

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 459**

51 Int. Cl.:

A61B 10/00 (2006.01) **A61B 18/00** (2006.01)

A61K 41/00 (2006.01)

A61B 17/3203 (2006.01)

A61B 5/00 (2006.01)

A61B 18/08 (2006.01)

A61B 5/145 (2006.01)

A61B 5/1486 (2006.01)

A61B 18/20 (2006.01)

A61M 37/00 (2006.01)

A61B 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.08.1996 E 05011002 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.02.2015 EP 1563788**

54 Título: **Microporación de piel humana para administración de fármacos y aplicaciones de supervisión**

30 Prioridad:

29.08.1995 US 520547

30.10.1995 US 8043 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.05.2015

73 Titular/es:

NITTO DENKO CORPORATION (100.0%)
1-2, Shimohozumi 1-chome Ibaraki-shi
Osaka 567-8680, JP

72 Inventor/es:

EPPSTEIN, JONATHAN A.;
HATCH, MICHAEL R. y
YANG, DIFEI

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 536 459 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Microporación de piel humana para administración de fármacos y aplicaciones de supervisión

Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere en general al campo de la vigilancia de analitos en el cuerpo y la administración transdérmica de fármacos al cuerpo. Más particularmente, la presente invención se refiere a un método mínimamente invasivo a no invasivo para aumentar la permeabilidad de la piel a través de la microporación del estrato córneo, que se puede combinar con energía sónica, potenciadores de permeación química, presión y similares para mejorar selectivamente el flujo hacia afuera de analitos del cuerpo para el seguimiento de los mismos o la administración de fármacos en el cuerpo.

10 El estrato córneo es el principal responsable de las propiedades de barrera bien conocidas de la piel. Por lo tanto, es esta capa la que presenta la mayor barrera para el flujo transdérmico de fármacos u otras moléculas en el cuerpo y de los analitos fuera del cuerpo. El estrato córneo, la capa córnea exterior de la piel, es una estructura compleja de restos de células queratinizadas compactas separadas por dominios de lípidos. En comparación con la mucosa oral o gástrica, el estrato córneo es mucho menos permeable a las moléculas, ya sea internas o externas al cuerpo. El estrato córneo está formado por queratinocitos, que comprenden la mayoría de las células epidérmicas, que pierden sus núcleos y se convierten en corneocitos. Estas células muertas comprenden el estrato córneo, que tiene un espesor de sólo alrededor de 10-30 μm y, como se señaló anteriormente, es una membrana impermeable muy resistente que protege el cuerpo de la invasión por parte de sustancias exteriores y de la migración hacia fuera de fluidos y moléculas disueltas. El estrato córneo se renueva continuamente por el desprendimiento de células corneas durante descamación y la formación de nuevas células corneas por el proceso de queratinización.

20 El flujo de un fármaco o analito a través de la piel se puede incrementar cambiando, la resistencia (el coeficiente de difusión) o la fuerza impulsora (el gradiente para difusión). El flujo se puede incrementar mediante el uso de los denominados potenciadores de penetración o químicos. Los potenciadores químicos se conocen bien en la técnica y se proporcionará a continuación una descripción más detallada.

25 Otro método para incrementar la permeabilidad de la piel a los fármacos es la iontoforesis. La iontoforesis implica la aplicación de un campo eléctrico externo y el suministro tópico de una forma ionizada de fármaco o un fármaco desionizado transportado con el flujo de agua asociado con el transporte de iones (electro-ósmosis). Aunque el incremento de la permeación con la iontoforesis ha sido efectivo, el control del suministro de fármacos y el deterioro irreversible de la piel son problemas asociados con la técnica.

30 La energía sónica se ha usado también para incrementar la permeabilidad de la piel y las membranas sintéticas a los fármacos y otras moléculas. Los ultrasonidos se han definido como ondas de presión mecánica con frecuencias superiores a 20 kHz, H. Lutz et al., Manual of Ultrasound 3-12 (1984). La energía sónica se genera haciendo vibrar un cristal piezoeléctrico u otro elemento electromecánico haciendo pasar una corriente alterna a través del material, R. Brucks et al., 6 Pharm. Res. 697 (1989). El uso de energía sónica para incrementar la permeabilidad de la piel a las moléculas de fármaco se ha denominado sonoforesis o fonoforesis.

35 Aunque se ha confirmado que el incremento de la permeabilidad de la piel debería teóricamente hacer posible transportar moléculas desde el interior del cuerpo a través de la piel hacia el exterior del cuerpo, para la recolección o supervisión, no se han descrito métodos realizables en la práctica. La patente de EE.UU. No. 5.139.023 de Stanley et al., describe un aparato y método para la supervisión no invasiva de la glucosa sanguínea. En esta invención, se usan potenciadores de permeación química para incrementar la permeabilidad del tejido mucoso o la piel a la glucosa. La glucosa se difunde entonces pasivamente a través del tejido mucoso o la piel y se captura en un medio receptor. La cantidad de glucosa en el medio receptor se mide y correlaciona para determinar el nivel de glucosa sanguínea. Sin embargo, según se enseña en Stanley et al., este método es mucho más eficiente cuando se usa sobre el tejido mucoso, como en el tejido bucal, lo cual hace que se recojan cantidades detectables de glucosa en el medio receptor, después de un tiempo de retraso de aproximadamente 10-20 minutos. Sin embargo, el método enseñado por Stanley et al. produce un tiempo de retraso extremadamente largo, que varía de 2 a 24 horas dependiendo de la composición química potenciadora usada, antes de que se puedan detectar cantidades de glucosa detectables difundándose a través de la piel humana (epidermis separada térmicamente) in vitro. Estos tiempos de retraso se pueden atribuir a la cantidad de tiempo requerida para que los potenciadores de la permeación química se difundan pasivamente a través de la piel e incrementen la permeabilidad de la barrera del estrato córneo, así como la cantidad de tiempo requerido para que la glucosa se difunda pasivamente a través de la piel hacia el exterior. Por tanto, Stanley et al., claramente no enseña un método para transportar glucosa sanguínea u otros analitos no invasivamente a través de la piel, de una forma que permita la supervisión rápida, según se requiere para la supervisión de la glucosa sanguínea de pacientes diabéticos y para muchos otros analitos corporales, como electrolitos sanguíneos.

55 Aunque se conoce el uso de energía sónica para suministro de fármacos, los resultados han sido muy desalentadores, ya que el incremento de la permeabilidad ha sido relativamente bajo. No hay consenso sobre la eficacia de la energía sónica para incrementar el flujo de fármacos a través de la piel. Aunque algunos estudios

describen el éxito de la sonoforesis, J. Davick et al., 68 Phvs. Ther. 1672 (1988); .1. Griffin at al., 47 Phvs. Ther., 59.4 (1967); J. Griffin & J. Touchstone, 42 Am. J. Phvs. Med. 77 (1963); J. Griffin et al., 44 Am. J. Phvs. Med. 20 (1965); D. Levy et al., 83 J. Clin. Invest. 2074; D. Bommannan et al., 9 Pharm. Res. 559 (1992), otros han obtenido resultados negativos, H. Benson et al., 69 Phvs. Ther. 113 (1988); J. McElnay et al., 20 Br. J. Clin. Pharmacol. 4221 (1985); H. Pratzel et al., 13 J. Rheumatol. 1122 (1986). Los sistemas en los que se empleaba piel de roedor mostraban los resultados más prometedores, mientras que los sistemas en los que se empleaba piel humana han mostrado en general resultados desalentadores. Es bien conocido para los expertos en la técnica que la piel de los roedores es mucho más permeable que la piel humana y, consecuentemente, los resultados anteriores no enseñan al experto en la técnica cómo utilizar de forma efectiva la sonoforesis aplicada al suministro y/o el control transdérmicos a través de la piel humana.

En las solicitudes en tramitación junto con la presente, de Nos de serie 08/152.442 presentada el 15 de noviembre de 1993, actualmente patente de EE.UU. N° 5.458.140, y en el N° de serie 08/152.174 presentada el 8 de diciembre de 1993, actualmente patente de EE.UU. N° 5.445.611, se describe y reivindica una mejora significativa en el uso de la energía ultrasónica en el control de analitos y también en el suministro de fármacos al cuerpo. En estas invenciones se consigue el muestreo transdérmico de un analito o el suministro transdérmico de fármacos, mediante el uso de energía sónica que se modula en intensidad, fase o frecuencia, o una combinación de estos parámetros, asociado con el uso de potenciadores de permeación químicos. También se describe el uso de energía sónica, opcionalmente con modulaciones de frecuencia, intensidad y/o fase, para impulsar y/o bombear moléculas de forma controlable a través del estrato córneo vía perforaciones introducidas mediante punción con agujas, chorro hidráulico, láser, electroporación u otros métodos.

La formación de microporos (es decir, microporación) en el estrato córneo para incrementar el suministro de fármacos, ha sido el objeto de diversos estudios, y ha producido la concesión de patentes para tales técnicas.

Jacques et al., 88 J. Invest. Dermatol. 88-93 (1987), enseña un método de administración de un fármaco para la ablación del estrato córneo de una región de la piel, usando luz láser pulsada de longitud de onda, longitud de pulso, energía de pulso, número de pulsos y velocidad de repetición de pulsos suficiente para extirpar el estrato córneo, sin dañar significativamente la epidermis subyacente y, a continuación, aplicar el fármaco a la región de la ablación. Este trabajo originó la concesión de la patente de EE.UU. 4.775.361 de Jacques et al. La ablación de la piel a través del uso de irradiación con láser-ultravioleta había sido descrita anteriormente por Lane et al., 121 Arch. Dermatol. 609-617 (1985). Jacques et al. se restringe al uso de pocas longitudes de onda de luz y láseres costosos.

Tankovich, patente de EE.UU. N° 5.165.418 (de aquí en adelante, "418 de Tankovich"), describe un método para obtener una muestra sanguínea irradiando piel humana o animal con uno o más pulsos de láser de energía suficiente para producir la vaporización del tejido de la piel, produciendo un orificio en la piel que se extiende a través de la epidermis, y cortando al menos un vaso sanguíneo, haciendo que se expulse una cantidad de sangre a través del orificio, de forma que se pueda recoger. 418 de Tankovich es, por tanto, inadecuada para la permeabilización no invasiva o mínimamente invasiva del estrato córneo, de forma que se pueda suministrar un fármaco al cuerpo o que se pueda analizar un analito procedente del cuerpo.

