	TRATAMIENTO
1	Alginato
2	Quitosano
3	PVA
4	Mezcla alginato/quitosano y PVA
5	Mezcla alginato/quitosano/PVA y disulfiram

Estas muestras luego de preparadas se congelaron y llevaron a un liofilizador (*Figura 7*) por 24 horas. Este equipo deshidrata la muestra gracias al vacío que proporciona.



Figura 7. Liofilizador.

3.2 CARACTERIZACIÓN DEL APÓSITO

3.2.1 Caracterizaciones morfológicas y de superficie

De cada apósito a analizar se sacaron 10 muestras utilizando un sacabocados circular. Las dimensiones promedio de los cilindros obtenidos fueron 3 mm de espesor por 5,7 mm de diámetro. Las muestras fueron observadas por microscopía óptica a un aumento de 5X para analizar la porosidad y rugosidad. Con ayuda del software NIS ELEMENTS D 3.1 se hizo una reconstrucción tridimensional de la superficie de cada muestra.

Se realizó un FTIR o espectroscopía infrarroja de transformada de Fourier para analizar los componentes de cada uno de los materiales que forman el apósito.

3.2.2 Caracterizaciones mecánicas

Se utilizaron para este tipo de pruebas unas probetas rectangulares como se muestra en la Figura 8 y siguiendo lo dictado por la norma para pruebas de tracción (Materials, Materials, & Specimens, 2012). Las dimensiones promedio de las probetas utilizadas fueron 66,53 mm de longitud; 4,45 mm de ancho en la parte más delgada, y 3,30 mm de espesor. En la *Figura 9* se puede observar el montaje para realizar estas pruebas.



Figura 8. Sacabocado y tipo de probetas utilizadas para los ensayos de tensión.

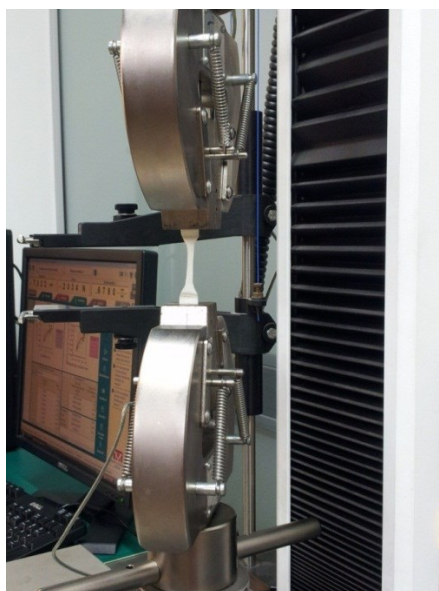


Figura 9. Desarrollo de los ensayos de tensión en la máquina universal a una probeta sacada del apósito cargado con Disulfiram.

3.3 EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE LIBERACIÓN DEL APÓSITO

Curva de Calibración del Disulfiram

Para la curva de calibración del principio activo, se tomaron cinco puntos variando la concentración de Disulfiram. Como la concentración que se encontraba depositada en el apósito era de 0,08 mg/mL, entonces se tomaron valores inferiores y superiores a esta concentración. Se partió de una solución madre de 0,16 mg/mL de Disulfiram en aceite de girasol. Para leer la absorbancia en cada concentración se utilizó un UV-Visible Lambda 35 de Perkin Elmer. La curva se hizo por triplicado.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 SÍNTESIS DEL APÓSITO

A primera vista todos los apósitos realizados mostraron buena integridad física y el método de preparación resultó exitoso. La *Figura 10* muestra uno de los apósitos realizados con PVA y la *Figura 11* muestra un apósito cargado con Disulfiram.



Figura 10. Muestra control de PVA al 5%.

La muestra control de PVA al 5%, presentó una consistencia más rígida comparada con las muestras de Alginato, Quitosano, el apósito control y el apósito cargado con el principio activo. Presentó además, una mejor resistencia a la tracción.

El apósito cargado con Disulfiram presenta una textura aceitosa, debido a los componentes de la emulsión. Es de color blanco y tiene apariencia homogénea.

Debido a que se trabaja con soluciones viscosas, se recomienda saturar las micropipetas, ya que el material se puede quedar en las paredes modificando el volumen requerido. Es recomendable que las muestras permanezcan la misma cantidad de tiempo en el congelador, antes de ser liofilizadas. Cuando se ingresen muestras al liofilizador, se debe procurar que sea la menor cantidad posible, para lograr un proceso de liofilización más óptimo.



Figura 11. Apósito de Alginato, Quitosano, PVA y Disulfiram luego de salir del liofilizador

4.2 CARACTERIZACIÓN DEL APÓSITO

4.2.1 Estructura química

Para analizar la presencia de cada uno de los componentes del apósito y del Disulfiram como tal, se analizaron las muestras. El espectro resultante de cada material se muestra de la Figura 12 a la Figura 15.

En la Figura 12, se muestra el espectro del Alginato de sodio, para el cual se observa un pico de $3327,93\text{ cm}^{-1}$ indicativo de la presencia de un grupo funcional OH. Por su parte, el pico de $2931,16\text{ cm}^{-1}$ muestra un enlace C-H del aldehído. En los picos correspondientes a $1597,95\text{ cm}^{-1}$ y $1410,82\text{ cm}^{-1}$, se observa un enlace doble C=O del grupo carboxilato. De igual forma, a los $1300,07\text{ cm}^{-1}$ se evidencian los enlaces simples entre carbono e hidrogeno C-H y a $1123,59\text{ cm}^{-1}$ los enlaces C-C. El enlace C-O-C se observa en el pico de $1084,17\text{ cm}^{-1}$ y en el pico de $948,32\text{ cm}^{-1}$ se evidencia el tipo de enlace C-O. (Xu, 2006).

La espectroscopía infrarroja del Quitosano (Figura 13), indica que posee una amina secundaria N-H que se evidencia en el pico de $3279,95\text{ cm}^{-1}$ y es confirmada en el pico de $710,34\text{ cm}^{-1}$; también se observa una amina primaria que corresponde al pico de $3363,63\text{ cm}^{-1}$ y que se confirma con el pico de $1553,22\text{ cm}^{-1}$. Se observa además, la presencia de enlaces metílicos entre el carbono y el hidrogeno C-H dado por el pico de

1380,01 cm^{-1} y sobre el pico que corresponde a 1634,82 cm^{-1} se observa el estiramiento C=O de la amida primaria. (Stuart, 2004)

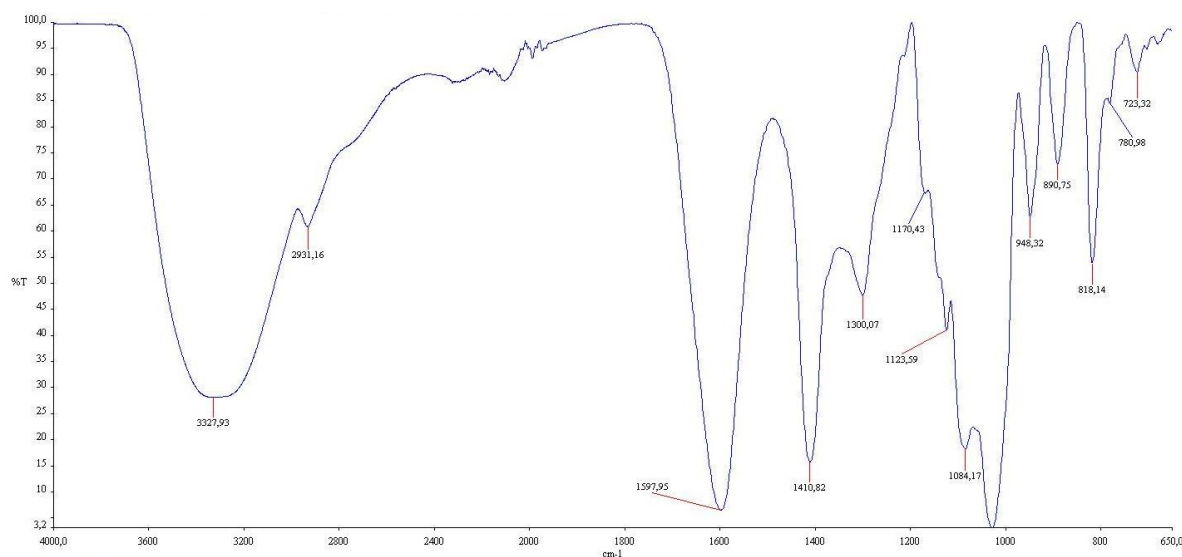


Figura 12. Espectro del Alginato de sodio al 1%. Imagen obtenida mediante FTIR.

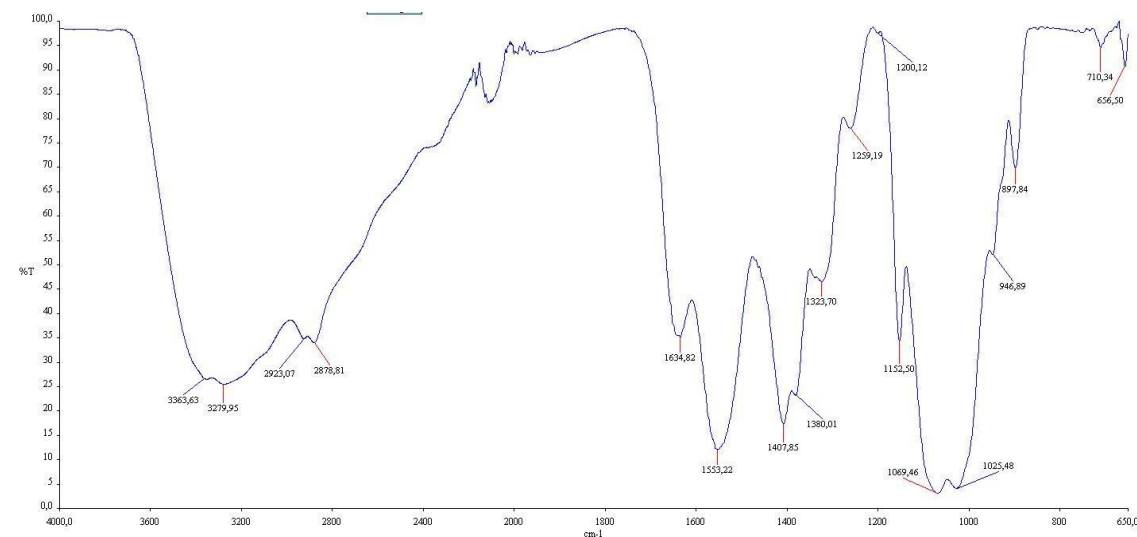


Figura 13. Espectro del Quitosano al 1%. Imagen obtenida mediante FTIR.

El espectro del PVA (Figura 14) muestra un pico en 3311,84 cm^{-1} que indica la presencia de agua en la muestra y el pico de 1142,82 cm^{-1} es característico del PVA. El pico de 2941 cm^{-1} corresponde al grupo C-H. Respecto al enlace C-OH del alcohol, los picos de 1237,42 cm^{-1} y de 1422,96 cm^{-1} verifican su existencia. Por otra parte, el pico de 1091,99 cm^{-1} indica la presencia de C-O y existe una vibración de flexión en 1330,65 cm^{-1} que corresponde al O-H (Arredondo, 2011).

El espectro del Disulfiram (Figura 15) muestra picos correspondientes a metilos (CH_3), entre la banda de 2970 cm^{-1} y 2950 cm^{-1} , además los picos obtenidos a los $1493,16\text{ cm}^{-1}$, $1455,70\text{ cm}^{-1}$ y $1375,24\text{ cm}^{-1}$ confirman su presencia. Por su parte, el pico de $965,67\text{ cm}^{-1}$ nota la presencia de un enlace simple C-H y el de $997,12\text{ cm}^{-1}$ un enlace simple entre carbonos C-C. Las bandas correspondientes a 550 cm^{-1} y 450 cm^{-1} muestran la existencia de enlaces entre azufres S-S y la de 700 cm^{-1} a 600 cm^{-1} muestran un enlace C-S (Coates, 2000).

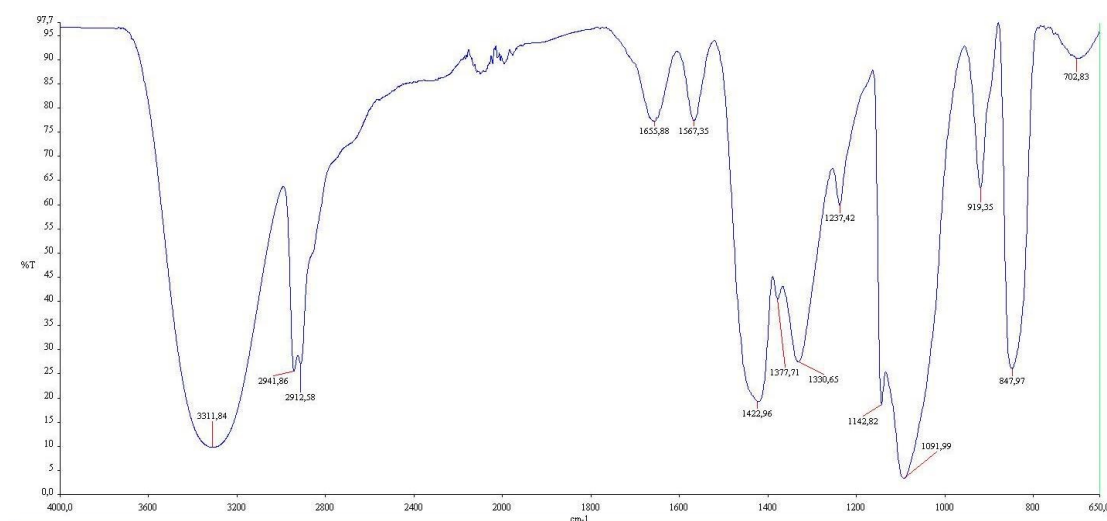


Figura 14. Espectro del PVA al 5%. Imagen obtenida mediante FTIR.

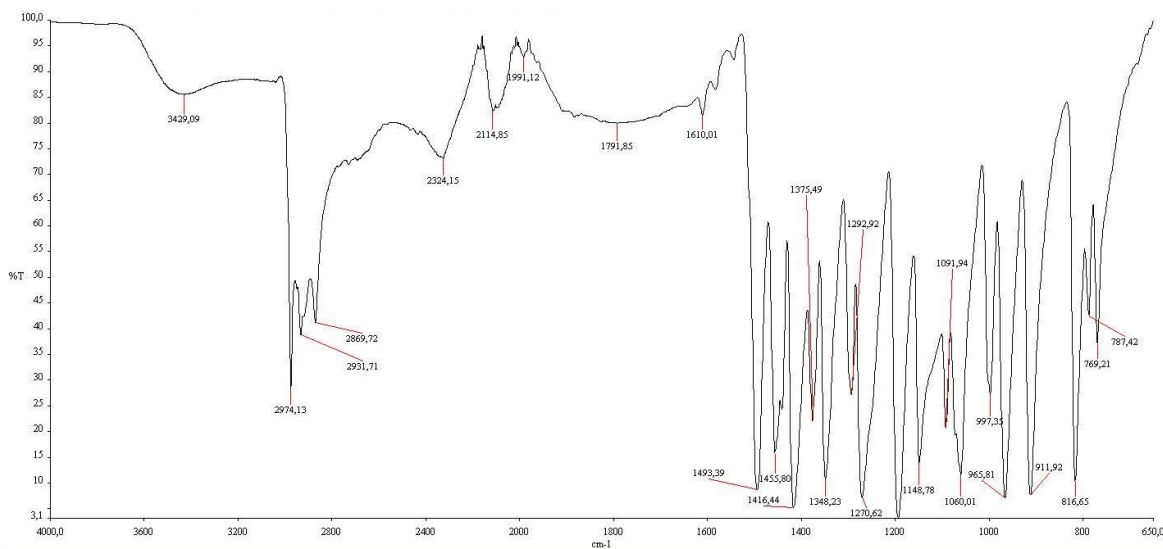


Figura 15. Espectro del Disulfiram. Imagen obtenida mediante FTIR.

La Figura 16 muestra la estructura final del apósito cargado con Disulfiram. En esta se observan algunos picos característicos de cada uno de los componentes del apósito. Esto muestra las interacciones entre estos y la forma como juntos se acoplan para formar una estructura homogénea.

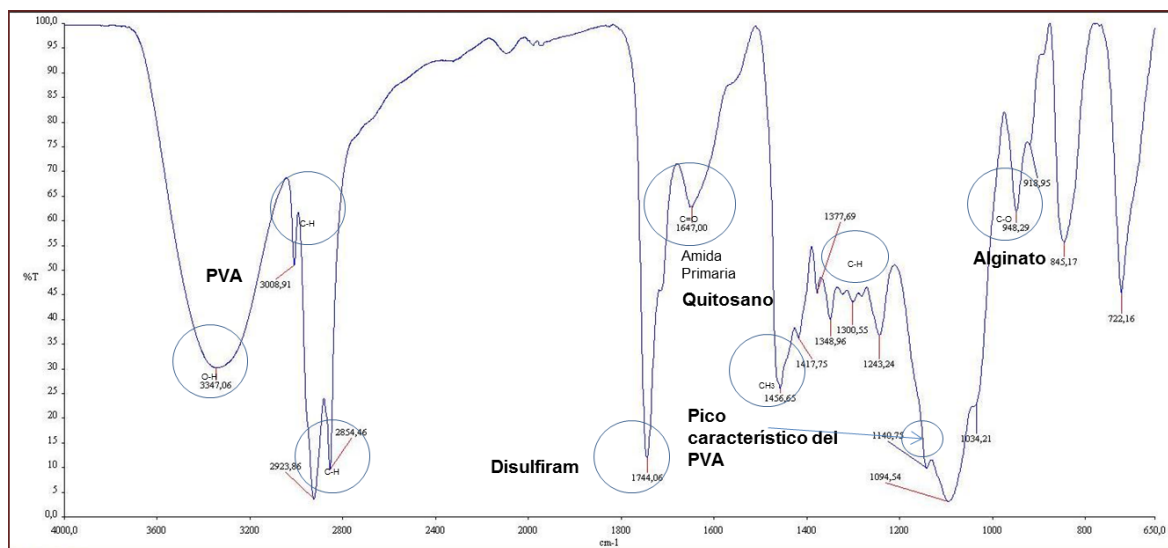
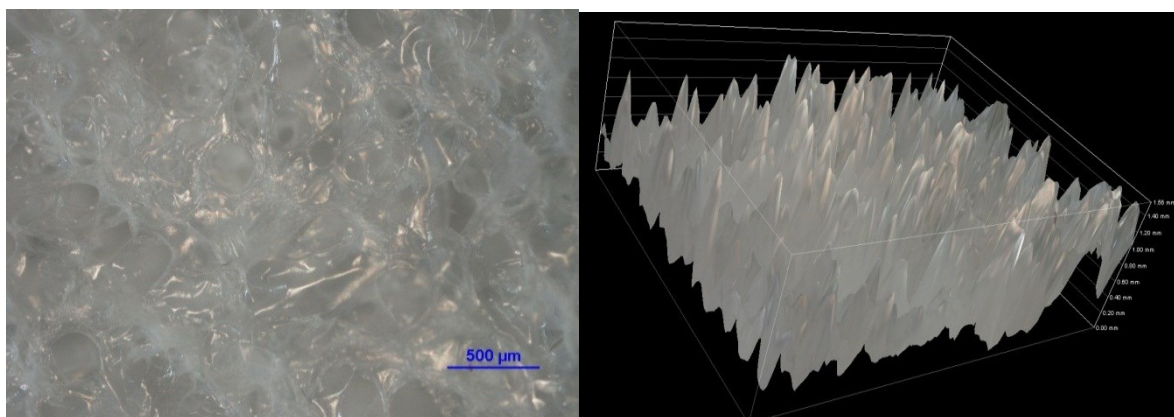


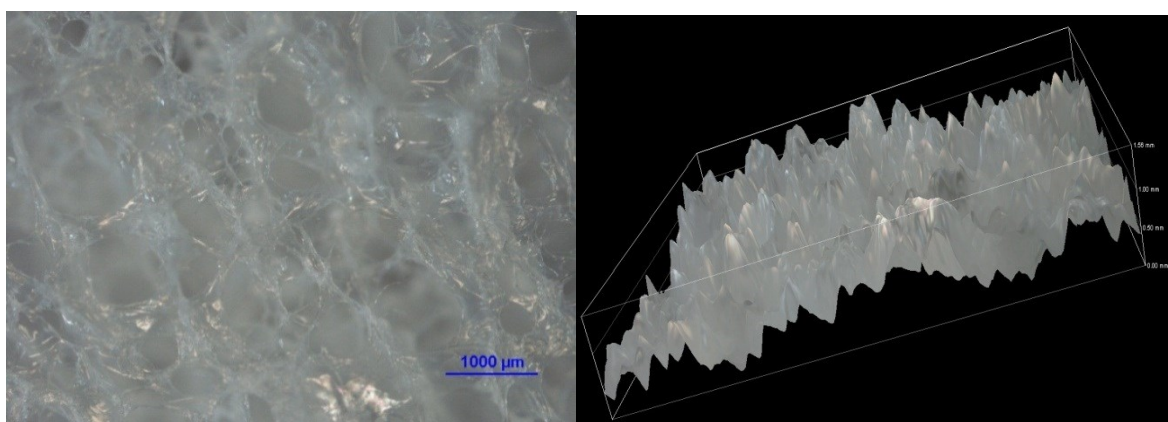
Figura 16. Espectro del apósito cargado con Disulfiram. Imagen obtenida mediante FTIR.

4.2.2 Caracterizaciones morfológicas y de superficie

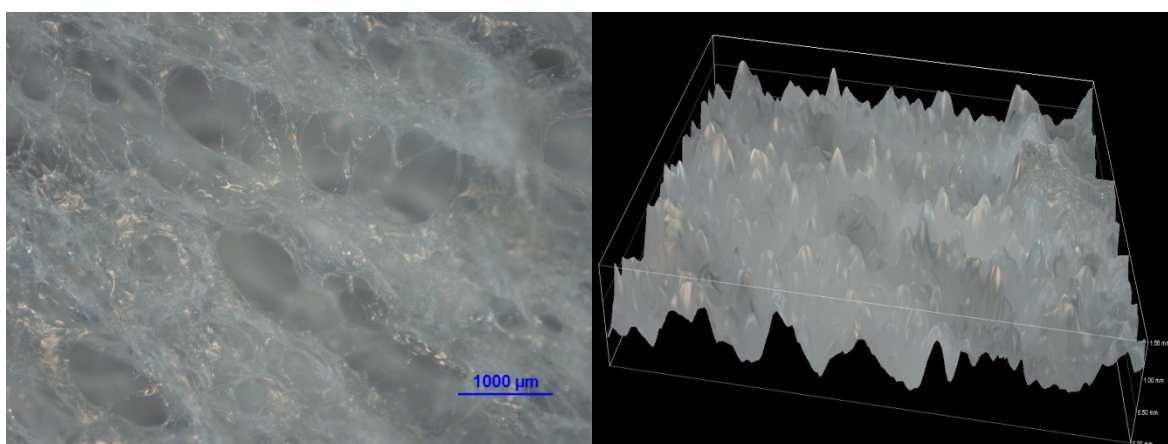
La Figura 17 muestra las imágenes más representativas del control realizado con Alginato de Sodio al 1% con la respectiva reconstrucción superficial correspondiente a cada muestra.



(a)



(b)



(c)

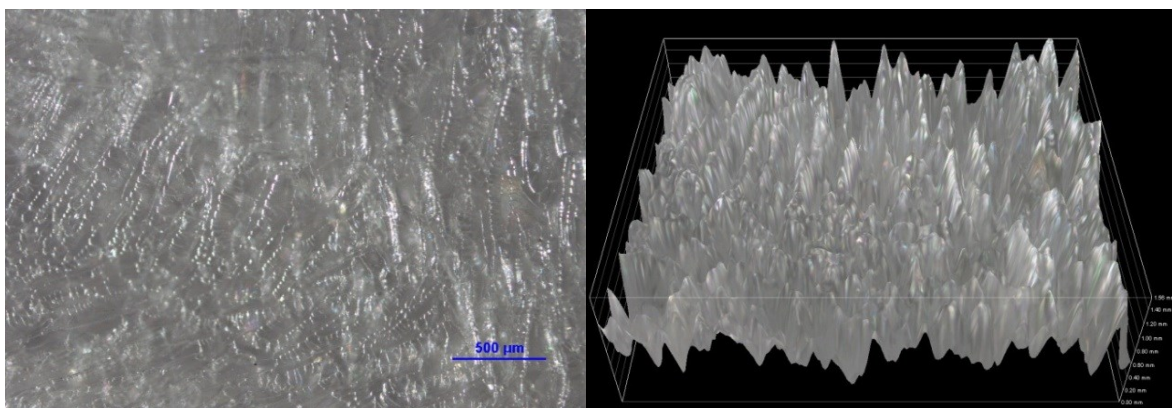
Figura 17. Vista en el microscopio de la morfología del Alginato. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura.

La estructura del Alginato es regular, siguiendo una configuración de poro similar que varía de tamaño a lo largo de la superficie. En la reconstrucción tridimensional, se observan una gran cantidad de picos que llegan hasta los 150 mm.

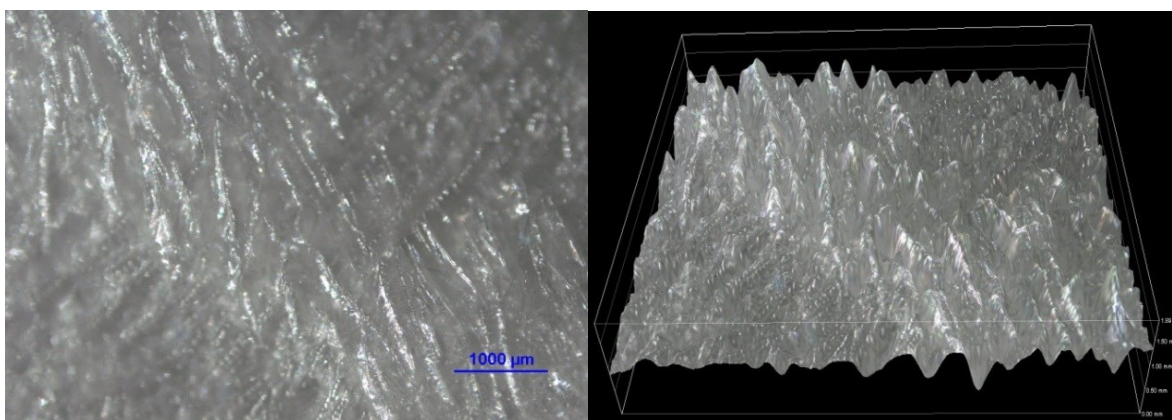
La Figura 18 muestra las imágenes más representativas del control realizado exclusivamente con Quitosano al 1% con la respectiva reconstrucción superficial correspondiente a cada muestra.