La patente de EE.UU. N° 5.423.803 de Tankovich et al. (de aquí en adelante "803 de Tankovich"), describe un método de eliminación por láser de células cutáneas epidérmicas superficiales en piel humana, para aplicaciones cosméticas. El método comprende la aplicación de un "contaminante" absorbedor de luz a las capas externas de la epidermis, y forzar parte de este contaminante hacia el interior o a través de los espacios intercelulares en el estrato córneo, e iluminar la piel infiltrada con pulsos de luz láser de intensidad suficiente, de forma que la cantidad de energía absorbida por el contaminante hará que el contaminante explote con suficiente energía para desgarrar algunas de las células cutáneas epidérmicas. 803 de Tankovich enseña además que debería existir una absorción elevada de energía por el contaminante a la longitud de onda del haz láser, que el haz láser tiene que ser un haz pulsado de menos de 1 μ s de duración, que el contaminante tiene que forzarse hacia el interior o a través de las capas superiores de la epidermis, y que el contaminante tiene que explotar con suficiente energía para desgarrar células epidérmicas tras la absorción de energía láser. Esta invención tampoco describe o sugiere un método de suministro de fármacos o recolección de analitos.

Raven et al., WO 92/00106, describe un método para eliminar selectivamente tejido enfermo de un cuerpo, administrando a un tejido seleccionado un compuesto que es muy absorbedor de radiación infrarroja de longitud de onda 750-860 nm e irradiando la región con radiación infrarroja correspondiente, a una potencia suficiente para producir la vaporización térmica del tejido al que se administró el compuesto, pero insuficiente para producir vaporización del tejido al que no se había administrado el compuesto. El compuesto absorbedor debería ser soluble en agua o suero, por ejemplo verde de indocianina, clorofila, porfirinas, compuestos que contengan hemo, o compuestos que contengan una estructura polieno, y los niveles de potencia están en el intervalo de 50-1000 W/cm² o incluso superiores.

Konig et al., DD 259351, enseña un procedimiento para el tratamiento térmico de tejido tumoral, que comprende depositar un medio en el tejido tumoral, que absorbe la radiación en la región espectral del rojo y/o próxima al rojo, e irradiar el tejido infiltrado con una longitud de onda apropiada de luz láser. Los medios absorbedores pueden incluir azul de metileno, porfirina reducida o sus agregados, y azul de ftalocianina. Se ejemplifica el azul de metileno, que

absorbe fuertemente a 600-700 nm, y un láser de kriptón que emite a 647 y 676 nm. El nivel de potencia debería ser al menos 200 mW/cm².

5 Se ha demostrado que separando el estrato córneo de una pequeña área de la piel, con la aplicación y eliminación repetida de cinta de celofán a la misma localización, se pueden recoger cantidades arbitrarias de fluido intersticial, que se puede analizar después para diversos analitos de interés. De forma similar la piel "separada con cinta" se ha demostrado que es permeable al suministro transdérmico de compuestos hacia el interior del cuerpo. Desafortunadamente, la "separación con cinta" deja una rozadura abierta que tarda semanas en cicatrizar y, por esto, así como por otras razones, no se considera una práctica aceptable para incrementar el transporte transcutáneo en aplicaciones amplias.

10 Según se analizó anteriormente, se ha demostrado que los láseres pulsados, como el láser excímer funcionando a 193 nm, el láser de erbio funcionando cerca de 2,9 μm o el láser de CO₂ funcionando a 10,2 μm, se pueden usar para extirpar de forma efectiva pequeños orificios en el estrato córneo humano. Estas técnicas de ablación por láser ofrecen el potencial de un método selectivo y potencialmente no traumático para abrir un orificio de suministro y/o muestreo a través del estrato córneo. Sin embargo, debido a los costes prohibitivos asociados con estas fuentes de luz, no han existido productos comerciales basados en este concepto. La invención descrita en este momento permite producir la microablación deseada del estrato córneo con fuentes de energía de coste muy bajo, proporcionando un dispositivo para conducir directamente la energía térmica al estrato córneo con resolución espacial y temporal definida muy precisamente.

20 A la vista de los problemas y/o deficiencias anteriores, el desarrollo de un dispositivo para incrementar de forma segura la permeabilidad de la piel para el control mínimamente invasivo o no invasivo de los analitos del cuerpo en un marco temporal más rápido, sería un avance significativo en la técnica. Otro avance significativo en la técnica sería proporcionar un dispositivo para potenciar de forma mínimamente invasiva o no invasiva la velocidad de flujo transdérmica de un fármaco hacia un área seleccionada del cuerpo de un individuo.

US5342355 divulga un dispositivo de vaporización con una punta calentada.

25 **Breve compendio de la invención**

Un objeto de la invención es minimizar las propiedades de barrera del estrato córneo usando la poración, para recoger analitos procedentes del interior del cuerpo de forma controlable, a través de perforaciones en el estrato córneo, para permitir el control de estos analitos.

La presente invención se expone en las reivindicaciones.

30 Se divulga un método para controlar analitos seleccionados en el cuerpo a través de microporos en el estrato córneo, en combinación con energía sónica, potenciadores de permeación, gradientes de presión y similares.

Además se divulga un método para controlar las tasas de flujo transdérmico de fármacos u otras moléculas en el cuerpo y, si se desea, en el torrente sanguíneo a través de perforaciones pequeñas en el estrato córneo.

35 Además se divulga un método de suministro de fármacos en el cuerpo a través de microporos en el estrato córneo en combinación con energía sónica, potenciadores de permeación, gradientes de presión, y similares.

De ese modo se divulga un método para controlar la concentración de un analito en el cuerpo de un individuo, que comprende las etapas de incrementar la permeabilidad del estrato córneo de un área seleccionada de la superficie del cuerpo del individuo al analito, mediante

40 (a) poración del estrato córneo del área seleccionada, formando un microporo en el estrato córneo, opcionalmente sin causar daño grave a los tejidos subyacentes, reduciendo así las propiedades de barrera del estrato córneo a la extracción del analito;

(b) recolectar una cantidad seleccionada del analito; y

(c) cuantificar el analito recolectado.

45 En un aspecto preferente, el método comprende además la aplicación de energía sónica al área seleccionada en la que se han formado los poros, a una frecuencia en el intervalo de aproximadamente 5 kHz a 100 MHz, en el que la energía sónica se modula mediante un elemento seleccionado del grupo formado por modulación de frecuencia, modulación de amplitud, modulación de fase y sus combinaciones. En otra realización preferida, el método además comprende poner en contacto el área seleccionada del cuerpo del individuo con un potenciador químico, con la aplicación de energía sónica, para incrementar más la extracción del analito.

50 La poración del estrato córneo se consigue por medios seleccionados del grupo que consiste en (a) destruir el estrato córneo poniendo en contacto un área seleccionada de, como máximo aproximadamente 1000 μm de ancho, del estrato córneo a, con una fuente de calor, de forma que la temperatura del agua ligada al tejido y otras sustancias vaporizables en el área seleccionada, se eleva por encima del punto de vaporización del agua y otras

sustancias vaporizables, eliminando por tanto el estrato córneo en el área seleccionada; (b) perforar el estrato córneo a con una microlanceta calibrada para formar un microporo de hasta aproximadamente 1000 µm de diámetro; (c) extirpar el estrato córneo enfocando un haz de energía sónica enfocado de forma precisa, sobre el estrato córneo; (d) perforar hidráulicamente el estrato córneo con un chorro a alta presión de un fluido, para formar un microporo de hasta aproximadamente 1000 µm de diámetro y (e) perforar el estrato córneo con pulsos cortos de electricidad, para formar un microporo de hasta aproximadamente 1000 µm de diámetro.

Una realización preferida de ablación térmica del estrato córneo comprende tratar al menos el área seleccionada con una cantidad efectiva de un colorante que exhibe una absorción intensa a través del intervalo de emisión de una fuente de luz pulsada, y dirigir la salida de una serie de pulsos procedentes de la fuente de luz pulsada sobre el colorante, de forma que el colorante se caliente suficientemente para transferir calor conductivamente al estrato córneo para elevar la temperatura del agua ligada al tejido y otras sustancias vaporizables en el área seleccionada por encima del punto de vaporización del agua y de otras sustancias vaporizables. Preferiblemente, la fuente de luz pulsada emite a una longitud de onda que no se absorbe significativamente por la piel. Por ejemplo, la fuente de luz pulsada puede ser un diodo láser emitiendo en el intervalo de aproximadamente 630 a 1550 nm, un oscilador paramétrico óptico bombeado por diodo láser que emite a una longitud de onda en el intervalo de aproximadamente 700 a 3000 nm, o un elemento seleccionado del grupo formado por lámparas de arco, lámparas incandescentes y diodos emisores de luz. También se puede proporcionar un sistema de detección, para determinar cuándo se han superado las propiedades de barrera del estrato córneo. Un sistema de detección preferido comprende medios de recolección de luz para recibir la luz reflejada del área seleccionada, y enfocar la luz reflejada sobre un fotodiodo, un fotodiodo para recibir la luz enfocada y enviar una señal a un controlador, en el que la señal indica la calidad de la luz reflejada, y un controlador acoplado al fotodiodo y a la fuente de luz pulsada para recibir la señal y para desconectar la fuente de luz pulsada cuando se recibe una señal preseleccionada.

En otro aspecto preferente, el método comprende además enfriar el área seleccionada del estrato córneo y tejidos adyacentes con medios de enfriamiento, de forma que dicha área seleccionada y tejidos adyacentes están en un estado o condición seleccionado preenfriado, estable, previo a la formación de poros.

En aún otro aspecto preferido adicional, el método comprende destruir el estrato córneo, de forma que el fluido intersticial exude desde los microporos, recoger el fluido intersticial, y analizar el analito en el fluido intersticial recogido. Una vez recogido el fluido intersticial, el microporo se puede sellar aplicando una cantidad efectiva de energía procedente del diodo láser o de otra fuente de luz, de forma que se produzca la coagulación del fluido intersticial que queda en el microporo. Preferiblemente, se aplica vacío al área seleccionada en la que se forman los poros, para mejorar la recolección de fluido intersticial.

En aún otra realización preferida, el método comprende, previamente a la formación de poros en el estrato córneo, iluminar al menos el área seleccionada con luz no enfocada de la fuente de luz pulsada, de forma que el área seleccionada iluminada con la luz sea esterilizada.