La estructura superficial del Quitosano presenta mayor tamaño de poros con respecto a la muestra de Alginato y estos alcanzan los 200 mm. Además, en la reconstrucción tridimensional de cada muestra, se observan picos y depresiones, que tienen un rango de altura más amplio. Esta muestra presenta claramente una superficie formada por canales.

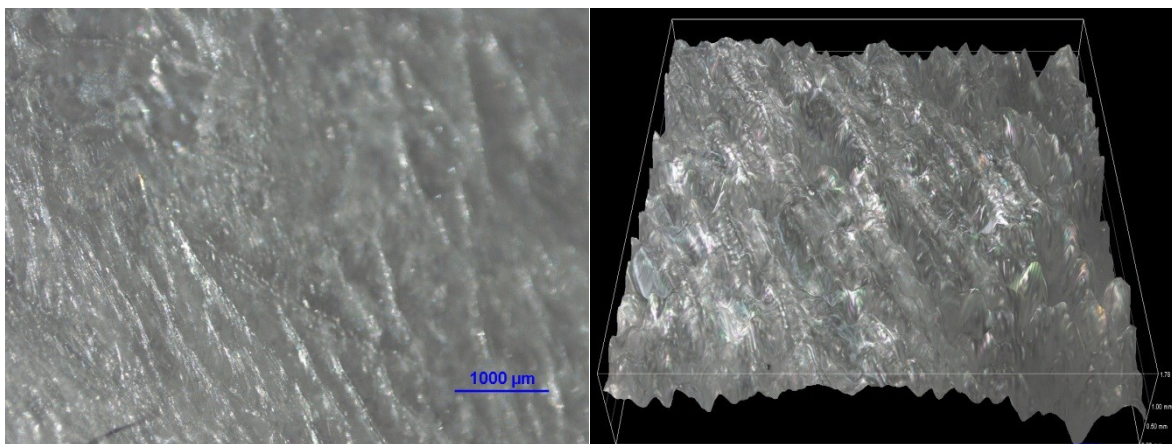
La Figura 19 muestra las imágenes más representativas del control realizado exclusivamente con PVA al 5% con la respectiva reconstrucción superficial correspondiente a cada muestra.



(a)

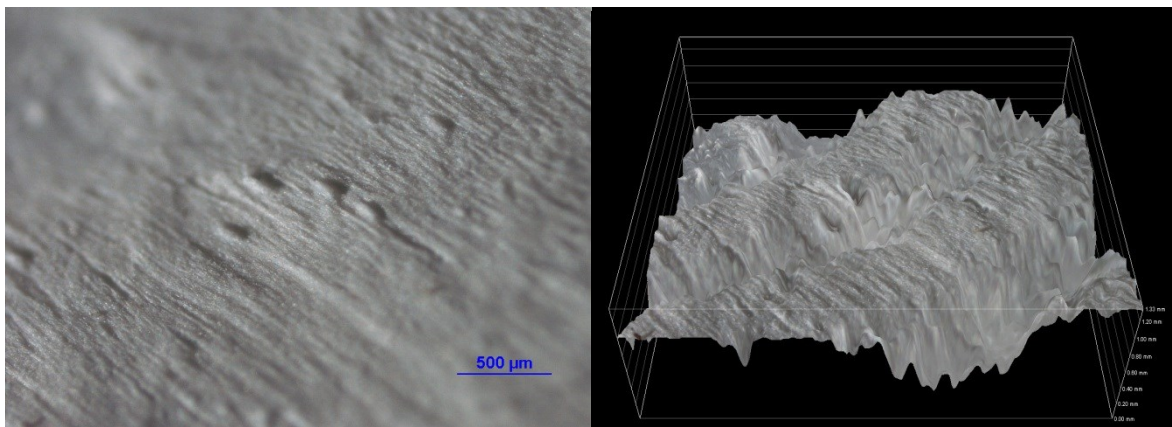


(b)

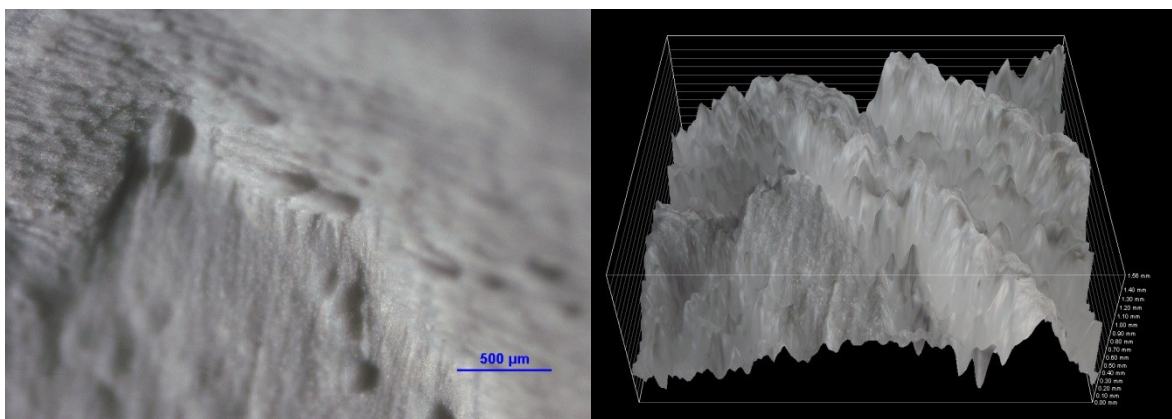


(c)

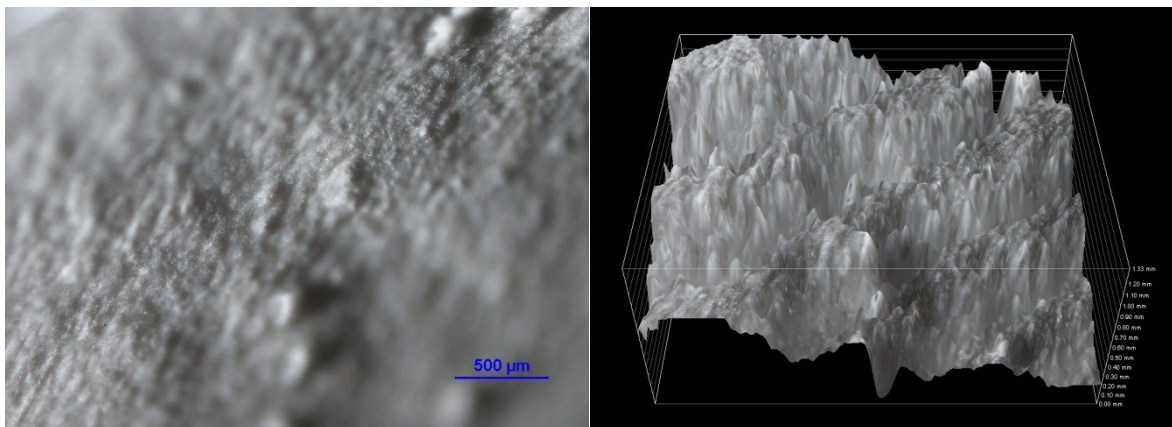
Figura 18. Vista en el microscopio de la morfología del quitosano. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura.



(a)



(b)

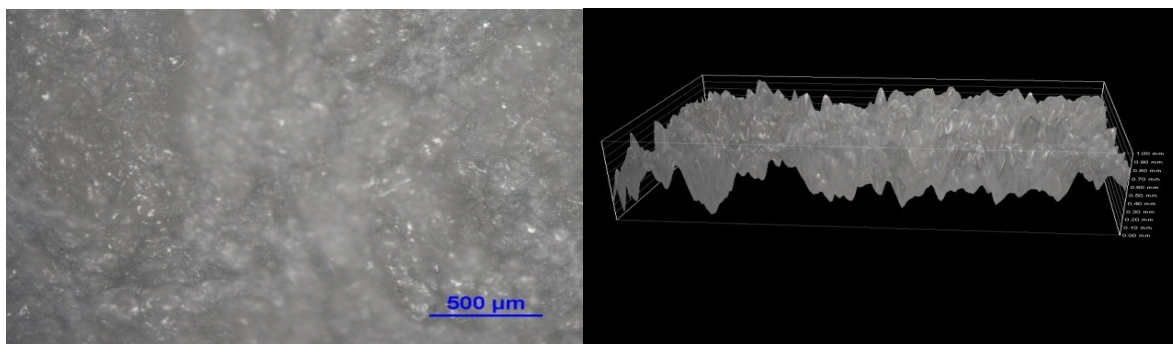


(c)

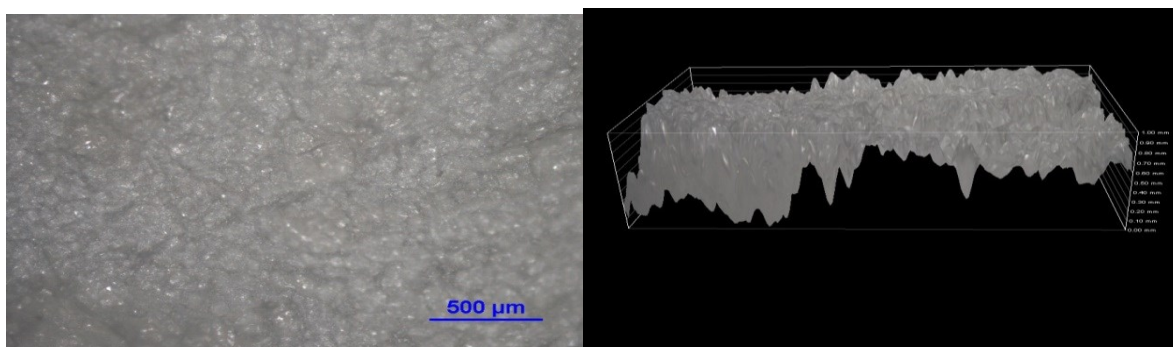
Figura 19. Vista en el microscopio de la morfología del PVA. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura.

El PVA muestra una superficie bastante rugosa pero poco porosa, además estos últimos son de menor tamaño. Esto comprueba que este material podría influir en otro tipo de propiedades del apósito, como aportando mayor resistencia y estabilidad.

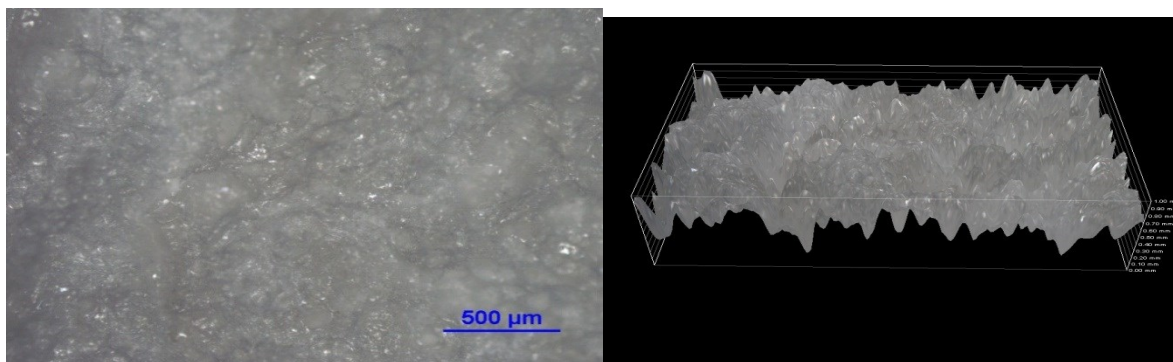
La *Figura 20* muestra las imágenes más representativas del control realizado con la mezcla de alginato, quitosano y PVA (1%) con la respectiva reconstrucción superficial correspondiente a cada muestra.