Otro método preferido de formación de poros en el estrato córneo, comprende poner en contacto el área seleccionada con un hilo metálico, de forma que la temperatura del área seleccionada se incrementa desde temperatura ambiente hasta más de 100°C, en aproximadamente 10 a 50 ms y, después, restituir la temperatura del área seleccionada hasta aproximadamente la temperatura ambiente de la piel, en aproximadamente 30 a 50 ms, en el que este ciclo de incremento de la temperatura y restitución hasta aproximadamente la temperatura ambiente de la piel, se repite un número de veces efectivo para reducir las propiedades de barrera del estrato córneo. Preferiblemente, la etapa de restituir hasta aproximadamente la temperatura ambiente de la piel se realiza extrayendo el hilo del contacto con el estrato córneo. Se prefiere también proporcionar medios para controlar la impedancia eléctrica entre el hilo y el cuerpo del individuo, a través del área seleccionada del estrato córneo y tejidos adyacentes, y medios para hacer avanzar la posición del hilo de forma que, a medida que se produce la ablación con una reducción concomitante de la resistencia, el medio de avance hace avanzar el hilo, de forma que el hilo esté en contacto con el estrato córneo durante el calentamiento del hilo. Además, se prefiere también proporcionar medios para extraer el hilo del contacto con el estrato córneo, en los que los medios de control son capaces de detectar un cambio en la impedancia asociado con la puesta en contacto con una capa epidérmica subyacente al estrato córneo, y enviar una señal a los medios de extracción, para extraer el hilo del contacto con el estrato córneo. El hilo se puede calentar mediante un elemento óhmico de calentamiento, puede tener un bucle de corriente con un punto de alta resistencia, en el que el punto de alta resistencia se modula haciendo pasar una corriente eléctrica modulada a través de dicho bucle de corriente para efectuar el calentamiento, o se puede situar en un campo magnético alternante modulable de una bobina de excitación, de forma que, la activación de la bobina de excitación con corriente alterna produce corrientes de inducción suficientes para calentar el hilo mediante pérdidas óhmicas internas.

Un método para mejorar la velocidad de flujo transdérmico de un permeante activo hacia un área seleccionada del cuerpo de un individuo, que comprende las etapas de incrementar la permeabilidad de la capa de estrato córneo del área seleccionada de la superficie del cuerpo del individuo al permeante activo mediante:

(a) formar poros en el estrato córneo del área seleccionada mediante medios que formen un microporo en el estrato córneo, sin producir daños graves a los tejidos subyacentes y reduciendo, de este modo, las propiedades de barrera del estrato córneo al flujo del permeante activo; y

5 (b) poner en contacto el área seleccionada en la que se han formado poros, con una composición que comprende una cantidad efectiva del permeante, de forma que se incremente el flujo de permeante hacia el cuerpo.

En una realización preferida, el método comprende además aplicar energía sónica al área seleccionada en la que se han formado poros, durante un tiempo y a una intensidad y frecuencia efectivas para crear un efecto de corriente de fluido y, de este modo, incrementar la velocidad de flujo transdérmico del permeante hacia el cuerpo.

10 Se proporciona un método para aplicar un tatuaje a un área seleccionada de piel sobre la superficie del cuerpo de un individuo, que comprender las etapas de:

(a) formar poros en el estrato córneo del área seleccionada mediante medios que forman un microporo en el estrato córneo, opcionalmente sin producir daños graves a los tejidos subyacentes y reduciendo, de este modo, las propiedades de barrera del estrato córneo al flujo de un permeante; y

15 (b) poner en contacto el área seleccionada en la que se han formado poros con una composición que comprende una cantidad efectiva de tinta para tatuar como permeante, de forma que se incremente el flujo de dicha tinta hacia al cuerpo.

Aún se proporciona un método para reducir el retraso temporal en la difusión de un analito desde la sangre de un individuo al fluido intersticial de dicho individuo, en un área seleccionada de piel, puede comprender aplicar medios de enfriamiento a dicha área seleccionada de piel.

20 Aún se proporciona un método para reducir la evaporación de fluido intersticial y su presión de vapor, en el que dicho fluido intersticial se está recogiendo de un microporo en un área seleccionada del estrato córneo de la piel de un individuo, puede comprender aplicar medios de enfriamiento a dicha área seleccionada de piel.

Breve descripción de diversas vistas de los dibujos

25 La Fig. 1 muestra una representación esquemática de un sistema para suministrar luz de diodo láser y controlar el progreso de poración.

La Fig. 2 muestra una representación esquemática de un sistema de retroalimentación de circuito cerrado para controlar la poración.

La Fig. 3A muestra una representación esquemática de un sistema óptico de formación de poros, que comprende un dispositivo de enfriamiento.

30 La Fig. 3B muestra una vista superior de una representación esquemática de un dispositivo de enfriamiento ilustrativo de acuerdo a la Fig. 3A.

La Fig. 4 muestra una representación esquemática de un dispositivo de calentamiento óhmico con un actuador mecánico.

35 La Fig. 5 muestra una representación esquemática de un dispositivo de calentamiento de bucle de corriente de elevada resistencia.

La Fig. 6 muestra una representación esquemática de un dispositivo para modular el calentamiento, usando calentamiento inductivo.

La Fig. 7 muestra una representación esquemática de un monitor de impedancia de bucle de cerrado, usando cambios en la impedancia para determinar la extensión de la poración.

40 Las Figs. 8A-D muestran secciones transversales de piel humana tratada con ftalocianina de cobre y luego sometidas, respectivamente, a 0, 1, 5 y 50 pulsos de luz de 810 nm, con una densidad de energía de 4000 J/cm² para un período de pulso de 20 ms.

Las Figs. 9-11 muestran representaciones gráficas de la distribución de temperatura durante los sucesos de poración térmica simulada, usando poración óptica.

45 Las Figs. 12 y 13 muestran representaciones gráficas de la temperatura en función del tiempo en el estrato córneo y la epidermis viable, respectivamente, durante sucesos de poración térmica simulada, usando poración óptica.

Las Figs. 14-16 muestran representaciones gráficas de distribución de temperatura, temperatura en función del tiempo en el estrato córneo, y temperatura en función del tiempo en la epidermis viable, respectivamente, durante sucesos de poración térmica simulada, usando poración óptica, en la que el tejido se enfriaba antes de la poración.

Las Figs. 17-19 muestran representaciones gráficas de distribución de temperatura, temperatura en función del tiempo en el estrato córneo, y temperatura en función del tiempo en la epidermis viable, respectivamente, durante sucesos de poración térmica simulada, en los que el tejido se calentaba con un hilo caliente.

5 Las Figs. 20-22 muestran representaciones gráficas de distribución de temperatura, temperatura en función del tiempo en el estrato córneo, y temperatura en función del tiempo en la epidermis viable, respectivamente, durante sucesos de poración térmica simulada, en los que el tejido se calentaba con un hilo caliente y el tejido se enfriaba antes de la poración.

10 Las Figs. 23 y 24 muestran representaciones gráficas de distribución de temperatura y temperatura en función del tiempo en el estrato córneo, respectivamente, durante sucesos de poración térmica simulada, en los que el tejido se calienta ópticamente según los parámetros de funcionamiento de la 803 de Tankovich.

La Fig. 25 muestra una representación gráfica de las concentraciones de glucosa sanguínea (*) y del fluido intersticial (ISF), en función del tiempo.

La Fig. 26 muestra un diagrama de dispersión de la diferencia de duración entre los datos de glucosa ISF y glucosa sanguínea de la Fig. 25.

15 La Fig. 27 muestra un histograma de la desviación relativa de las concentraciones de glucosa ISF respecto a las sanguíneas, procedentes de la Fig. 25.

La Fig. 28 muestra una sección transversal de un aparato de suministro ilustrativo para suministrar un fármaco a un área seleccionada en la piel de un individuo.

20 Las Figs. 29A-C muestran representaciones gráficas de áreas de piel afectadas por el suministro de lidocaína a áreas seleccionadas en la que se han formado poros en el estrato córneo (Figs. 29A-B), o no se han formado poros (Fig. 29C).

La Fig. 30 muestra un diagrama que compara la cantidad de fluido intersticial recogido de los microporos sólo con succión (o), y con una combinación de succión y ultrasonidos (*).

25 Las Figs. 31, 32 y 33 muestran una vista en perspectiva de un aparato transductor de ultrasonidos/vacío para recoger el fluido intersticial, una vista de una sección transversal del mismo aparato y una vista esquemática de una sección transversal del mismo aparato, respectivamente.

Las Figs. 34A-B muestran una vista superior de un transductor ultrasónico portátil y una vista lateral de su extremo espatulado, respectivamente.

Descripción detallada

30 Antes de describir y divulgar los presentes métodos para permeabilizar el estrato córneo para facilitar la administración transdérmica de fármacos y el muestreo de analitos, hay que entender que esta invención no está limitada a las configuraciones particulares, etapas de procedimiento y materiales descritos aquí, ya que tales configuraciones, etapas de procedimiento y materiales pueden variar un poco. También hay que entender que la terminología empleada aquí se usa sólo para el propósito de describir realizaciones particulares, y no está destinada a ser limitativa, ya que el alcance de la presente invención estará limitado sólo por las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

40 Hay que destacar que, tal como se utiliza en esta especificación y reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el", "la", incluyen los referentes en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a un método para el suministro de "un fármaco" incluye la referencia al suministro de una mezcla de dos o más fármacos, la referencia a "un analito" incluye la referencia a uno o más de tales analitos, y la referencia a un "potenciador de permeación" incluye la referencia a una mezcla de dos o más potenciadores de permeación.

Al describir y reivindicar la presente invención, la siguiente terminología se usará según las definiciones establecidas más abajo.

45 Según se usa aquí, "poración", "microporación", o cualquier término similar, significa la formación de un pequeño orificio o poro en el estrato córneo en un área seleccionada de la piel de un individuo, para reducir las propiedades de barrera de la piel al paso de analitos desde debajo de la superficie de la piel, para el análisis del paso de permeantes o fármacos hacia el cuerpo para propósitos terapéuticos. Preferiblemente, el orificio o poro no será superior a aproximadamente 1 mm de diámetro y, más preferiblemente, no superior a aproximadamente 100 µm de diámetro, y se extenderá en el estrato córneo suficientemente para romper las propiedades de barrera de su capa si afecta en forma adversa los tejidos subyacentes.

Según se usa aquí "ablación" significa la eliminación controlada de células producida por energía cinética liberada

cuando los componentes vaporizables de las células se han calentado hasta el punto en el que se produce la vaporización y la rápida expansión de volumen resultante, debida a este cambio de fase hace que las células y posiblemente alguna célula adyacente, sea “eliminada” de la zona de destrucción.

5 Según se usa aquí, “perforación” o “microperforación” significa el uso de medios mecánicos, hidráulicos, eléctricos para perforar el estrato córneo.

En la medida en que la “ablación” y la “perforación” logran el mismo propósito que formación de poros, es decir, la creación de un orificio o poro en el estrato córneo, e sin ningún daño significativo a los tejidos subyacentes, estos términos se pueden usar de manera intercambiable.

10 Según se usa aquí “mejora de la penetración” o “mejora de la permeación” significa un incremento en la permeabilidad de la piel al fármaco, analito, colorante, tinte, u otra molécula química (también denominada “permeante”), es decir, de forma que se incremente la velocidad a la que un fármaco, analito, o molécula química permea en el estrato córneo y facilita la poración del estrato córneo, la extracción de analitos hacia el exterior, a través del estrato córneo, o el suministro de fármacos a través del estrato córneo y a los tejidos subyacentes. La permeación mejorada realizada a través del uso de tales potenciadores se puede observar, por ejemplo, observando 15 la difusión de un colorante, como un permeante, a través de la piel humana o animal, usando un aparato de difusión.

Según se usa aquí, “potenciador químico”, “potenciador de penetración”, “potenciador de permeación”, y análogos, incluye todos los potenciadores que incrementan el flujo de un permeante, analito u otra molécula a través de la piel, y está limitado sólo por funcionalidad. En otras palabras, todos los compuestos que alteran la envoltura celular y los disolventes y cualquier otro agente potenciador químico, están destinados a estar incluidos.

20 Según se usan aquí, “colorante”, “tinte”, y análogos, se deben usar de forma intercambiable y se refieren a un cromóforo biológicamente adecuado que presenta una absorción fuerte en el intervalo de emisión de una fuente de luz pulsada usada para extirpar los tejidos, para formar poros en su interior.

25 Según se usa aquí, “transdérmico” o “percutáneo” o significa el paso de un permeante hacia o a través de la piel para lograr concentraciones sanguíneas o concentraciones tisulares profundas terapéuticas efectivas de un fármaco, o el paso de una molécula presente en el cuerpo (“analito”) hacia el exterior de la piel, de forma que la molécula de analito se puede recoger en el exterior del cuerpo.

30 Según se usa aquí, el término “permeante”, “fármaco” o “sustancia farmacológicamente activa” u otro término análogo, significa cualquier material o compuesto químico o biológico, adecuado para el suministro transdérmico mediante los métodos previamente conocidos en la técnica y/o mediante los métodos enseñados en la presente invención, que induce un efecto biológico o farmacológico deseado, el cual puede incluir, pero no está limitado a (1) producir un efecto profiláctico sobre el organismo y evitar un efecto biológico no deseado, como evitar una infección, (2) aliviar un estado producido por una enfermedad, por ejemplo, aliviar el dolor o inflamación producido como resultado de una enfermedad, y/o (3) aliviar, reducir, o eliminar completamente la enfermedad del organismo. El efecto puede ser local, como proporcionar un efecto anestésico local, o puede ser sistémico. Esta invención no se dirige a nuevos permeantes o a nuevas clases de agentes activos. Más bien se dirige al modo de suministro de 35 agentes o permeantes que existen en la técnica, o que se pueden establecer más tarde como agentes activos y que son adecuadas para el suministro mediante la presente invención. Tales sustancias incluyen clases amplias de compuestos suministrados normalmente al interior del organismo, incluyendo a través de superficies y membranas corporales, incluyendo piel. En general, esto incluye pero no está limitado a: antiinfecciosos tales como antibióticos y agentes antivirales; analgésicos y combinaciones de analgésicos; anoréxicos; antihelmínticos; antiartríticos; agentes antiasmáticos; anticonvulsivos; antidepresivos; agentes antidiabéticos; antidiarreicos; antihistamínicos; agentes antiinflamatorios; preparaciones antimigraña; antinauseas; antineoplásicos; medicamentos antiparkinsonianos; antipruríticos; antipsicóticos; antipiréticos; antiespasmódicos, anticolinérgicos; simpaticomiméticos; derivados de la xantina; preparaciones cardiovasculares incluyendo bloqueantes de los canales de calcio y potasio, bloqueadores beta, bloqueadores alfa, y antiaritmicos; antihipertensivos: diuréticos y antiuréticos; vasodilatadores, incluyendo coronarios generales, periféricos y cerebrales: estimulantes del sistema nervioso central; vasoconstrictores; preparaciones para la tos y el resfrío, incluso descongestivos; hormonas tales como estradiol y otros esteroides, incluyendo corticosteroides; hipnóticos; inmunosupresores; relajantes musculares; parasimpatolíticos; psicoestimulantes; sedantes; y tranquilizantes. Por el método de la presente invención, ambos fármacos ionizados y 40 no ionizados pueden ser suministrados, al igual que los medicamentos de cualquier peso molecular alto o bajo.

45 Según se usa aquí, una cantidad “efectiva” de un agente farmacológicamente activo significa una cantidad suficiente de un compuesto para proporcionar el efecto local o sistémico deseado y funcionar en una relación beneficio/riesgo razonable, al ejecutar cualquier tratamiento. Una cantidad “efectiva” de un potenciador de permeación o químico, según se usa aquí, significa una cantidad seleccionada de forma que se proporcione un incremento deseado en la permeabilidad de la piel y la profundidad de penetración deseada, velocidad de administración y cantidad de fármaco 50 suministrado.

Según se usan aquí, “portadores” o “vehículos” se refieren a materiales portadores sin actividad farmacológica significativa en las cantidades usadas normalmente, que son adecuados para administración con otros materiales

5 farmaceuticamente activos, e incluyen cualquier material conocido en la técnica, por ejemplo, cualquier líquido, gel, disolvente, diluyente líquido, solubilizador, o análogos, que sea suficientemente atóxico en las cantidades empleadas y no interaccione con el fármaco a administrar de forma deletérea. Los ejemplos de vehículos adecuados para el uso en la presente memoria incluyen agua, aceite mineral, silicona, geles inorgánicos, emulsiones acuosas, azúcares líquidos, ceras, vaselina, y una diversidad de otros aceites y materiales polímeros.

Según se usa aquí, una “membrana biológica” significa un material de membrana presente en un organismo vivo, que separa un área del organismo de otra y, en muchos casos, separa el organismo de su medio exterior. La piel y las membranas mucosa están, por tanto, incluidas.

Según se usa aquí, “individuo” se refiere a un ser humano y un animal, a los que se pueda aplicar la invención.

10 Según se usa aquí, “analito” significa cualquier material o compuesto químico o biológico adecuado para pasar a través de una membrana biológica mediante la tecnología enseñada en la presente invención, o mediante la tecnología previamente conocida en la técnica, o del que un individuo puede querer saber la concentración o actividad dentro del cuerpo. La glucosa es un ejemplo específico de un analito, porque es un azúcar adecuado para el paso a través de la piel, y los individuos, por ejemplo aquellos que tienen diabetes, pueden querer conocer sus concentraciones de glucosa sanguínea. Otros ejemplos de analitos incluyen, pero no están limitados a, compuestos tales como sodio, potasio, bilirrubina, urea, amoníaco, calcio, plomo, hierro, litio, salicilatos, análogos.

Según se usa aquí, “velocidad de flujo transdérmico” es la velocidad de paso de cualquier analito hacia el exterior a través de la piel de un individuo, ser humano o animal o la velocidad de paso de cualquier fármaco, agente farmacológicamente activo, colorante, o pigmento, en y a través de la piel e un individuo, ser humano o animal.

20 Según se usan aquí, los términos “amplitud de intensidad”, “intensidad” y “amplitud”, se usan como sinónimos y se refieren a la cantidad de energía que se está produciendo mediante un sistema de energía sónica.

25 Según se usa aquí, “modulación de frecuencia” o “barrido” significa una variación continua, gradual o escalonada en la amplitud o frecuencia de ultrasonido en un período determinado de tiempo. Una modulación de frecuencia es una variación gradual o escalonada en frecuencia, en un período de tiempo determinado, por ejemplo 5,4-5,76 MHz en 1 s, o 5-10 MHz en 0,1 s, o 10-5 MHz en 0,1 s, o cualquier otro intervalo de frecuencias o período de tiempo que sea apropiado para una aplicación específica. Una modulación compleja puede incluir la variación, tanto de la frecuencia como de la intensidad, simultáneamente. Por ejemplo, las Figs. 4A y 4B de la patente de EE.UU. N° 5.458.140 podrían, respectivamente, representar las modulaciones de amplitud y frecuencia que se están aplicando simultáneamente a un transductor de energía sónica individual.

30 Según se usa aquí, “modulación de fase” significa que el tiempo de la señal e ha cambiado en relación con su estado inicial que se muestra en la Fig. 4C de la patente de EE.UU. N° 5.458.140. La frecuencia y amplitud de la señal pueden permanecer idénticas. Una modulación de fase se puede ejecutar con un retraso variable, de forma que la señal se retrase o avance selectivamente en referencia a su estado previo, o a otra señal.

35 La energía sónica, en sus diversas aplicaciones, tal como con modulación de frecuencia, intensidad o fase, o sus combinaciones, y el uso de potenciadores químicos combinados con energía sónica modulada, según se describe aquí, pueden variar a través de un intervalo de frecuencias de entre aproximadamente 5 kHz hasta 100 MHz, siendo preferente un intervalo de entre aproximadamente prefiriéndose un intervalo de entre aproximadamente 20 kHz y 30 MHz.

40 Según se usa aquí, medios “no invasivos” significa que no requieren la entrada de una aguja, catéter u otro instrumento invasivo en una parte del cuerpo.

Según se usa aquí, “mínimamente invasivo” se refiere al la utilización de medios mecánicos, hidráulicos o eléctricos que invaden el estrato córneo para crear un pequeño orificio o microporo sin causar daños considerables a los tejidos subyacentes.

Medios para formación de poros en el estrato córneo

45 La formación de un microporo en el estrato córneo se puede lograr mediante diversos medios del estado de la técnica, así como ciertos medios descritos aquí, que son mejoras de los mismos.

50 El uso de ablación por láser, según se describió por Jacques et al en la patente de EE.UU. 4.775.361, y por Lane et al., más arriba, proporcionan ciertamente un medio para la ablación del estrato córneo usando un láser excímer. A 193 nm de longitud de onda y 14 ns de amplitud de pulso, se descubrió que, aproximadamente de 0,24 a 2,8 µm de estrato córneo se podían eliminar mediante cada pulso láser a una exposición radiante de entre aproximadamente 70 y 480 mJ/cm². A medida que se incrementa la energía del pulso, se elimina más tejido del estrato córneo y se requieren menos pulsos para la poración completa de esta capa. El umbral menor de exposición radiante que se tiene que absorber por el estrato córneo dentro del límite del tiempo de relajación térmica, para producir microexplosiones adecuadas que produzcan la ablación del tejido, es aproximadamente 70 mJ/cm² en un tiempo de 55 50 milisegundos (ms). En otras palabras, se tiene que suministrar un total de 70 mJ/cm² en una intervalo de tiempo

de 50 ms. Esto se puede realizar mediante un pulso único de 70 mJ/cm², o en 10 pulsos de 7 mJ/cm², o con una iluminación continua de 1,4 vatios/cm², durante el tiempo de 50 ms. El límite superior de exposición radiante es el que extirpará el estrato córneo sin dañar el tejido subyacente, y se puede determinar empíricamente a partir de la fuente de luz, longitud de onda de la luz, y otras variables comprendidas en la experiencia y conocimiento de un experto en esta técnica.