(a)

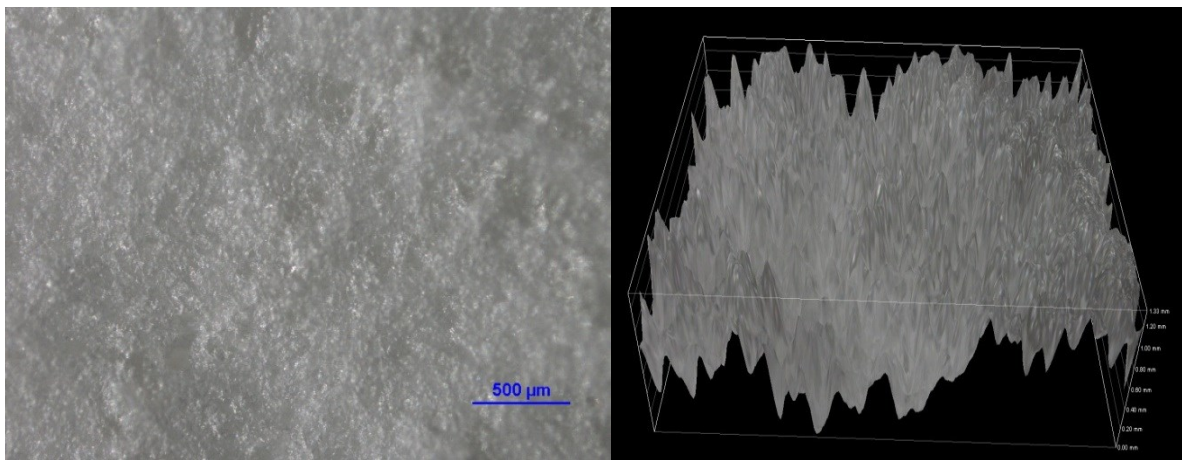


(b)

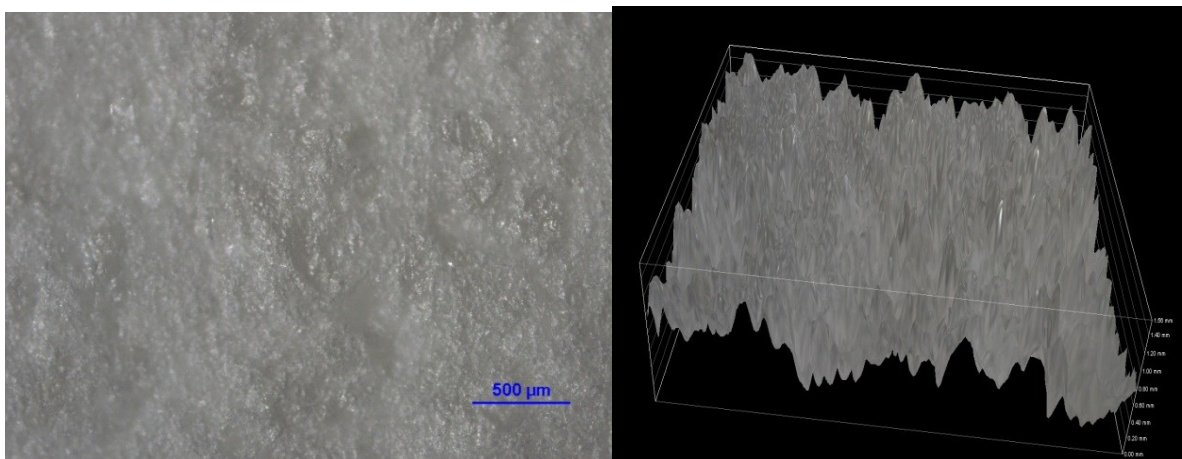


(c)

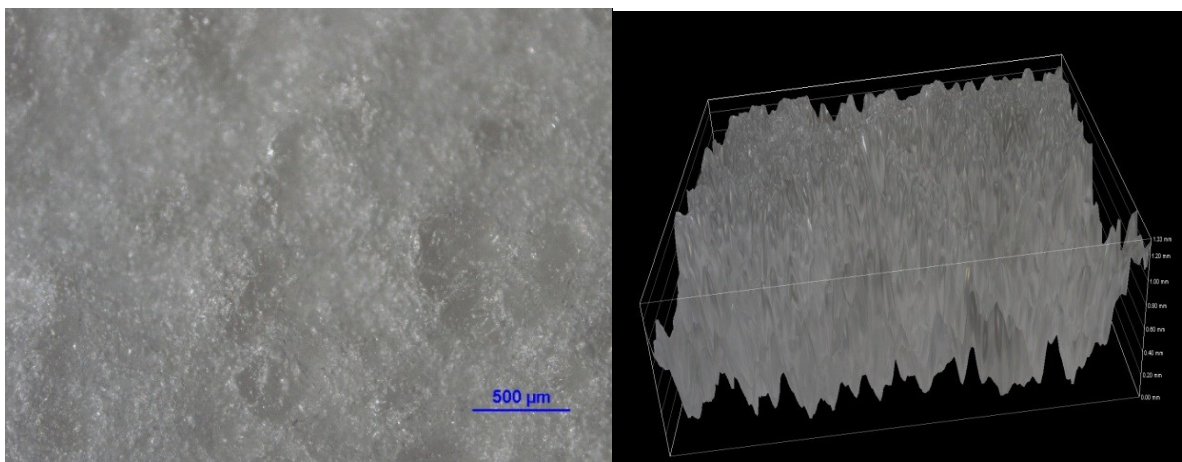
Figura 20. Vista en el microscopio de la morfología del apósito construido con alginato, quitosano y PVA. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura.



(a)



(b)



(c)

Figura 21. Vista en el microscopio de la morfología del apósito construido con alginato, quitosano y PVA. De la (a) a la (c) se muestra cada imagen con la respectiva reconstrucción tridimensional de su estructura.

El apósito control presenta una estructura más cerrada y compacta, a diferencia de la estructura de los tres polímeros anteriores, al igual que contiene canales similares a los que presenta el Quitosano.

La *Figura 21* muestra las imágenes más representativas del apósito como tal una vez construido, que contiene la mezcla de Alginato de Sodio – Quitosano y PVA y el cual está cargado con 2 mg de Disulfiram en emulsión.

El apósito cargado con Disulfiram, presenta una estructura homogénea, que se logra ver claramente en las reconstrucciones tridimensionales. Se observa también, pequeñas gotas de aceite, que tienen un color mas oscuro que el resto de los detalles y están distribuidas por toda la superficie, que es el lugar donde se encapsulo el medicamento.

Para observar más detalladamente cada superficie y analizar la función de cada material dentro del apósito se realizó una microscopía electrónica de barrido (SEM). De la *Figura 22* a la *Figura 27* se pueden observar las imágenes obtenidas por SEM del control con alginato al 1%, control con quitosano al 1%, control con PVA al 5%, control con la mezcla de los tres polímeros y las imágenes del apósito cargado con el medicamento respectivamente.

Con ayuda del software del SEM, se midieron varias partículas del medicamento, obteniendo que el tamaño promedio de partícula del disulfiram es de 32,31 μm .

La estructura del Alginato se presenta más compacta en relación con la del Quitosano y PVA. Sus poros se distribuyen alrededor de toda la estructura, presentando una red fibrilar regular. Esto se aprecia mejor en la imagen de 100X, donde se nota un poco mejor la forma circular de los poros y de menor tamaño que los del de Quitosano, tal como lo reporta la literatura (Lai, 2003).

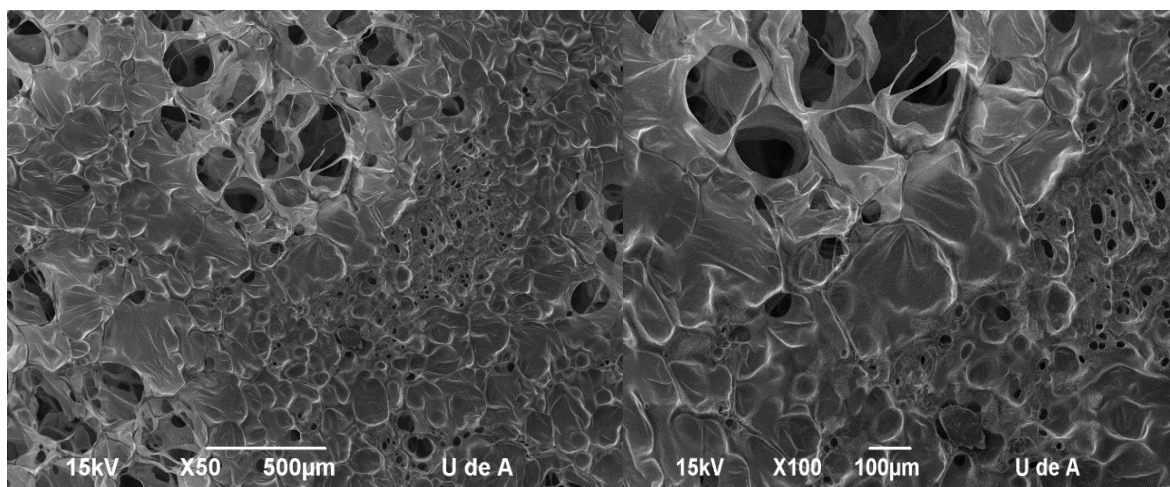


Figura 22. Imágenes de SEM del alginato al 1%.

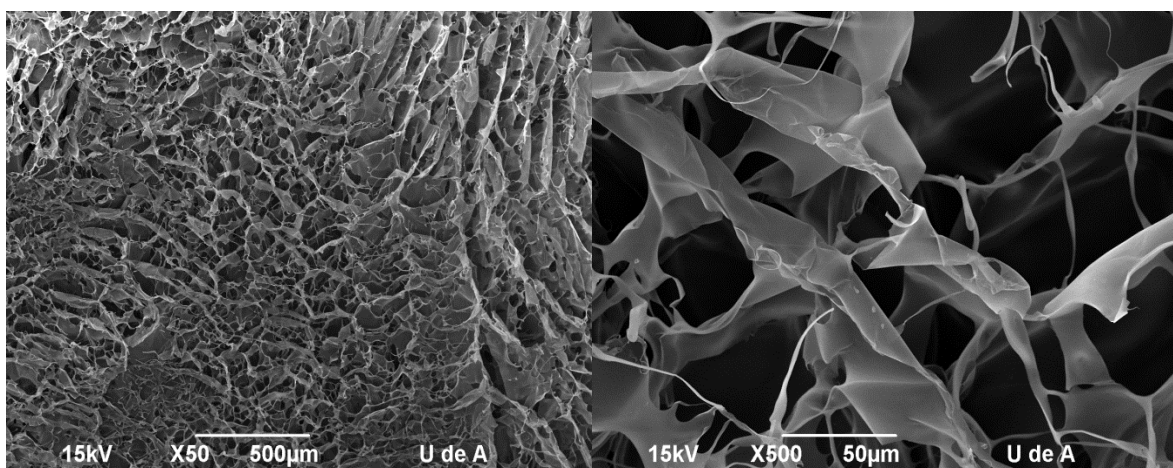


Figura 23. Imágenes de SEM del quitosano al 1%.

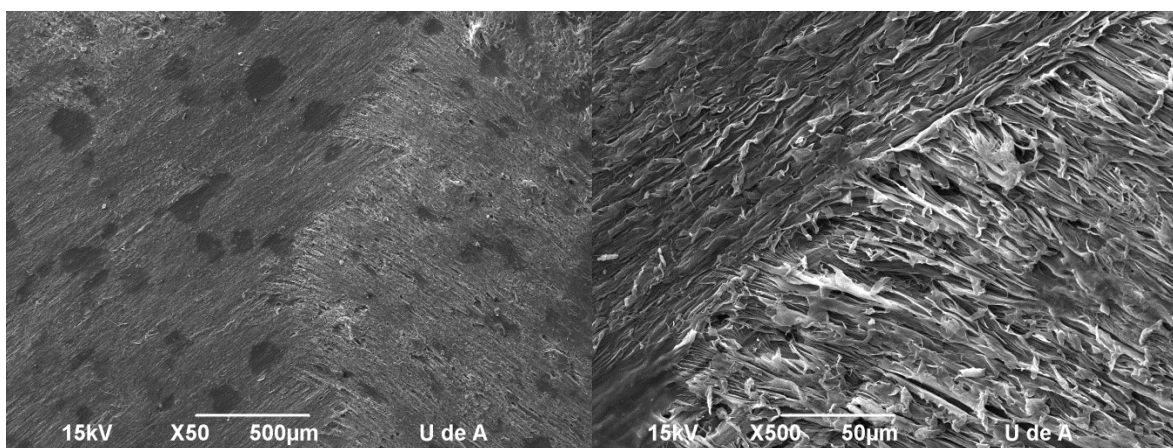


Figura 24. Imágenes de SEM del PVA al 5%.

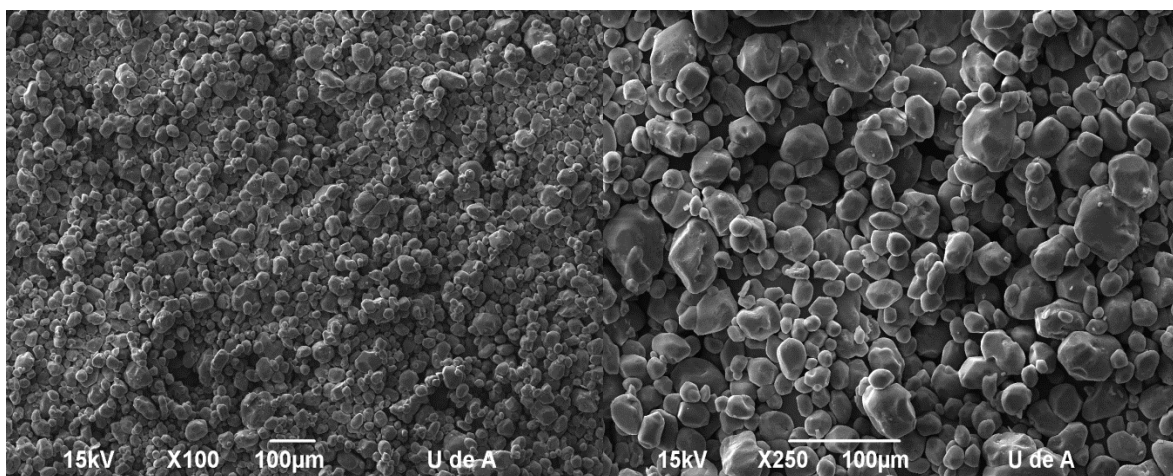


Figura 25. Imágenes de SEM del Disulfiram.