Mediante "suministro", se indica que la cantidad de energía fijada es absorbida por el tejido a extirpar. A la longitud de onda del láser excímer de 193 nm, se produce esencialmente una absorción del 100% en el interior de los primeros 1 o 2 μm del tejido del estrato córneo. Asumiendo que el estrato córneo tenga aproximadamente 20 μm de grosor, a longitudes de onda mayores, tal como a 670 nm, sólo aproximadamente 5% de la luz incidente se absorbe en la capa de 20 μm. Esto significa que aproximadamente 95% del haz de potencia elevada pasa al interior de los tejidos subyacentes al estrato córneo, en los que probablemente producirá un daño significativo.

El ideal es usar sólo tanta potencia como sea necesaria para perforar el estrato córneo sin producir sangrado, daño térmico u otro daño a los tejidos subyacentes desde los que se extraen los analitos o se suministran los fármacos u otros permeantes.

Sería beneficioso usar fuentes de energía más económicas que la energía procedente de láseres excímer. Los láseres excímer, que emiten luz a longitudes de onda en la región UV lejana, son mucho más caros en cuanto a funcionamiento y mantenimiento que, por ejemplo, los láseres de diodo que emiten luz a longitudes de onda en las regiones visible e IR (600 a 1800 nm). Sin embargo, a longitudes de onda mayores, el estrato córneo se hace progresivamente más transparente y la absorción se produce principalmente en los tejidos subyacentes.

La presente invención facilita un método rápido y mínimamente traumático para eliminar la función de barrera del estrato córneo, para facilitar el transporte transcutáneo de sustancias terapéuticas hacia el interior del cuerpo cuando se aplican tópicamente, o para acceder a los analitos en el interior del cuerpo para el análisis. El método utiliza un procedimiento que comienza con la aplicación por contacto de una fuente de calor de pequeña área, al área elegida como objetivo del estrato córneo.

La fuente de calor tiene que tener varias propiedades importantes, como se describirá a continuación. Primero, la fuente de calor tiene que estar dimensionada de forma que el contacto con la piel se restrinja a una pequeña área, típicamente aproximadamente de 1 a 1000 μm de diámetro. Segundo, tiene que tener la capacidad de modular la temperatura del estrato córneo en el punto de contacto, desde temperatura ambiente de la superficie de la piel (33°C) hasta mayor que 123°C y luego volver hasta aproximadamente la temperatura ambiente de la piel, con tiempos de ciclo para minimizar el daño colateral a los tejidos viables y la sensación para el sujeto individual. Esta modulación se puede crear electrónica, mecánica o químicamente.

Adicionalmente, se puede facilitar un dispositivo limitativo de la profundidad inherente del proceso de microporación, si la fuente de calor tiene, tanto una masa térmica suficientemente pequeña, como una fuente de energía limitada para elevar su temperatura, de forma que cuando se coloca en contacto con tejidos con más de 30% de contenido de agua, la dispersión térmica en estos tejidos sea suficiente para limitar la temperatura máxima de la fuente de calor hasta menos de 100°C. Este dispositivo, detiene efectivamente el proceso de vaporización térmica, una vez que la sonda térmica ha penetrado a través del estrato córneo a las capas inferiores de la epidermis.

Con la fuente de calor colocada en contacto con la piel, se establece un ciclo a través de una serie de una o más modulaciones de temperatura, desde un punto inicial a temperatura ambiente de la piel, hasta una temperatura máxima en exceso de 123°C, a aproximadamente la temperatura ambiente de la piel. Para minimizar o eliminar la percepción sensorial del proceso de microporación por el sujeto, estos pulsos se limitan en duración, y el distanciamiento entre pulsos es suficientemente largo para permitir el enfriamiento de las capas de tejido viables en la piel y, más particularmente, los tejidos dérmicos inervados, para conseguir una temperatura promedio de menos de aproximadamente 45°C. Estos parámetros están basados en las constantes temporales térmicas de los tejidos epidérmicos viables (aproximadamente 30-80 ms), localizados entre la sonda térmica y el tejido inervado en la dermis subyacente. El resultado de esta aplicación de energía térmica pulsada es que se conduce suficiente energía al estrato córneo, dentro del pequeño punto elegido como objetivo, de forma que la temperatura de este volumen de tejido se eleva suficientemente por encima del punto de vaporización del contenido de agua ligada al tejido en el estrato córneo. A medida que la temperatura se incrementa por encima de 100°C, el contenido de agua del estrato córneo (típicamente de 5% a 15%) en este punto localizado, se induce a vaporizarse y expandirse muy rápidamente, produciendo una eliminación dirigida por el vapor de aquellos corneocitos en el estrato córneo localizados en las proximidades de este suceso de vaporización. La patente de EE.UU. N° 4.775.361 enseña que una temperatura del estrato córneo de 123°C representa un umbral en el cual se produce este tipo de vaporización instantánea. A medida que se aplican pulsos posteriores de energía térmica, se eliminan capas adicionales del estrato córneo hasta que se forma un microporo a través del estrato córneo, hacia la siguiente capa inferior de la epidermis, el estrato lúcido. Limitando la duración del pulso térmico hasta menos de una constante temporal térmica de la epidermis y permitiendo que cualquier energía térmica conducida a la epidermis se disipe durante un tiempo suficientemente largo, la elevación de temperatura de las capas viables de la epidermis es mínima. Esto permite que se produzca el proceso de microporación completo sin ninguna sensación para el sujeto y sin daño para los tejidos subyacentes y circundantes.

La presente invención comprende un sistema de creación de orificios microscópicos, es decir microporos, de aproximadamente 1 a 100 μm de ancho, indoloro en el estrato córneo de la piel humana. La clave para implementar con éxito este sistema es la creación de una fuente de energía térmica apropiada, o sonda térmica, que se mantiene en contacto con el estrato córneo. El principal desafío técnico para fabricar una sonda térmica apropiada es diseñar un dispositivo que produzca el contacto deseado con la piel y que se pueda modular térmicamente en una frecuencia suficientemente alta.

Es posible fabricar una sonda térmica apropiada aplicando por vía tópica al estrato córneo un compuesto absorbedor de luz adecuado, como un colorante o tinte, seleccionado debido a su capacidad para absorber luz a la longitud de onda emitida por una fuente de luz seleccionada. En este caso, la fuente de luz seleccionada puede ser un diodo láser que emite a una longitud de onda que no sería absorbida normalmente por los tejidos de la piel. Enfocando la fuente de luz hacia una pequeña zona de la superficie de la capa tópica del colorante, la temperatura del área elegida como objetivo se puede modular variando la intensidad del flujo de luz enfocado sobre ella. Es posible utilizar la energía de fuentes láser que emiten a una longitud de onda más larga que un láser excímer, aplicando primero tópicamente al estrato córneo un compuesto absorbedor de luz adecuado, como un colorante, tinte, seleccionado debido a su capacidad para absorber luz a la longitud de onda emitida por la fuente láser. Se puede aplicar el mismo concepto a cualquier longitud de onda y sólo se tiene que elegir un colorante o tinte y una longitud de onda óptica apropiados. Sólo se tiene que consultar cualquier manual de referencia para descubrir cuáles son los colorantes apropiados y la longitud de onda de la absorbancia máxima de ese colorante. Una de tales referencias es Green, The sigma-Aldrich handbook of stains, dyes and indicators, Aldrich Chemical Company, Inc. Milwaukee, Wisconsin (1991). Por ejemplo, la ftalocianina de cobre (Pigment Blue 15; CPC) absorbe a aproximadamente 800 nm; el ácido tetrasulfónico de ftalocianina de cobre (Acid Blue 249) absorbe a aproximadamente 610 nm; el verde de indocianina absorbe a aproximadamente 775 nm; y la criptocianina absorbe a aproximadamente 703 nm. El CPC es particularmente adecuado para esta realización por las siguientes razones: es un compuesto muy estable e inerte, ya aprobado por la FDA para uso como colorante en suturas implantables; absorbe muy intensamente a longitudes de onda de 750 nm a 950 nm, que coinciden con numerosos emisores en estado sólido de bajo coste, como diodos láser y LEDs y, además, este área de banda de longitud de onda óptica, de forma similar, no es absorbida directamente por los tejidos de la piel en ninguna cantidad significativa; el CPC tiene un punto de vaporización elevado (>550°C al vacío) y cambia directamente desde fase sólida hasta fase de vapor, sin ninguna fase líquida; el CPC tiene una constante de difusividad térmica relativamente baja, permitiendo que la energía lumínica enfocada sobre él, caliente selectivamente sólo el área directamente en el punto focal, con una dispersión lateral muy pequeña del foco caliente hacia el CPC circundante, ayudando así a la definición espacial de la sonda térmica de contacto.

El propósito de esta descripción no es hacer un listado exhaustivo de colorantes o tintes porque esto podría determinarse fácilmente por un experto en la técnica a partir de los datos actualmente disponibles.

Lo mismo se aplica para cualquier fuente de luz pulsada particular deseada. Por ejemplo, este método se puede realizar con una lámpara incandescente enfocada, accionada mecánicamente, como fuente de luz pulsada. Diversa literatura de catálogos y ventas muestra numerosos láseres que funcionan en el intervalo de UV cercano, visible e IR cercano. Láseres representativos son el modelo PLP-02 de Hammamatsu Photonic Systems, que actúa a una potencia de salida de 2×10^{-8} J, a una longitud de onda de 415 nm; el modelo PLP-05 de Hammamatsu Photonic Systems que funciona a una potencia de salida de 15 J, a una longitud de onda de 685 nm; la serie de láser pulsado SDL-3250 de SDL, Inc., que actúa a una potencia de salida de 2×10^6 J, a una longitud de onda de aproximadamente 800-810 nm; el modelo SDL-8630 de, SDL, Inc. que funciona a una potencia de salida de 500 mW, a una longitud de onda de aproximadamente 670 nm; el modelo AR-081-15000 de Uniphase Laser, que funciona a una potencia de salida de 15000 mW, a una longitud de onda de 790-830 nm; el modelo TOLD9150 de Toshiba America Electronic que funciona a una potencia de salida de 30 mW, a una longitud de onda de 690 nm; y el modelo Diolite 800-50 de, LICONIX, que funciona a una potencia de 50 mW, a una longitud de onda de 780 nm.

Para los fines de la presente divulgación, una fuente de luz láser pulsada puede emitir radiación a través de un amplio intervalo de longitudes de onda, variando entre aproximadamente 100 nm y 12.000 nm. Los láseres excímer emitirán típicamente a través de un intervalo de entre aproximadamente 100 y 400 nm. Los láseres excímer comerciales están disponibles actualmente con longitudes de onda en el intervalo de aproximadamente 193 nm y 350 nm. Preferiblemente, un diodo láser tendrá un intervalo de emisión de entre aproximadamente 380 y 1550 nm. Un diodo láser de frecuencia duplicada tendrá un intervalo de emisión entre aproximadamente 190 y 775 nm. Se pueden utilizar longitudes de onda mayores de entre aproximadamente 1300 y 3000 nm, usando un oscilador paramétrico óptico bombeado por diodo láser. Se espera, dada la gran cantidad de investigación que se está produciendo en tecnología láser, que estos intervalos se expandan con el tiempo.

La energía suministrada o absorbida no se tiene que obtener de un láser, ya que se puede usar cualquier fuente de luz, bien sea de un láser, una lámpara de arco corto como una lámpara de destellos de xenón, una lámpara incandescente, un diodo emisor de luz (LED), el sol, o cualquier otra fuente. Por tanto, el instrumento particular usado para suministrar radiación electromagnética es menos importante que la longitud de onda y energía asociada con el mismo. Se puede considerar dentro del alcance de la invención cualquier instrumento capaz de suministrar la energía necesaria a las longitudes de onda adecuadas, es decir, en el intervalo de aproximadamente 100 nm hasta aproximadamente 12.000 nm. La característica esencial es que la energía tiene que ser absorbida por el compuesto

absorbedor de luz, para producir su calentamiento localizado, seguido de conducción de suficiente calor al tejido que debe ser sometido a ablación, dentro de la dimensión temporal permitida.

En una realización ilustrativa, la propia sonda de calentamiento está formada frente a una capa fina, preferiblemente de aproximadamente 5 a 1000 μm de grosor, de un compuesto sólido no biológicamente activa, colocado en contacto con un área seleccionada de la piel de un individuo, que es suficientemente grande para cubrir la zona en la que se va a crear un microporo. La formulación específica del compuesto químico se elige de forma que presente una absorción elevada a lo largo del intervalo espectral de una fuente de luz seleccionada para proporcionar energía al compuesto absorbedor de luz. La sonda puede ser, por ejemplo, una lámina de un compuesto sólido, una película tratada con un compuesto absorbedor de punto de fusión alto, o una aplicación directa del compuesto absorbedor de luz a la piel, como precipitado o como suspensión en un vehículo. Independientemente de la configuración de la sonda térmica absorbidora de luz, tiene que presentar un coeficiente de difusión térmico lateral suficientemente bajo, de forma que cualquier elevación local de temperatura permanezca suficientemente definida espacialmente, y el modo dominante de pérdida de calor será preferiblemente mediante conducción directa en el estrato córneo, a través del punto de contacto entre la piel y la sonda.

La modulación de temperatura requerida de la sonda se puede lograr enfocando una fuente de luz sobre el compuesto absorbedor de luz y modulando la intensidad de esta fuente de luz. Si la energía absorbida en el área iluminada es suficientemente elevada, hará que el compuesto absorbedor de luz se caliente rápidamente. La cantidad de energía suministrada y, posteriormente, tanto la velocidad de calentamiento como la temperatura máxima del compuesto absorbedor de luz en el punto focal, se pueden modular fácilmente variando la amplitud del pulso y la potencia máxima de la fuente de luz. En esta realización, sólo es el pequeño volumen del compuesto absorbedor de luz calentado por la energía óptica incidente enfocada, el que forma la sonda térmica. El compuesto absorbedor de luz adicional que se podría haber aplicado sobre un área mayor que la zona real de poración, es accesorio. Usando un compuesto absorbedor de luz en fase sólida con un punto de fusión relativamente elevado, como la ftalocianina de cobre (CPC), que permanece en su fase sólida hasta una temperatura superior a 550°C, la sonda térmica se puede llevar rápidamente hasta una temperatura de varios cientos de °C, y permanecer aún en contacto con la piel, permitiendo que esta energía térmica se conduzca al estrato córneo. Además, esta realización comprende elegir una fuente de luz con un espectro de emisión en el que muy poca energía se absorbería normalmente en los tejidos de la piel.

Una vez que el área elegida como objetivo tiene el compuesto absorbedor de luz colocado en contacto con ella, la sonda térmica se forma cuando la fuente de luz se activa con la curvatura focal del haz colocado para coincidir con la superficie del área tratada. La densidad de energía de luz en la curvatura focal y la cantidad de absorción que se produce en el compuesto absorbedor de luz, se determinan para que sean suficientes para llevar la temperatura del compuesto absorbedor de luz, dentro del área de la pequeña zona definida por el foco de la fuente de luz, hasta más de 123°C, en unos pocos milisegundos. A medida que aumenta la temperatura de la sonda térmica, la conducción en el estrato córneo suministra energía a estos tejidos, elevando la temperatura local del estrato córneo. Cuando se ha suministrado suficiente energía a esta pequeña área del estrato córneo para hacer que la temperatura local se eleve por encima del punto de ebullición del agua y otros contenida en estos tejidos, se produce una vaporización instantánea de este agua, cortando el estrato córneo en esta localización.

Encendiendo y apagando la fuente de luz, se puede modular rápidamente la temperatura de la sonda térmica y se puede lograr la ablación selectiva de estos tejidos, permitiendo crear un orificio dimensionado muy precisamente, que puede penetrar selectivamente sólo a través de los primeros 10 a 30 μm de la piel.

Una característica adicional de esta realización es que, eligiendo una fuente de luz de la que normalmente muy poca energía sería absorbida por la piel o los tejidos subyacentes, y diseñando la óptica de enfoque y suministro para que tenga una apertura numérica suficientemente elevada, la pequeña cantidad de luz suministrada que no se absorbe por la propia sonda térmica, diverge rápidamente a medida que penetra profundamente en el cuerpo. Debido a que hay muy poca absorción en las longitudes de onda suministradas, no se suministra esencialmente ninguna energía a la piel directamente desde la fuente de luz. Esta dilución tridimensional de energía acoplada en los tejidos, debida a la divergencia del haz y al bajo nivel de absorción en el tejido sin tratar, produce una interacción completamente benigna entre el haz de luz y los tejidos, sin que se produzca daño por ello.

En una disposición preferente, se puede usar un diodo láser como fuente de luz con una longitud de onda de emisión de 800 ± 30 nm. Se puede formar una sonda térmica mediante aplicación tópica de una cinta adhesiva transparente que se ha tratado sobre la cara adhesiva con una zona de 0,5 cm formada de un depósito de ftalocianina de cobre (CPC) molida finamente. La CPC muestra coeficientes de absorción extremadamente elevados en el intervalo espectral de 800 nm, absorbiendo típicamente más de 95% de la energía radiante de un diodo láser.

La Fig. 1 muestra un sistema 10 para suministrar luz desde tal diodo láser hasta un área seleccionada de la piel de un individuo y para controlar el progreso del proceso de poración. El sistema comprende un diodo láser 14, acoplado a un controlador 18, que controla la intensidad, duración y separación de los pulsos de luz. El diodo láser emite un haz 22 que se dirige hacia una lente o lentes de captación 26, que enfocan el haz sobre un espejo 30. El haz se refleja después mediante el espejo hasta una lente o lentes del objetivo 34, que enfoca el haz en un punto preseleccionado 38. Este punto preseleccionado corresponde con el plano de una plataforma xyz 42 y su orificio de

objetivo 46, de forma que se puede irradiar un área seleccionada de la piel de un individuo. La plataforma xyz está conectada con el controlador, de forma que se puede controlar la posición de la plataforma xyz. El sistema comprende también un sistema de control que comprende una cámara CCD 50, acoplada a un monitor 54. La cámara CCD está alineada confocalmente con la lente del objetivo, de forma que se puede controlar el progreso del proceso de poración visualmente sobre el monitor.

En otra disposición ilustrativa, se describe un sistema de fotodiodos sensores y sistemas ópticos de captación que se han alineado confocalmente con la fuente de luz de ablación. La Fig. 2 muestra un sistema sensor 60 para uso en esta realización. El sistema comprende una fuente de luz 64 para emitir un haz de luz 68, que se dirige a través de un sistema óptico de emisión 72 que enfoca el haz en un punto preseleccionado 76, como la superficie de la piel de un individuo 80. Una parte de la luz que se pone en contacto con la piel se refleja, y otra luz se emite desde el área irradiada. Una parte de esta luz reflejada y emitida pasa a través de un filtro 84 y luego a través de un sistema de captación óptica 88, que enfoca la luz sobre un fotodiodo 92. Un controlador 96 se acopla tanto al diodo láser como al fotodiodo para controlar, respectivamente, la salida del diodo láser, y detectar la luz que alcanza el fotodiodo. Sólo partes seleccionadas del espectro emitido desde la piel pasan a través del filtro. Analizando los cambios en la luz reflejada y emitida desde el área elegida como objetivo, el sistema tiene la capacidad de detectar cuando se ha roto el estrato córneo, y esta retroalimentación se usa luego para controlar la fuente de luz, desactivando los pulsos de luz cuando se logra la microporación del estrato córneo. Empleando este tipo de sistema de retroalimentación de bucle cerrado activo, se obtiene un dispositivo aplicable universalmente, autorregulable, que produce microporos dimensionados uniformemente en el estrato córneo, con requerimientos de energía mínimos, independientemente de las variaciones entre un individuo y el siguiente.

En otra disposición, se puede incorporar un dispositivo de enfriamiento en la interfaz del sistema con la piel. La Fig. 3A muestra una representación esquemática ilustrativa del mismo. En este sistema 100, una fuente de luz 104 (acoplada a un controlador 106) emite un haz de luz 108, que pasa a través de un sistema óptico de emisión 112 y es enfocado por el mismo. El haz es enfocado por el sistema óptico de emisión hacia un punto preseleccionado 116, como un área seleccionada de la piel de un individuo 120. Un dispositivo de enfriamiento 124, como un dispositivo de Peltier u otro medio de enfriamiento, se pone en contacto con la piel para enfriar su superficie. En una realización preferida del dispositivo de enfriamiento 124 (Fig. 3B), hay un orificio central 128, a través del cual pasa el haz de luz enfocada para ponerse en contacto con la piel. Haciendo referencia de nuevo a la Fig. 3A, se coloca también preferiblemente un disipador de calor 132 en contacto con el dispositivo de enfriamiento. Proporcionando un dispositivo de enfriamiento con un pequeño orificio en su centro, coincidente con el foco de la luz, los tejidos de la piel en el área general donde se van a formar los poros se pueden enfriar hasta entre 5°C y 10°C. Este preenfriamiento permite un margen de seguridad superior para que funcione el sistema, en cuanto a que las sensaciones potenciales para el usuario y la posibilidad de cualquier daño colateral a la epidermis directamente debajo de la zona de poración, se reduzcan significativamente respecto a la realización sin enfriamiento. Adicionalmente, para aplicaciones de control, el preenfriamiento minimiza la evaporación de fluido intersticial y puede proporcionar también propiedades físicas ventajosas, como tensión superficial reducida de tal fluido intersticial. Más aún, se sabe que el enfriamiento del tejido produce un incremento localizado en el flujo sanguíneo en tal tejido enfriado, favoreciendo así la difusión de analitos desde la sangre hacia el fluido intersticial.