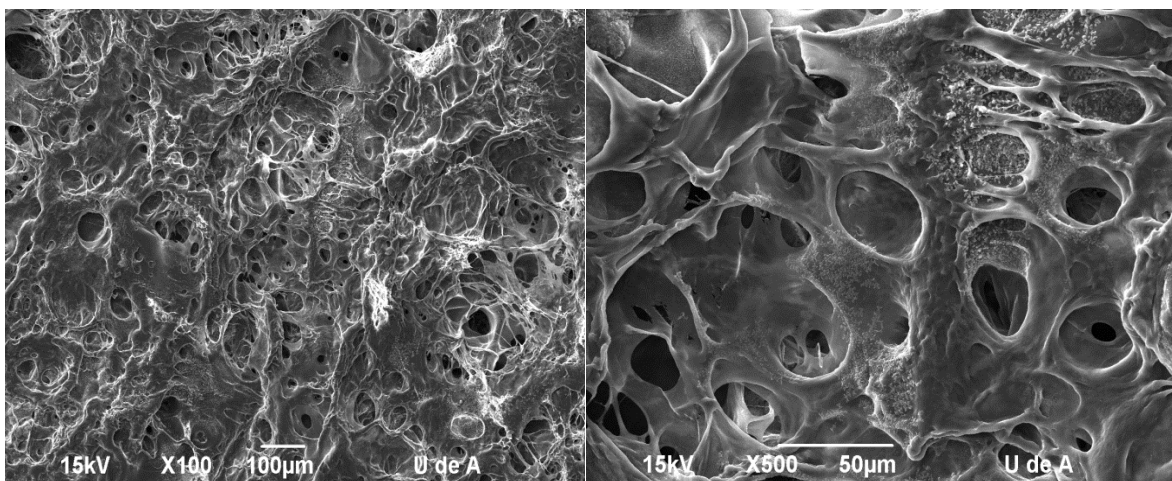


Figura 26. Imágenes de SEM del apósito de control con la mezcla de alginato, Quitosano y PVA al 1%.

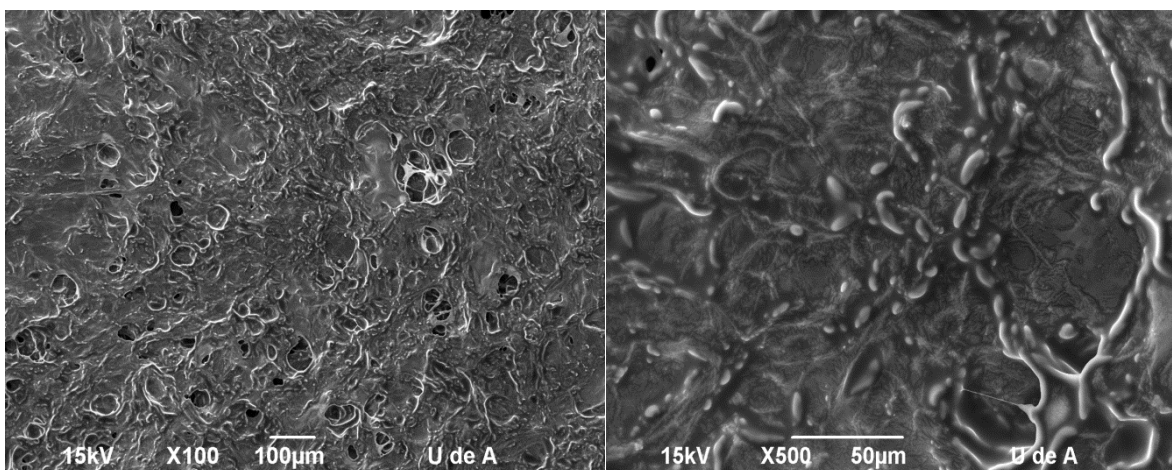


Figura 27. Imágenes de SEM del apósito cargado con Disulfiram.

El Quitosano por su parte, presenta una estructura fibrilar con poros irregulares que se interconectan entre si. El PVA, muestra una estructura homogénea en forma de fibras como se logra apreciar en la imagen a 500X y presenta pequeños poros.

El apósito control, compuesto por los tres polímeros descritos anteriormente, se encuentra conformado por una red fibrilar porosa, donde se aprecian claramente los poros del Alginato y los de Quitosano. En las imágenes correspondientes al apósito cargado con Disulfiram, se logra observar poros de varios tamaños y las micelas que contienen en su interior el fármaco, apreciándose además una fase oleosa, debido a la emulsión.

4.2.3 Caracterizaciones mecánicas

Los resultados obtenidos por las pruebas de tracción realizadas a los diferentes apósitos y materiales se encuentran resumidos de la Tabla 9 a la Tabla 13.

Tabla 9. Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de alginato al 1%.

Control alginato (1%)		
Probeta	Módulo de Young (Mpa)	Esfuerzo de Resistencia a la tracción (Mpa)
1	3,1000	0,0641
2	1,4000	0,0646
3	1,0000	0,1139
Promedio	1,8333	0,0809

Tabla 10. Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de quitosano al 1%.

Control quitosano (1%)		
Probeta	Módulo de Young (Mpa)	Esfuerzo de Resistencia a la tracción (Mpa)
1	5,0000	4,5520
2	34,7000	0,4599
3	40,0000	1,4161
Promedio	26,5667	2,1426

Tabla 11. Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de PVA al 5%.

Control PVA (5%)		
Probeta	Módulo de Young (Mpa)	Esfuerzo de Resistencia a la tracción (Mpa)
1	25,0000	2,8986
2	96,0000	3,4125
3	90,0000	3,9270
Promedio	70,3333	3,4127

La Figura 28 muestra las comparaciones entre los valores representativos de cada prueba.

Tabla 12. Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de alginato, quitosano y PVA.

Control alginato, quitosano y PVA		
Probeta	Módulo de Young (Mpa)	Esfuerzo de Resistencia a la tracción (Mpa)
1	2,5000	2,2596
2	2,0000	1,4719
3	2,5000	1,6414
Promedio	2,3333	1,7910

Tabla 13. Datos obtenidos por las pruebas de tracción del apósito de alginato, quitosano y PVA cargado con Disulfiram.

Apósito cargado con disulfiram		
Probeta	Módulo de Young (Mpa)	Esfuerzo de Resistencia a la tracción (Mpa)
1	0,0100	0,1765
2	1,0000	0,2008
3	0,2297	0,1873
Promedio	0,4132	0,1882

Las pruebas mecánicas realizadas soportan la hipótesis de que el principal encargado de darle soporte, resistencia a la rotura y las deformaciones es el PVA, ya que es el material que mejores propiedades mecánicas tiene. Su módulo de Young es el más alto de todos indicando que a cierta carga aplicada es quien soporta una mayor deformación gracias a su rigidez, seguido por el quitosano, mientras el apósito cargado con el medicamento es quien mayor deformación presenta.

El esfuerzo de resistencia a la tracción es la capacidad que tiene un cuerpo para resistir una carga de tracción aun cuando se presente cierta deformación (WordPress). Quien mayor resistencia opone es nuevamente el PVA seguido más de cerca por el quitosano y el apósito control, y el alginato y el apósito cargado con Disulfiram oponen poca resistencia, es decir, ceden fácilmente cuando están sometidos a esfuerzos de tracción, siendo el alginato quien más cede.

Al insertar la emulsión al apósito se nota una disminución en el módulo de Young. Esto es debido a la cantidad de aceite que absorben los materiales que hace que se vuelva menos rígido.

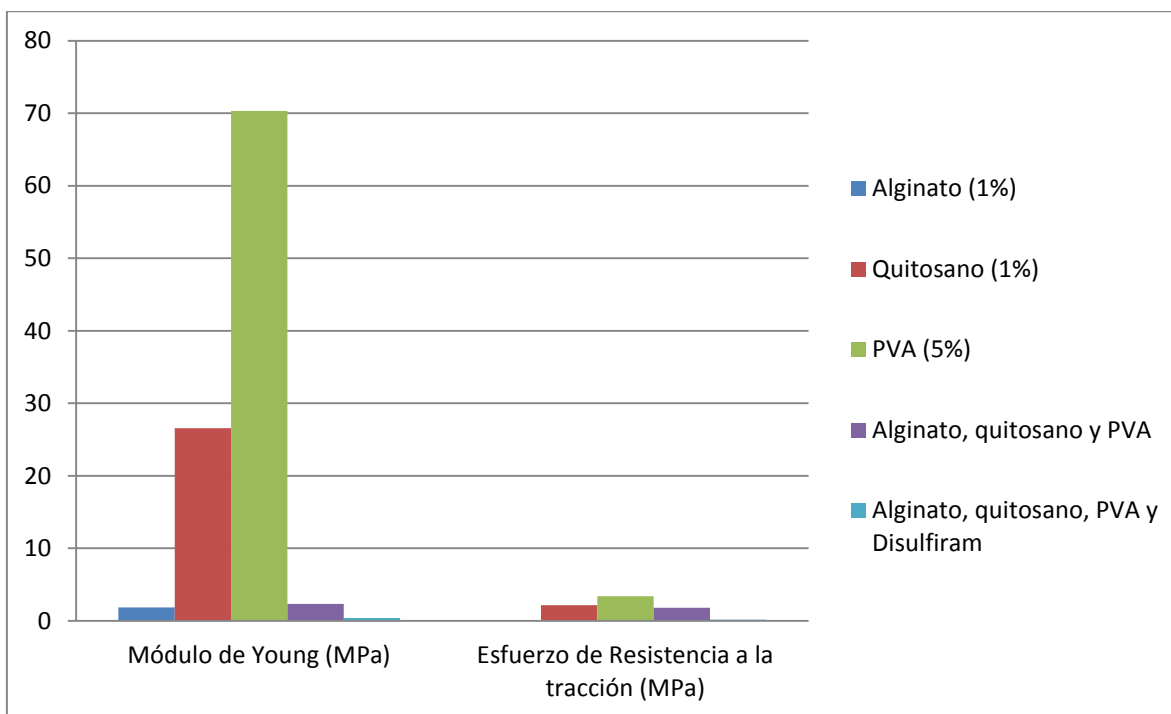


Figura 28. Comparación de las propiedades mecánicas de cada uno de los apósitos realizados.

4.3 EVALUACIÓN DEL APÓSITO

4.3.1 Curva calibración Disulfiram

La *Figura 29* muestra la curva de calibración del disulfiram medida en el UV-Visible. Se muestra la absorbancia a cada concentración utilizada.

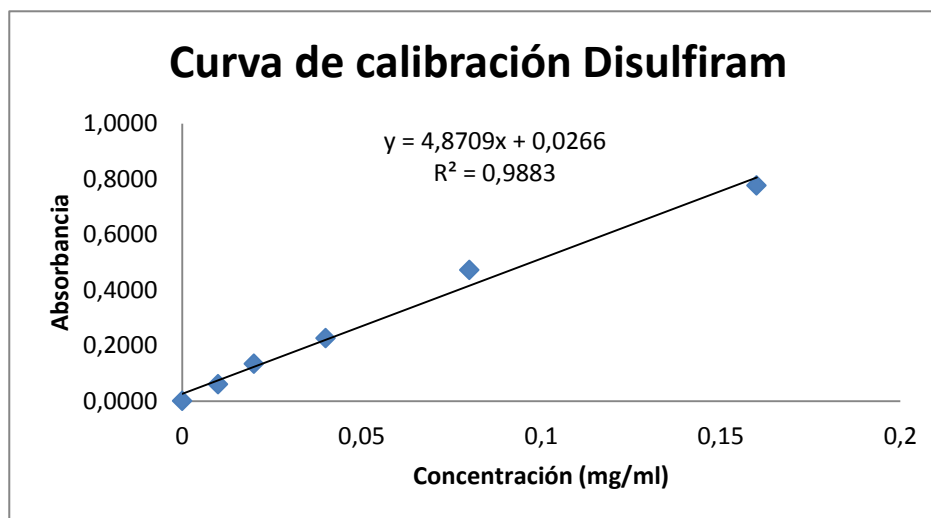


Figura 29. Curva de calibración del Disulfiram.

Sin embargo, esta curva no sería válida si se tiene en cuenta que a una absorbancia $A=0$, la concentración también debería serlo. Por esta razón, se realizó un ajuste de la curva eliminando la coordenada (0,16; 0,7763) para mejorar la correlación lineal.

La nueva ecuación se obtiene eliminando el intercepto como se muestra en la Figura 30:

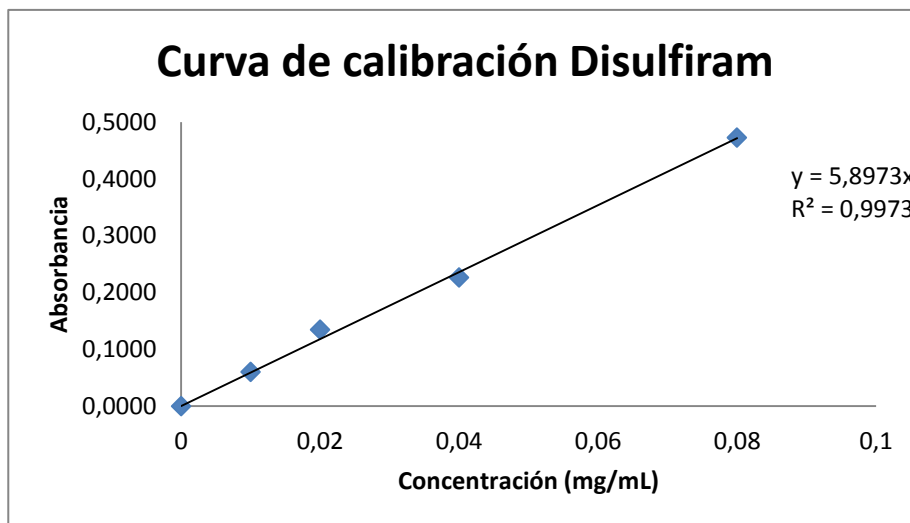


Figura 30. Curva de calibración final de Disulfiram

El análisis hecho del ANOVA muestra un valor p de 0,0001. Debido a que este valor es menor que 0.05, se encuentra una relación estadísticamente significativa entre la absorbancia y la concentración a un nivel de confianza del 95.0%.