El método se puede aplicar también para otras técnicas de microcirugía en las que el compuesto absorbedor de luz/sonda térmica se aplica al área que debe ser cortada, y luego la fuente de luz se usa para modular selectivamente la temperatura de la sonda en la zona seleccionada elegida como objetivo, afectando a los tejidos a través del proceso de vaporización-ablación producido.

Otro aspecto es utilizar la fuente de luz para ayudar a sellar el microporo una vez que ha pasado su utilidad. Específicamente, en el caso de control para un analito interno, se crea un microporo y se extrae cierta cantidad de fluido intersticial a través de este orificio. Una vez que se ha recogido una cantidad suficiente de fluido intersticial, la fuente de luz se reactiva a un nivel de potencia reducido, para facilitar la agrupación o coagulación rápida del fluido intersticial dentro del microporo. Forzando la coagulación o agrupación del fluido en el poro, este orificio en el cuerpo se sella efectivamente, reduciendo así el riesgo de infección. Asimismo, el uso de la propia fuente de luz, tanto para la formación del microporo como para su sellado, es un procedimiento inherentemente estéril, sin ninguna penetración física en el cuerpo por ningún dispositivo o aparato. Además, el choque térmico inducido por la energía lumínica mata cualquier microbio que pueda estar presente en la zona de ablación.

Este concepto de esterilización óptica se puede extender para incluir una etapa adicional en el proceso en el que la fuente de luz se aplica primero de manera desenfocada, cubriendo el área elegida como objetivo con un área iluminada que se extiende 100 µm o más por encima del tamaño real del microporo a producir. Seleccionando el área sobre la cual se tiene que aplicar el haz desenfocado, la densidad de flujo se puede reducir correspondientemente hasta un nivel muy por debajo del umbral de ablación, pero suficientemente elevado para esterilizar efectivamente la superficie de la piel. Después de una exposición suficientemente larga del área mayor al haz esterilizante, en una etapa continua o en una serie de pulsos, el sistema se configura a continuación en el modo de ablación enfocada de modo preciso y comienza el proceso de microporación óptica.

Una realización de la invención es crear la sonda térmica requerida a partir de un elemento sólido metálico, como un hilo de pequeño diámetro. Según se describió previamente, la superficie de contacto de la sonda térmica tiene que

5 permitir que su temperatura se module desde temperatura ambiente de la piel (33°C), hasta temperaturas superiores a 123°C, en el tiempo requerido permitido de, preferiblemente, entre aproximadamente 1 a 50 milisegundos a la temperatura elevada (tiempo de encendido) y al menos 10 a 50 ms a la temperatura baja (tiempo de apagado). En particular, la capacidad de modular la temperatura hasta una temperatura superior a 150°C durante un tiempo de encendido de alrededor de 5 ms y un tiempo de apagado de 50 ms produce una ablación térmica muy efectiva con escasa o ninguna sensación para el individuo.

10 Se pueden aplicar con éxito varios métodos para modular las temperaturas del área de contacto de la sonda térmica del hilo. Por ejemplo, se puede llevar un trozo corto de hilo hasta la temperatura elevada deseada mediante un elemento de calentamiento externo, como un elemento de calentamiento óhmico usado en el extremo de un soldador. La Fig. 4 muestra un dispositivo de calentamiento óhmico 140 con un actuador mecánico. El dispositivo de calentamiento óhmico comprende una fuente de calor óhmico 144, acoplada a una sonda térmica de hilo 148. La fuente de calor óhmico está acoplada también a través de un montaje aislante 152, a un dispositivo de modulación mecánica 156, como un solenoide. En esta configuración se puede alcanzar una condición de estado estable, en la que el extremo de la sonda del hilo se estabilizará a cierta temperatura de equilibrio, definida por los parámetros físicos de la estructura, es decir, la temperatura de la fuente de calor óhmico, la longitud y diámetro del hilo, la temperatura del aire que rodea al hilo, y el material del que está formado el hilo. Una vez conseguida la temperatura deseada, se efectúa la modulación de la temperatura del área seleccionada de la piel de un individuo 160, a través del dispositivo de modulación mecánica, para situar alternativamente el extremo caliente del hilo en contacto con la piel durante, preferiblemente, un tiempo de encendido de 5 ms, y luego retirarlo al aire durante, preferiblemente, un tiempo de apagado de 50 ms.

20 Otra ejemplo ilustrativo (Fig. 5), muestra un dispositivo 170, que comprende una fuente de corriente 174 acoplada a un controlador 178. La fuente de corriente está acoplada a un bucle de corriente 182, que comprende un hilo 186 conformado en una estructura, de forma que presenta un punto de resistencia elevado. Preferiblemente, el hilo está soportado sobre un montaje 190, y un aislante 194 separa las diferentes partes del bucle de corriente. La modulación de temperatura deseada se logra luego modulando meramente la corriente a través del hilo. Si la masa térmica del hilo está dimensionada apropiadamente y la disipación de calor proporcionada por los electrodos que lo conectan a la fuente de corriente es suficiente, los tiempos de calentamiento y enfriamiento del hilo se pueden lograr en unos pocos milisegundos. La puesta en contacto del hilo con un área seleccionada de la piel 198, calienta el estrato córneo para lograr la ablación deseada.

30 En la Fig. 6 se muestra aún otro ejemplo ilustrativo de poración del estrato córneo con un hilo caliente. En este sistema 200, el hilo 204 se puede colocar en un campo magnético alternante modulable, formado por una bobina de alambre 208, la bobina de excitación. Incrementando la energía de la corriente alternante en la bobina de excitación mediante un controlador 212 acoplado a la misma, se pueden inducir corrientes de Foucault de intensidad suficiente en la sonda térmica de hilo, que se calentará directamente a través de las pérdidas óhmicas internas. Esto es esencialmente una versión en miniatura de un sistema de calentamiento inductivo usado normalmente para el tratamiento térmico de los extremos de herramientas o para inducir la desgasificación de los electrodos en tubos de vacío o flash. La ventaja del método de calentamiento inductivo es que la energía suministrada a la sonda térmica de hilo se puede controlar estrechamente y modularse fácilmente a través del control electrónico de la bobina de excitación. Si la masa térmica de la misma sonda de hilo y la masa térmica del estrato córneo en contacto con el extremo de la sonda son conocidas, el control de la energía inductiva suministrada puede permitir un control preciso de la temperatura en el punto de contacto 216 con la piel 220. Debido a que el tejido de la piel es esencialmente amagnético a las frecuencias más bajas a las que se puede lograr el calentamiento inductivo, si en la bobina de excitación se usan frecuencias seleccionadas apropiadamente, entonces este campo electromagnético alternante no producirá ningún efecto sobre los tejidos de la piel.

45 Si se emplea una modulación de contacto controlada mecánicamente, se puede obtener una característica adicional incorporando un sistema sencillo de control de bucle cerrado, en el que se controla la impedancia eléctrica entre el extremo de la sonda y la piel del sujeto. De esta manera, la sonda se puede poner en contacto con la piel del sujeto, indicado por la reducción por etapas de la resistencia una vez realizado el contacto, y luego mantenerse allí durante el tiempo de encendido deseado, después de lo cual se puede retirar. Varios tipos de actuadores lineales son adecuados para esta forma de control de bucle cerrado, como un mecanismo de sonido a bobina, un solenoide simple, un sistema rotativo con una palanca o balancín, y análogos. La ventaja es que, a medida que progresa la ablación térmica, puede avanzar de forma similar la posición del extremo de la sonda térmica en la piel, asegurando siempre un buen contacto para facilitar la transferencia eficiente de la energía térmica requerida. Asimismo, se puede usar el cambio en las propiedades de conductividad del estrato córneo y la epidermis, para proporcionar una verificación elegante de bucle cerrado de que se ha completado el proceso de poración, es decir, cuando la resistencia indica que se ha alcanzado la epidermis, es el momento de detener el proceso de poración.

60 La Fig. 7 muestra un ejemplo ilustrativo de tal monitor de impedancia de bucle cerrado. En este sistema 230, hay una fuente de calor óhmico 234, acoplada a una sonda térmica de hilo 238. La fuente de calor está montada a través de un montaje aislante 242 sobre un modulador mecánico 246. Un controlador 250 está acoplado al hilo y a la piel 254, donde el controlador detecta cambios en impedancia en el área seleccionada de la piel 258 y cuando se obtiene un nivel predeterminado, el controlador detiene el proceso de poración.

A lo largo de la misma línea que los medios hidráulicos de poración, están las microlancetas, adaptadas sólo para penetrar en el estrato córneo con los propósitos de administrar un permeante, como un fármaco, a través del poro formado, o de extraer un analito a través del poro para análisis. Tal dispositivo se considera que es "mínimamente invasivo", comparado con los dispositivos y/o técnicas que son no invasivas. El uso de microlancetas que penetran por debajo del estrato córneo para extraer sangre es bien conocido. Tales dispositivos están disponibles comercialmente de fabricantes como Becton-Dickinson y Lifescan, y se pueden utilizar en la presente invención controlando la profundidad de penetración. Como ejemplo de un dispositivo de microlanceta para recoger fluidos corporales, se hace referencia a Erickson et al., solicitud internacional de patente PCT publicada WO 95/10223 (publicada el 20 de abril de 1995). Esta solicitud muestra un dispositivo para la penetración en o a través de la capa dérmica de la piel, sin penetración en los tejidos subcutáneos, para recoger fluidos corporales para control, tal como para las concentraciones de glucosa sanguínea.