4.3.2 Cinética de liberación del disulfiram a través del apósito

Para calcular la cinética de liberación se usaron las concentraciones calculadas con la ecuación de la Figura 30. Luego, se graficó la concentración contra el tiempo que se observa en la *Figura 31*. Sin embargo, también era necesario predecir cuál sería el posible modelo de cinética de liberación asociado al comportamiento del principio activo en el apósito, por lo cual se buscó, mediante un modelo de calibración usando el software Statgraphics (statistical graphics corp, EEUU) la mejor relación entre las variables tiempo y concentración y se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración} = (0,0106829 \cdot (\text{tiempo})^{1/2})^{1/2}$$

Cabe anotar que se observó que los valores de concentración eran superiores a los esperados, ya que la concentración del medicamento, como se ha mencionado en secciones anteriores, es de 0,08 mg/mL. Para explicar lo sucedido se analizó que los ensayos se realizaron en aceite de girasol como solución receptora del principio activo y que dicha sustancia se había usado en la emulsión junto con el Tween 80 y el ácido oleico para facilitar la encapsulación del medicamento. Lo anterior, sugiere que sería muy

probable que cualquiera de las sustancias que también estuvieran contenidas en la emulsión final, pudiera difundir a través del apósito por afinidad con el medio aceitoso, asociado a la polaridad de las moléculas.

Para probar si lo anterior era válido, se evaluó el efecto de los otros componentes al usar como blanco el aceite de girasol. Al realizar estos ensayos, se encontró que el Tween 80 se absorbe cuando se usa una $\lambda=310$ nm, usando el aceite de girasol como blanco. Debido a esto se considera que los valores de concentración obtenidos durante los ensayos de liberación presentan interferencias asociadas a la presencia del Tween 80 en el apósito, por lo cual se tendría que definir un nuevo blanco para lograr detectar la concentración exacta de disulfiram liberado del apósito.

Pese a la interferencia detectada y por ende, el error en la concentración calculada, se identificó que el modelo de ajuste obtenido usando el software, tenía la tendencia del modelo de Peppas, que es un modelo usado para analizar la cinética de liberación de principios activos contenidos en matrices poliméricas (Lafayette, 1989; Ritger & Peppas, 1987a, 1987b). La ecuación de dicho modelo se presenta a continuación:

$$M_t/M_{\infty} = k \cdot t^n$$

Donde M_t : cantidad de fármaco liberado durante un tiempo t

M_{∞} : cantidad total de fármaco contenido en el apósito

k : constante relacionada con el coeficiente de difusión D

n : exponente relacionado con la naturaleza del proceso

Con lo anterior, se realizaron los cálculos necesarios, se graficó (*Figura 32*) y se observó que efectivamente los modelos eran similares.

Si se realizara el análisis con este modelo, sería necesario evaluar el primer 60% de la gráfica, en donde el modelo es lineal, lo cual no se pudo realizar porque la interferencia en las concentraciones muestra que incluso durante los primeros 10 minutos no había principio activo dentro del apósito, pero por otra parte, pese a estos valores, el modelo de regresión usado muestra que el posible valor de n , que es el que explica la naturaleza del proceso, correspondería a $n=0,25$. Según la literatura relacionada con el Modelo de Peppas, el valor de n en una película delgada tiene un comportamiento fickiano cuando dicha constante es igual a 0,5; el comportamiento es anómalo cuando $0,5 < n < 1$ y tiene un comportamiento de orden cero cuando $n=1$. El comportamiento fickiano es aquel en el cual la velocidad de transferencia de una sustancia a través de una unidad de área, es proporcional al gradiente de concentración medido normal a dicha sección (Ritger & Peppas, 1987a). Para este caso, no se podría decir exactamente cuál es el comportamiento, sin embargo, se sabe con certeza que no hay un comportamiento anómalo ni de orden cero.

Para tener un análisis más preciso de la farmacocinética del medicamento se deberían hacer ensayos futuros utilizando un blanco diferente, que permita encontrar solo la concentración del fármaco. Con la información hasta ahora obtenida sólo se puede apreciar una correlación directa y una liberación dependiente del tiempo. Para datos más convincentes se debería evaluar la liberación durante rangos más espaciados de tiempo y

evaluar a las 24 horas si el comportamiento que se observa es similar o no al reportado en este trabajo para tomar la mejor decisión en cuánto al periodo de evaluación del apósito.

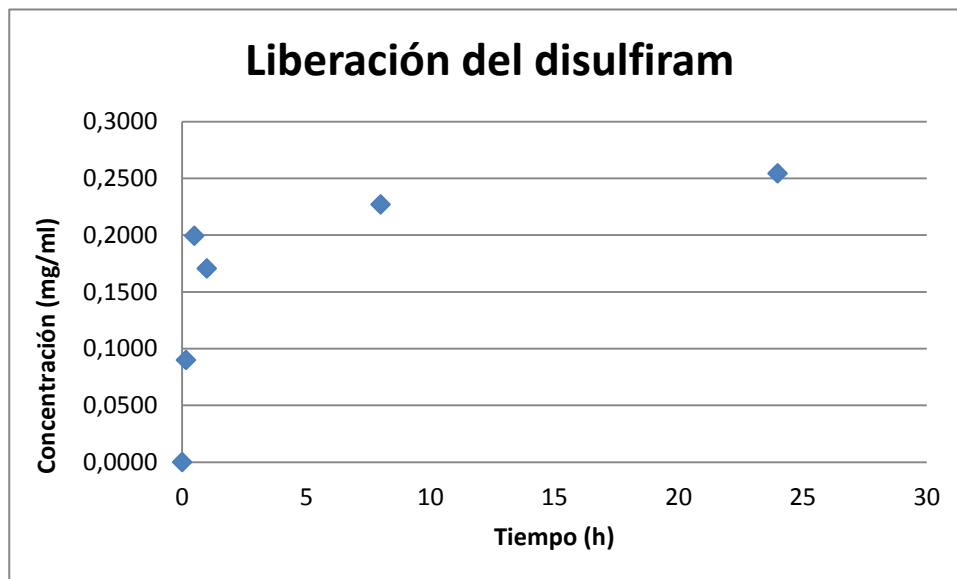


Figura 31. Liberación del disulfiram en el tiempo.

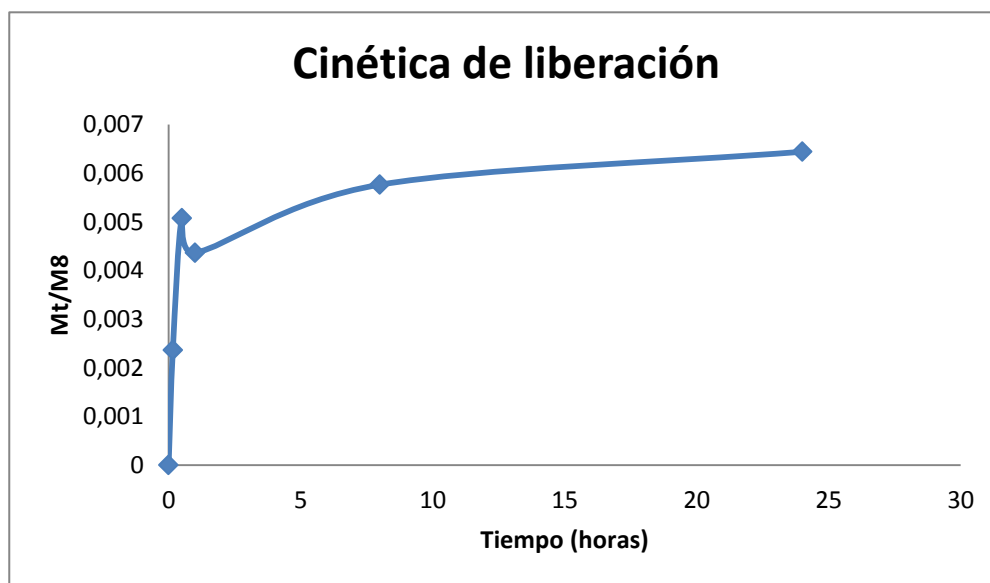


Figura 32. Liberación del disulfiram en el tiempo

5. CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES

Se logró obtener un apósito polimérico cargado con un principio activo que puede ser usado para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea. El quitosano y el alginato presentan una mayor porosidad que el PVA. Como se puede observar, los poros del Quitosano son de mayor tamaño, pero menos organizados que la estructura del Alginato. Actuando en conjunto, ambos biopolímeros ayudan a una mejor liberación controlada del medicamento. En cuanto al apósito cargado, presenta además de las micelas que encapsulan el medicamento, pequeños poros que facilitan la liberación del principio activo que se encuentra en el interior de este.

El apósito realizado exclusivamente con PVA tiene excelentes propiedades mecánicas, soporta mucha carga antes de romperse y su deformación es mínima. Sin embargo su estructura poco porosa impide la difusión de partículas más grandes. El alginato y el quitosano al ser más porosos permiten una liberación de principios activos más eficiente, y han demostrado que actúan muy bien juntos gracias a su biocompatibilidad y a la hidratación que le proporcionan a la herida. Sin embargo sus propiedades mecánicas no son las mejores. Al incorporar la emulsión con disulfiram al apósito, este tiende a reducir notablemente su rigidez pero sin perder su integridad, permitiendo además que este se ajuste de una mejor manera a todo tipo de superficies.

El ensayo de disolución no logra determinar la eficacia del apósito, debido a la interferencia que genera el Tween 80 en la medición de las concentraciones, ya que este absorbe en la misma longitud de onda, utilizada para realizar las pruebas en el UV-Visible. Se podría pensar que el apósito cumple su función como sistema de liberación controlada, debido a los reportes de la literatura en cuanto a la eficiencia del complejo Alginato y Quitosano y la poca influencia que tiene el PVA en este aspecto, pero esto debe ser cerciorado y validado con ensayos que detecten la dosis liberada de Disulfiram de manera efectiva y además, la comparación con el modelo de Peppas, muestra que tiene un comportamiento Fickiano.

RECOMENDACIONES

Para tener un análisis más preciso de la farmacocinética del medicamento se deberían hacer ensayos futuros utilizando un blanco diferente, que permita encontrar sólo la concentración del fármaco.

Para datos más convincentes se debería evaluar la liberación durante rangos más espaciados de tiempo y evaluar si el comportamiento que se observa es similar o no al reportado en este trabajo.

Luego de comprobar la liberación del apósito, se deben realizar más ensayos simulando mejor las condiciones del apósito en contacto con la piel. También harían falta estudios de

irritabilidad y efectividad en animales para buscar que el apósito pueda ser usado como tratamiento efectivo en pacientes.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abadir, A., Patel, A., Frcpc, M. B., & Frcpc, S. H. (2010). Systemic therapy of New World cutaneous leishmaniasis : A case report and review article, 21(2), 79–83.
- Alekseeva, M., Fedoseeva, E., Frolov, V., Nistratov, V., & Smirnova, L. (2009). THE STRENGTH OF CHITOSAN FILMS . THE ROLE OF MOLECULAR WEIGHT , THE DEGREE OF ORDER , THE NATURE OF CONTRE-ION, XIV, 65–74.
- Álvaro A. A. De Queiroz, E. D. (2006). Alginate-Poly(vinyl alcohol) Core-Shell Microspheres for Lipase Immobilization. *Applied Polymer Science*, 102, 1553-1560.
- Aracelis Gallardo Zavala, R. C. (2009). Cicatrización de las heridas. *Dermatol Venez Vol.47*.
- Arnau, J. V. (s.f.). *En Buenas Manos*. Recuperado el Octubre de 2012, de Aceite de Girasol: <http://www.enbuenasmanos.com/articulos/muestra.asp?art=266>
- Aronson, N. E., Wortmann, G. W., Byrne, W. R., Howard, R. S., Bernstein, W. B., Marovich, M. a, Polhemus, M. E., et al. (2010). A randomized controlled trial of local heat therapy versus intravenous sodium stibogluconate for the treatment of cutaneous Leishmania major infection. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(3), e628. doi:10.1371/journal.pntd.0000628
- Arredondo, A. (2011). MATRIZ A PARTIR DE UN HIDROGEL DE ALCOHOL POLIVINÍLICO (PVA) COMBINADA CON SULFADIAZINA DE PLATA CON POTENCIAL APLICACION EN EL MANEJO Y CONTROL DE LA SEPSIS EN HERIDAS DÉRMICAS. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 178-187.
- Askeland, D. (1998). *Ciencia en ingeniería de los materiales* (3ra ed.). México: Thomson.
- Banerjee, A., Arha, M., Choudhary, S., Ashton, R. S., Bhatia, S. R., Schafferc, D. V., & Kane, R. S. (2010). The Influence of Hydrogel Modulus on the Proliferation and Differentiation of Encapsulated Neural Stem Cells, 30(27), 4695–4699. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.05.050.The
- Baranoski, S. (2008). Elegir un apósito para las heridas (I). *Nursing*, 26(10), 50–51.
- Bari, A. u. (2006). Chronology of cutaneous leishmaniasis: An overview of the history of the disease. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*, 16, 24-27.
- Barragán, P., López-Velez, R., Olmo, M., & Podzamczar, D. (2010). Visceral Leishmaniasis treated with antimonials/paromomycin followed by itraconazole/miltefosine after standard therapy failures in a human immunodeficiency

- virus-infected patient. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 83(1), 10–2. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0594
- Coates, J. (2000). En *Interpretation of infrared spectra, a practical approach* (págs. 10815-10837). Chichester: R.A Meyers .
- Chen, Q., Liang, S., & Thouas, G. a. (2012). Elastomeric biomaterials for tissue engineering. *Progress in Polymer Science*. doi:10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003
- Chen, W., Tao, X., Xue, P., & Cheng, X. (2005). Enhanced mechanical properties and morphological characterizations of poly(vinyl alcohol)–carbon nanotube composite films. *Applied Surface Science*, 252(5), 1404–1409. doi:10.1016/j.apsusc.2005.02.138
- Dinan, B., Bhattarai, N., Li, Z., & Zhang, M. (n.d.). Characterization of Chitosan Based Hybrid Nanofiber Scaffolds for Tissue Engineering. *uweb.engr.washington.edu*, 33–37. Retrieved from <http://www.uweb.engr.washington.edu/education/pdf/Dinan2007.pdf>
- Drury, J. L., Dennis, R. G., & Mooney, D. J. (2004). The tensile properties of alginate hydrogels. *Biomaterials*, 25(16), 3187–99. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.10.002
- Echeverry, M. C., Milena, S., & Trujillo, G. (n.d.). Guía de atención de la leishmaniasis.
- Fromageau, J., Gennisson, J.-L., Schmitt, C., Maurice, R. L., Mongrain, R., & Cloutier, G. (2007). Estimation of polyvinyl alcohol cryogel mechanical properties with four ultrasound elastography methods and comparison with gold standard testings. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 54(3), 498–509. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17375819>
- García-Almagro, D. (2005). Leishmaniasis cutánea. *Actas Dermosifiliogr*, 96(1), 1-24.
- Gatica, C. A. (2005). *PREPARACIÓN DE FILMS DE COMPLEJO POLIELECTROLITO QUITOSANO - ALGINATO Y COMPARACIÓN DE SUS PROPIEDADES MECÁNICAS Y BIOLÓGICAS CON FILMS DE QUITOSANO*. Santiago de Chile.
- Gomes, M., Azevedo, H., Malafaya, P., Silva, S., Oliveira, J., Silva, G., Sousa, R., et al. (n.d.). Chapter 6 Natural Polymers in tissue engineering applications Chapter objectives :
- González Urbà, P. M. (17 de Agosto de 2008). Intervenciones para la leishmaniasis cutánea en países del Viejo Mundo. C. S. Group, Ed.
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2006). *Tratado de Fisiología Médica* (11ª ed.). Barcelona, España: Elsevier.

- Hwang, Y.-S., Cho, J., Tay, F., Heng, J. Y. Y., Ho, R., Kazarian, S. G., Williams, D. R., et al. (2009). The use of murine embryonic stem cells, alginate encapsulation, and rotary microgravity bioreactor in bone tissue engineering. *Biomaterials*, 30(4), 499–507. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.07.028
- Instituto Nacional de Salud. (25 de Septiembre de 2009). *Subdirección de Vigilancia y Control en Salud Pública*. Recuperado el 4 de Mayo de 2012, de Protocolo de vigilancia y control de Leishmania: <http://cdo-sa.com/images/Sivigila2010/PROTOCOLOS/0018.pdf>
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Sudheesh Kumar, P., Nair, S., & Tamura, H. (2011). Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol Adv*, 29(3), 322-337.
- Jiménez, C. E. (2008). Curación avanzada de heridas. *Rev Colomb Cir*, 23(3), 146–155.
- Kumar, V., Cotran, R., & Robbins, S. (2004). *Patología Humana* (7ª ed.). Madrid, España: ELSEVIER.
- Lafayette, W. (1989). A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation, 57, 169–172.
- Lai, H. L., Abu'Khalil, A., & Craig, D. Q. M. (2003). The preparation and characterisation of drug-loaded alginate and chitosan sponges. *International journal of pharmaceutics*, 251(1-2), 175–81. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12527187>
- Lechner, V. (2007). Stem Cells: Proyecciones en Ingeniería de tejidos. *Pediatría electrónica*.
- Li, L., Davidovich, A. E., Schloss, J. M., Chippada, U., Schloss, R. R., Langrana, N. a, & Yarmush, M. L. (2011). Neural lineage differentiation of embryonic stem cells within alginate microbeads. *Biomaterials*, 32(20), 4489–97. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.03.019
- Machado, P. R., Ampuero, J., Guimarães, L. H., Villasboas, L., Rocha, A. T., Schriefer, A., Sousa, R. S., et al. (2010). Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: a randomized and controlled trial. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(12), e912. doi:10.1371/journal.pntd.0000912
- Maretti-Mira, a C., de Oliveira-Neto, M. P., Da-Cruz, a M., de Oliveira, M. P., Craft, N., & Pirmez, C. (2011). Therapeutic failure in American cutaneous leishmaniasis is associated with gelatinase activity and cytokine expression. *Clinical and experimental immunology*, 163(2), 207–14. doi:10.1111/j.1365-2249.2010.04285.x
- Materials, P., Materials, E. I., & Specimens, P. (2012). Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics 1, 1–16. doi:10.1520/D0638-10.1

- Mayrink, W., Tavares, C. A. P., Deus, R. B. D., Pinheiro, M. B., Guimarães, T. M. P. D., Andrade, H. M. D., Costa, C. A. D., et al. (2010). Comparative evaluation of phenol and thimerosal as preservatives for a candidate vaccine against American cutaneous leishmaniasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(1), 86–91. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20209335>
- Medline Plus. (24 de Agosto de 2011). Recuperado el 11 de Marzo de 2012, de Leishmaniasis: MedlinePlus. (24 de Agosto de 2011). Recuperado <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001386.htm>
- Meymandi, S. S., Javadi, A., Dabiri, S., Meymandi, M. S., & Nadji, M. (2011). Comparative Histological and Immunohistochemical Changes of Dry Type Cutaneous Leishmaniasis after Administration of Meglumine Antimoniate, Imiquimod or Combination Therapy, 14(4), 238–243.
- Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2006). Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery, (October 2005), 47–90. doi:10.1007/b137240
- NCBI. (s.f.). *Pubchem compound*. Recuperado el Octubre de 2012, de Polyvinyl Alcohol - Compound Summary: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=11199&loc=ec_rcs
- OMS . (20 de Octubre de 2010). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 11 de Agosto de 2011, de Organización Mundial de la Salud : <http://www.who.int/features/qa/18/es/>
- OMS. (19 de Mayo de 2008). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 11 de Agosto de 2011, de Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2008/pr14/es>
- Panagiotis Mitropoulos, P. K.-K. (2010). New world cutaneous leishmaniasis: update review of current and future diagnosis and treatment. *the american academy of dermatology*, 309-322.
- Pasquali, R. C. (s.f.). *SlideShare*. Recuperado el Octubre de 2012, de Seminario sobre emulsiones: <http://www.slideshare.net/zinzita/emulsiones>
- Pecet. (31 de Agosto de 2011). Recuperado el 22 de Marzo de 2012, de http://pecet-colombia.org/worldcommunitygrid/drugsearch/index.php?option=com_content&view=article&id=2&Itemid=2&lang=es
- Pimentel, M. I. F., Baptista, C., Rubin, É. F., Vasconcellos, É. D. C. F. E., Lyra, M. R., Salgueiro, M. D. M., Saheki, M. N., et al. (2011). American cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* resistant to meglumine antimoniate, but with good response to pentamidine: a case report. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(2), 254–256. doi:10.1590/S0037-86822011000200026

Pubchem. (s.f.). Recuperado el 22 de Julio de 2012, de Disulfiram - Compound Summary: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?q=all&cid=3117#ec>

Pubchem . (s.f.). Recuperado el 13 de Septiembre de 2012, de http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=445639&loc=ec_rcs

Pública, S. d. (2011). *Informe del evento leishmaniasis, décimo tercero período del año 2011.*

Rahman, M. R., Islam, M. S., Hamdan, S., Jusoh, I., & Ibrahim, N. F. (2010). Study of Dynamic Young's Modulus and Dimensional Stability of Polyvinyl Alcohol Modified Batai Tropical Wood. *Journal of Scientific Research*, 2(2). doi:10.3329/jsr.v2i2.2729

Ritger, P. L., & Peppas, N. A. (1987a). A SIMPLE EQUATION FOR DESCRIPTION OF SOLUTE RELEASE I, 5, 23–36.

Ritger, P. L., & Peppas, N. A. (1987b). A SIMPLE EQUATION FOR DESCRIPTION OF SOLUTE RELEASE II., 5, 37–42.

Salud, I. N. (s.f.). *INFORME DEL EVENTO LEISHMANIASIS, DECIMO TERCERO PERIODO.*

Seifert, K. (2011). Structures, targets and recent approaches in anti-leishmanial drug discovery and development. *The open medicinal chemistry journal*, 5, 31–9. doi:10.2174/1874104501105010031

Seok Bong Kim, Y. J.-W. (November de 2004). The characteristics of a hydroxyapatite–chitosan–PMMA bone cement. *Biomaterials*, 25(26), 5715–5723.

Stevens, M. (2004). A rapid-curing alginate gel system: utility in periosteum-derived cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 25(5), 887–894. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.07.002

Stuart, B. (2004). *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications* . Sydney: John Wiley & sons, Ltd.

Subramanian, A., & Lin, H.-Y. (2005). Crosslinked chitosan: its physical properties and the effects of matrix stiffness on chondrocyte cell morphology and proliferation. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 75(3), 742–53. doi:10.1002/jbm.a.30489

Tappe, D., Müller, A., & Stich, A. (2010). Resolution of cutaneous old world and new world leishmaniasis after oral miltefosine treatment. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 82(1), 1–3. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0490

Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2006). *Principios de Anatomía y Fisiología*. Madrid, España: Editorial Medica Paramericana.

- U.S. Department of Health & Human Services. (Julio de 2009). *Effective Health Care*. Recuperado el 8 de Agosto de 2011, de Effective Health Care: http://www.effectivehealthcare.ahrq.gov/ehc/products/10/156/RAS_Cons_Span_web.pdf
- Velásquez, C. L. (2006). Quitina y quitosano : materiales del pasado para el presente y el futuro, *1*(2), 15–21.
- Velez, I. D., Hendrickx, E., Robledo, S. M., & Agudelo, S. d. (Enero-Febrero de 2001). Leishmaniosis cutánea en Colombia y género. *Cad. Saúde Pública*, *17*(1), 171-180.
- Walker, D. (1996). Back to Basics: Choosing the Correct Wound Dressing. *The American Journal of Nursing*, 35-39.
- Webber, R. E., & Shull, K. R. (2004). Strain Dependence of the Viscoelastic Properties of Alginate Hydrogels. *Macromolecules*, *37*, 6153-6160.
- Wen-Yuan Chuang, T.-H. Y.-H.-Y. (1999). Properties of the poly(vinyl alcohol)/chitosan blend and its effect on the culture of fibroblast in vitro. *Biomaterials*, *20*(16), 1479-1487.
- WordPress. (s.f.). Recuperado el Octubre de 2012, de Resistencia de materiales: <http://ibiguridp3.wordpress.com/res/es/>
- Xu, S.-w. (2006). Preparation and Catalytic Properties of Novel Alginate-Silica-Dehydrogenase. *Ind. Eng. Chem.*, 511-517.
- Zamora, A. (2012). *Scientific Psychic*. Recuperado el Octubre de 2012, de Grasas, Aceites, Ácidos grasos, Triglicéridos: <http://www.scientificpsychic.com/fitness/aceites-grasas1.html>
- Abadir, A., Patel, A., Frcpc, M. B., & Frcpc, S. H. (2010). Systemic therapy of New World cutaneous leishmaniasis : A case report and review article, *21*(2), 79–83.
- Alekseeva, M., Fedoseeva, E., Frolov, V., Nistratov, V., & Smirnova, L. (2009). THE STRENGTH OF CHITOSAN FILMS . THE ROLE OF MOLECULAR WEIGHT , THE DEGREE OF ORDER , THE NATURE OF CONTRE-ION, *XIV*, 65–74.
- Aronson, N. E., Wortmann, G. W., Byrne, W. R., Howard, R. S., Bernstein, W. B., Marovich, M. a, Polhemus, M. E., et al. (2010). A randomized controlled trial of local heat therapy versus intravenous sodium stibogluconate for the treatment of cutaneous Leishmania major infection. *PLoS neglected tropical diseases*, *4*(3), e628. doi:10.1371/journal.pntd.0000628
- Banerjee, A., Arha, M., Choudhary, S., Ashton, R. S., Bhatia, S. R., Schafferc, D. V., & Kane, R. S. (2010). The Influence of Hydrogel Modulus on the Proliferation and Differentiation of Encapsulated Neural Stem Cells, *30*(27), 4695–4699. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.05.050.The
- Baranoski, S. (2008). Elegir un apósito para las heridas (I). *Nursing*, *26*(10), 50–51.

- Bari, A. (2006). Chronology of cutaneous leishmaniasis : An overview of the history of the disease, 24–27.
- Barragán, P., López-Velez, R., Olmo, M., & Podzamczar, D. (2010). Visceral Leishmaniasis treated with antimonials/paromomycin followed by itraconazole/miltefosine after standard therapy failures in a human immunodeficiency virus-infected patient. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 83(1), 10–2. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0594
- Chen, Q., Liang, S., & Thouas, G. a. (2012). Elastomeric biomaterials for tissue engineering. *Progress in Polymer Science*. doi:10.1016/j.progpolymsci.2012.05.003
- Chen, W., Tao, X., Xue, P., & Cheng, X. (2005). Enhanced mechanical properties and morphological characterizations of poly(vinyl alcohol)–carbon nanotube composite films. *Applied Surface Science*, 252(5), 1404–1409. doi:10.1016/j.apsusc.2005.02.138
- Dinan, B., Bhattarai, N., Li, Z., & Zhang, M. (n.d.). Characterization of Chitosan Based Hybrid Nanofiber Scaffolds for Tissue Engineering. *uweb.engr.washington.edu*, 33–37. Retrieved from <http://www.uweb.engr.washington.edu/education/pdf/Dinan2007.pdf>
- Drury, J. L., Dennis, R. G., & Mooney, D. J. (2004). The tensile properties of alginate hydrogels. *Biomaterials*, 25(16), 3187–99. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.10.002
- Echeverry, M. C., Milena, S., & Trujillo, G. (n.d.). Guía de atención de la leishmaniasis.
- Fromageau, J., Gennisson, J.-L., Schmitt, C., Maurice, R. L., Mongrain, R., & Cloutier, G. (2007). Estimation of polyvinyl alcohol cryogel mechanical properties with four ultrasound elastography methods and comparison with gold standard testings. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 54(3), 498–509. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17375819>
- García-Almagro, D. (2005). Leishmaniasis cutánea. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 96(1), 1–24. doi:10.1016/S0001-7310(05)73027-1
- Gomes, M., Azevedo, H., Malafaya, P., Silva, S., Oliveira, J., Silva, G., Sousa, R., et al. (n.d.). Chapter 6 Natural Polymers in tissue engineering applications Chapter objectives :
- Hwang, Y.-S., Cho, J., Tay, F., Heng, J. Y. Y., Ho, R., Kazarian, S. G., Williams, D. R., et al. (2009). The use of murine embryonic stem cells, alginate encapsulation, and rotary microgravity bioreactor in bone tissue engineering. *Biomaterials*, 30(4), 499–507. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.07.028
- Jiménez, C. E. (2008). Curación avanzada de heridas. *Rev Colomb Cir*, 23(3), 146–155.
- Lafayette, W. (1989). A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation, 57, 169–172.

- Lai, H. L., Abu'Khalil, A., & Craig, D. Q. M. (2003). The preparation and characterisation of drug-loaded alginate and chitosan sponges. *International journal of pharmaceutics*, 251(1-2), 175–81. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12527187>
- Li, L., Davidovich, A. E., Schloss, J. M., Chippada, U., Schloss, R. R., Langrana, N. a, & Yarmush, M. L. (2011). Neural lineage differentiation of embryonic stem cells within alginate microbeads. *Biomaterials*, 32(20), 4489–97. doi:10.1016/j.biomaterials.2011.03.019
- Machado, P. R., Ampuero, J., Guimarães, L. H., Villasboas, L., Rocha, A. T., Schriefer, A., Sousa, R. S., et al. (2010). Miltefosine in the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: a randomized and controlled trial. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(12), e912. doi:10.1371/journal.pntd.0000912
- Maretti-Mira, a C., de Oliveira-Neto, M. P., Da-Cruz, a M., de Oliveira, M. P., Craft, N., & Pirmez, C. (2011). Therapeutic failure in American cutaneous leishmaniasis is associated with gelatinase activity and cytokine expression. *Clinical and experimental immunology*, 163(2), 207–14. doi:10.1111/j.1365-2249.2010.04285.x
- Materials, P., Materials, E. I., & Specimens, P. (2012). Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics 1, 1–16. doi:10.1520/D0638-10.1
- Mayrink, W., Tavares, C. A. P., Deus, R. B. D., Pinheiro, M. B., Guimarães, T. M. P. D., Andrade, H. M. D., Costa, C. A. D., et al. (2010). Comparative evaluation of phenol and thimerosal as preservatives for a candidate vaccine against American cutaneous leishmaniasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(1), 86–91. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20209335>
- Meymandi, S. S., Javadi, A., Dabiri, S., Meymandi, M. S., & Nadji, M. (2011). Comparative Histological and Immunohistochemical Changes of Dry Type Cutaneous Leishmaniasis after Administration of Meglumine Antimoniate, Imiquimod or Combination Therapy, 14(4), 238–243.
- Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2006). Polymers as Biomaterials for Tissue Engineering and Controlled Drug Delivery, (October 2005), 47–90. doi:10.1007/b137240
- Pimentel, M. I. F., Baptista, C., Rubin, É. F., Vasconcellos, É. D. C. F. E., Lyra, M. R., Salgueiro, M. D. M., Saheki, M. N., et al. (2011). American cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia) braziliensis* resistant to meglumine antimoniate, but with good response to pentamidine: a case report. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(2), 254–256. doi:10.1590/S0037-86822011000200026
- Rahman, M. R., Islam, M. S., Hamdan, S., Jusoh, I., & Ibrahim, N. F. (2010). Study of Dynamic Young's Modulus and Dimensional Stability of Polyvinyl Alcohol Modified Batai Tropical Wood. *Journal of Scientific Research*, 2(2). doi:10.3329/jsr.v2i2.2729
- Ritger, P. L., & Peppas, N. A. (1987a). A SIMPLE EQUATION FOR DESCRIPTION OF SOLUTE RELEASE I, 5, 23–36.
- Ritger, P. L., & Peppas, N. A. (1987b). A SIMPLE EQUATION FOR DESCRIPTION OF SOLUTE RELEASE II., 5, 37–42.

- Seifert, K. (2011). Structures, targets and recent approaches in anti-leishmanial drug discovery and development. *The open medicinal chemistry journal*, 5, 31–9. doi:10.2174/1874104501105010031
- Stevens, M. (2004). A rapid-curing alginate gel system: utility in periosteum-derived cartilage tissue engineering. *Biomaterials*, 25(5), 887–894. doi:10.1016/j.biomaterials.2003.07.002
- Subramanian, A., & Lin, H.-Y. (2005). Crosslinked chitosan: its physical properties and the effects of matrix stiffness on chondrocyte cell morphology and proliferation. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 75(3), 742–53. doi:10.1002/jbm.a.30489
- Tappe, D., Müller, A., & Stich, A. (2010). Resolution of cutaneous old world and new world leishmaniasis after oral miltefosine treatment. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 82(1), 1–3. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0490
- Velez, I., Hendrickx, E., Robledo, S., & Agudelo, S. (2001). Leishmaniosis cutánea en Colombia y género. *Cad. Saude ...*, 17(1), 171–180. Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/%0D/csp/v17n1/4073.pdf>
- Velásquez, C. L. (2006). Quitina y quitosano : materiales del pasado para el presente y el futuro, 1(2), 15–21.
- Zavala, A. G., Benzaquen, R. C., Malavé, E. Z., Sáenz, A. M., Calebotta, A., & Rivero, A. L. (2009). Cicatrización de las heridas, 47, 8–12.

ANEXO 1

PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE QUITOSANO AL 1% P/V

MATERIALES Y EQUIPOS

N°	EQUIPOS
1	Balanza analítica
1	Pesa sustancias
1	Beaker de 250 mL
1	Balón volumétrico
1	Plancha con agitación magnética

REACTIVOS

REACTIVO	CANTIDAD	PESO MOLECULAR	GRADO DE HIDRÓLISIS	MARCA
Quitosano	1 g			Sigma
Ácido acético	1 mL			
Agua destilada	99 mL			

PROCEDIMIENTO

- **Cálculos**

Para la preparación del Quitosano al 1 %

Quitosano al 1% P/V = 1 g de soluto/ 100 mL de solución

1% P/V = 1 g de Quitosano / 100 mL de solución.

Ácido acético al 1% V/V = (1 mL ácido acético / 100 mL de solución) x 100

Volumen total de la solución= 100 mL

100 mL de solución – 1 mL de ácido acético = 99 mL de agua destilada.

- **Síntesis**

1. Pesar en 1 g de Quitosano.
2. Verter en un beaker 100 mL de agua destilada.
3. Poner en constante agitación y a temperatura ambiente, el beaker con el agua y lentamente adicionar el polvo de Quitosano.
4. Retirar el beaker de la plancha de agitación, cuando tenga este haya solubilizado por completo y almacenar en la nevera.

ANEXO 2

PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DE ALGINATO DE SODIO AL 1% P/V

MATERIALES Y EQUIPOS

N°	EQUIPOS
1	Balanza analítica
1	Pesa sustancias
1	Beaker de 250 mL
1	Balón volumétrico
1	Plancha con agitación magnética

REACTIVOS

REACTIVO	CANTIDAD	PESO MOLECULAR	MARCA
Alginato de Sodio	1 g		Sigma
Agua destilada	50 mL		
Hepes	1 mL		
NaCl	0,44 g		

PROCEDIMIENTO

- Cálculos

Para la preparación del Alginato al 1 %

$1\% = (1 \text{ g Solute} / 100 \text{ mL de Solvente}) \times 100.$

1% = 1 g de Alginato de Sodio / 100 mL de Agua destilada.

- Síntesis

1. Tomar un beaker con 50 mL de agua destilada.
2. Adicionar 1 mL de Hepes.
3. Adicionar 0,44 g de Cloruro de Sodio (NaCl).
4. Colocar el beaker en la plancha con temperatura y agitación constante.
5. Retirar el beaker cuando haya solubilizado por completo.

ANEXO 3

EMULSIÓN TRABAJADA CON EL DISULFIRAM

Una emulsión es una mezcla de dos sustancias no miscibles. El sistema consta de dos fases, una dispersada y una continua, que al mezclarse forman glóbulos o gotas (Pasquali). Los componentes usados en la emulsión con Disulfiram son los siguientes:

ACEITE DE GIRASOL

Este aceite es extraído de las pipas o semillas de girasol y debe ser extraído en frío y de primera presión para que no pierda sus propiedades (Arnau).

Tiene alto contenido de vitamina E y ácidos grasos no saturados (monoinsaturados y poliinsaturados) que el cuerpo no puede producir. También es rico en ácido linoleico y oleico los cuales ayudan a reducir el riesgo de sufrir problemas circulatorios y cardiovasculares y ayuda a regular el metabolismo del colesterol (Arnau).

El porcentaje aproximado de componentes es el siguiente: 12% de ácidos grasos saturados principalmente ácido palmítico y ácido esteárico, 20 % de ácidos grasos monoinsaturados principalmente ácido oleico y 68% de ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico y el ácido alfa-linolénico (Zamora, 2012).

ÁCIDO OLEICO

Este ácido graso insaturado es el más abundante de la naturaleza y está ampliamente distribuido. Se utiliza como solvente farmacéutico y en la preparación de lociones y oleatos. Este ácido es producto de la hidrólisis de algunos aceites naturales y animales, y transportado en el cuerpo por el sistema linfático. La **¡Error! No se encuentra el origen e la referencia.** muestra las principales características de este ácido.

Característica	
Fórmula Molecular	$C_{18}H_{34}O_2$

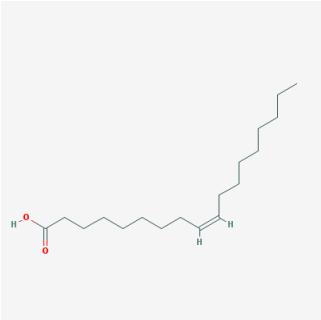
Estructura 2D	
Peso Molecular	282.46136 g/mol
Aplicaciones	Jabones, ungüentos, cosméticos, gastronomía, industria metalúrgica, textil y petrolera.
Nombre (IUPAC)	(Z)-octadec-9-enoic acid

Tabla 14. Generalidades del ácido oleico. Tomado de (Pubchem)

El ácido oleico radioactivo se localiza en el corazón, pulmones, hígado, riñones, bazo, intestino, glándula suprarrenal, músculo, linfa, sangre, tejido adiposo, tejidos dentales y mucosas, después de su administración.

Por medio de un ensayo histológico se reportó que el ácido oleico atraviesa la piel de las ratas, donde se observaba que este estaba presente en las células epidérmicas, 10 minutos después de su aplicación. Poca cantidad de ácido oleico se presentó en los vasos sanguíneos y su mayor parte estaba presente en el hígado en forma de triglicéridos y fosfolípidos. Con este estudio, se demostró que la permeabilidad de la piel se incrementa con la naturaleza lipofílica de un compuesto (Pubchem).

TWEEN 80

El tween 80 es un tensoactivo, emulsificante de aceite en agua y agente dispersante de productos farmacéuticos, sus principales características se enumeran en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..**

Característica	
Fórmula Molecular	$C_{32}H_{60}O_{10}$

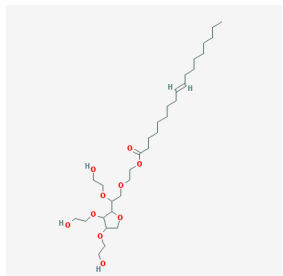
Estructura 2D	
Peso Molecular	604.8128 g/mol
Aplicaciones	Biorremediación,
Nombre (IUPAC)	4-bis(2-hydroxyethoxy)oxolan-2-yl]-2-(2-hydroxyethoxy)ethoxy]ethyl (E)-octadec-9-enoate

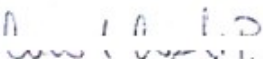
Tabla 15. Generalidades del tween 80. Tomado de (Pubchem)



UNIVERSIDAD CES
Un Compromiso con la Excelencia

ESCUELA DE INGENIERÍA DE ANTIOQUIA
ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN FINAL DE TRABAJO DE
GRADO

Fecha: (dd/mm/aa)	21/ 11/ 2012		
Nombre del proyecto:	Apósito polimérico para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea		
Director del proyecto:	Bruno Travi		
	Nombre del estudiante	Programa académico	
	Paola Andrea Ramos González	Ingeniería Biomédica	
	Daniela Villa Moreno	Ingeniería Biomédica	
Evaluación de la sustentación			
Tenga en cuenta: fluidez, seguridad, manejo del tiempo, respuesta a las preguntas y material de apoyo para la presentación			
<input checked="" type="checkbox"/> Aprobada <input type="checkbox"/> No aprobada			
Observaciones: Muy bien. Abre camino a muchos otros trabajos			
Espacio exclusivo para proyectos exploratorios en emprendimiento			
Se considera que el proyecto puede continuar con incubación? Si <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>			



DIRECTOR DEL PROGRAMA



DIRECTOR DEL TRABAJO DE GRADO

JURADO (Si lo hubo)