La poración del estrato córneo se puede lograr también usando medios sónicos. La poración por medios sónicos es una variación de los medios ópticos descritos anteriormente excepto porque, en vez de usar una fuente de luz, se suministra al área del estrato córneo que debe ser cortado un haz de energía sónica enfocado muy precisamente. Se requieren los mismos niveles de energía sónica, es decir, se tiene que absorber aún un umbral de 70 mJ/cm²/50 ms. Se pueden usar los mismos transductores ultrasónicos enfocados, pulsados, descritos en las solicitudes originales No. de serie 08/152.442 y 08/152.174 para suministrar las densidades de energía requeridas para la ablación, que los usados en el suministro de energía sónica que se modula en intensidad, fase o frecuencia, o una combinación de estos parámetros, para el muestreo transdérmico de un analito o el suministro transdérmico de fármacos. Esto tiene la ventaja de permitir el uso del mismo transductor para impulsar un fármaco a través del estrato córneo o impulsar un fluido corporal a la superficie para su análisis, y usarlo para crear primero un microporo.

Adicionalmente, se puede aplicar electroporación o ráfagas o pulsos cortos de corriente eléctrica al estrato córneo, con suficiente energía para formar microporos. La electroporación se conoce en la técnica para producir poros en membranas biológicas y están disponibles en el comercio instrumentos de electroporación. Por tanto, una persona experta en esta técnica puede seleccionar un instrumento y condiciones para su uso, sin experimentación innecesaria según las directrices proporcionadas aquí.

Los microporos producidos en el estrato córneo mediante los métodos de la presente invención, permiten elevadas velocidades de flujo de compuestos terapéuticos de gran peso molecular destinados a suministrarse transdermicamente. Además, estos orificios microscópicos no traumáticos en el cuerpo permiten el acceso de diversos analitos al interior del cuerpo, que se pueden analizar para determinar sus concentraciones internas.

Ejemplo 1

En este ejemplo, se prepararon muestras cutáneas de la siguiente manera. Se separó la membrana epidérmica de la piel completa de un cadáver humano mediante el método de separación térmica de Klingman y Christopher, 88 Arch. Dermatol. 702 (1963), que implicaba la exposición del grosor total de la piel a una temperatura de 60°C durante 60 segundos, tiempo después del cual el estrato córneo y parte de la epidermis (la membrana epidérmica) se desprendían cuidadosamente de la dermis.

Ejemplo 2

Las muestras de estrato córneo separadas térmicamente, preparadas según el procedimiento del Ejemplo 1, se extirparon en secciones de 1 cm². Estas pequeñas muestras se unieron luego a la cubierta de vidrio, colocándolas sobre el portaobjetos y aplicando un disco recubierto en su dorso por un adhesivo sensible a la presión con un orificio de 6 mm en el centro sobre la muestra de piel. A continuación, las muestras estaban listas para el ensayo experimental. En algunos casos, las muestras de piel se hidrataban, dejándolas sumergirse durante varias horas en una solución de fosfato tamponada neutra o en agua pura.

Como prueba de estas muestras de piel sin tratar, se aplicaron a la muestra las salidas de varios diodos láser infrarrojos diferentes, que emitían aproximadamente a 810, 905, 1480 y 1550 nanómetros. Los medios ópticos emisores se diseñaron para producir una curvatura focal de 25 µm de ancho, con un objetivo final que tiene una apertura numérica de 0,4. Se midió la potencia total suministrada al punto focal, que estaba entre 50 y 200 milivatios para los diodos láser de 810 y 1480 nm, que eran capaces de funcionar en forma de onda continua (CW). Los diodos láser de 905 y 1550 nm se diseñaron para producir pulsos de potencia máxima elevada, aproximadamente de 10 a 200 nanosegundos de duración, con índices de repetición de hasta 5000 Hz. Para los láseres pulsados se midió que los niveles de potencia máxima eran 45 vatios a 905 nm y 3,5 vatios a 1550 nm.

Bajo estas condiciones de funcionamiento, no existió un efecto aparente sobre las muestras de piel procedentes de ninguno de los láseres. El área elegida como objetivo se iluminó continuamente durante 60 segundos y luego se examinó microscópicamente, sin revelar ningún efecto visible. Además, la muestra se colocó en una célula de Franz modificada, usada típicamente para analizar sistemas de suministro transdérmico basados en potenciadores de permeación química, y se midió a conductividad de un lado de la membrana al otro, tanto antes como después de la irradiación por láser, y no mostró ningún cambio. Basándose en estos análisis que se realizaron sobre muestras

de piel de cuatro donadores diferentes, se concluyó que a estas longitudes de onda, el acoplamiento de la energía óptica en o a través del tejido cutáneo era tan pequeño, que no era detectable ningún efecto.

Ejemplo 3

5 Para evaluar la sensación potencial para un sujeto vivo cuando se iluminaba con energía óptica en las condiciones del Ejemplo 2, se usaron seis voluntarios y se aplicó la salida de cada fuente de láser a las yemas de sus dedos, antebrazos, y el dorso de sus manos. En los casos de láseres de 810, 905 y 1550 nm, el sujeto era incapaz de sentir cuando el láser estaba encendido o apagado. En el caso del láser de 1480 nm, existió alguna sensación durante la iluminación por el láser de 1480 nm funcionando a 70 mW CW, y después de un rato corto, se formó una ampolla pequeña bajo la piel, debido a la absorción de la radiación de 1480 nm por una de las bandas de absorción de agua. 10
Aparentemente, la cantidad de energía absorbida fue suficiente para inducir la formación de la ampolla, pero no fue suficiente para producir la eliminación ablativa del estrato córneo. Asimismo, la absorción de la luz de 1480 nm se produjo predominantemente en los tejidos más profundos, totalmente hidratados (85% a 90% de contenido de agua) de la epidermis y dermis, no en el tejido relativamente seco (10% a 15% de contenido de agua) del estrato córneo.

Ejemplo 4

15 Habiendo demostrado la carencia de efecto sobre la piel en su estado natural (Ejemplo 3), se evaluó una serie de compuestos químicos para la efectividad en la absorción de la energía lumínica y la transferencia posterior de esta energía absorbida, a través de la conducción, en el tejido del estrato córneo elegido como objetivo. Los compuestos ensayados incluían tinta china; negro indeleble de la marca "SHARPIE", rotuladores marcadores azul y rojo; azul de metileno; rojo fucsia; epolita nº 67, un compuesto absorbedor desarrollado para moldearse en lentes de policarbonato para gafas protectoras de láser; tintura de yodo; completo de yodo-poli(vinil-pirrolidona) ("BETADINE"); ftalocianina de cobre; y tinta de impresoras. 20

Usando ambos diodos láser CW descritos en el Ejemplo 2, se observaron resultados de ablación positivos sobre las muestras in vitro de estrato córneo separado térmicamente, preparado según el Ejemplo 1 cuando se usaron todos estos productos, sin embargo algunos funcionaron mejor que otros. En particular, la ftalocianina de cobre (CPC) y la epolita nº 67 fueron algunos de los más efectivos. Una razón probable para el funcionamiento superior de la CPC, es su elevado punto de ebullición, superior a 500°C, y el hecho de que mantiene su fase sólida hasta esta temperatura. 25

Ejemplo 5

30 Como la ftalocianina de cobre ha sido ya aprobada por la FDA para su uso en suturas implantables, y está listada en el índice Merck como una molécula bastante benigna y estable en relación con la biocompatibilidad humana, la siguiente etapa realizada fue combinar la aplicación tópica de la CPC y la fuente de luz enfocada a la piel de voluntarios humanos sanos. Se preparó una suspensión de CPC triturada finamente en alcohol isopropílico. El método de aplicación usado fue agitar la solución y luego aplicar una pequeña gota en la zona elegida como objetivo. A medida que el alcohol se evaporaba, quedaba un recubrimiento fino y uniforme de la CPC en fase sólida sobre la superficie de la piel.

35 El aparato mostrado en la Fig. 1 se aplicó entonces a la zona, en la que la CPC se había depositado tópicamente sobre la piel, colocando el área seleccionada de la piel del individuo contra una placa de referencia. La placa de referencia consiste en una ventana de vidrio fino, aproximadamente de 3 cm x 3 cm, con un orificio de 4 mm en el centro. El área cubierta por la CPC se colocó de tal forma que estuviese dentro del orificio central. A continuación, se usó un microscopio de vídeo confocal (Fig. 1) para enfocar la superficie de la piel de forma precisa. La colocación de la piel para lograr el enfoque más preciso sobre el sistema de vídeo, también la colocó de forma que el punto focal del sistema láser fuese coincidente con la superficie de la piel. El operador activó luego los pulsos de luz láser, observando simultáneamente los efectos en la zona elegida como objetivo sobre el monitor de vídeo. La cantidad de penetración fue estimada visualmente por el operador, calibrando la cantidad de desenfoque del punto de láser en el microporo, a medida que se incrementaba la profundidad del microporo, y esto puede ser corregido dinámicamente por el operador, esencialmente siguiendo la superficie cortada hacia abajo en los tejidos, moviendo la posición de la fuente de cámara/láser a lo largo del eje "z", en la piel. En el punto en el que se había eliminado el estrato córneo hasta la epidermis, la apariencia de la base del orificio cambió perceptiblemente, haciéndose muy húmeda y reluciente. Al observar este cambio, el operador desactivó el láser. En muchos casos, dependiendo del estado de hidratación del sujeto, así como otras condiciones fisiológicas, se producía una salida notable de fluido intersticial, como respuesta a la función de barrera del estrato córneo que se estaba eliminando sobre esta pequeña área. El sistema de vídeo se utilizó para grabar este registro visual de la accesibilidad de fluido intersticial en la zona de poración. 50

Ejemplo 6

55 Se siguió el procedimiento del Ejemplo 5, excepto porque la CPC se aplicó a una cinta adhesiva transparente, que se adhirió luego a una zona seleccionada sobre la piel de un individuo. Estos resultados fueron sustancialmente similares a los del Ejemplo 5.

Ejemplo 7

Se realizaron experimentos de histología sobre piel de cadáveres, según métodos bien conocidos en la técnica para determinar los parámetros de umbral de ablación para mezclas de colorantes determinadas y la información del daño colateral. La superficie superior de la muestra de piel se trató con una solución de ftalocianina de cobre (CPC) en alcohol. Una vez que se evaporó el alcohol, se distribuyó una capa tópica de CPC en fase sólida sobre la superficie de la piel con un grosor medio de 10 a 20 μm . La Fig. 8A muestra una sección transversal del grosor total de la piel antes de la aplicación de láser, en la que se muestran la capa de CPC 270, el estrato córneo 274, y las capas epidérmicas subyacentes 278. La Fig. 8B muestra la muestra después de que se aplicó un único pulso de luz de 810 nm a un círculo de 80 μm de diámetro con una densidad de energía de 4000 J/cm², durante un período de pulso de 20 ms. Merece la pena destacar que existía aún una cantidad significativa de CPC presente sobre la superficie del estrato córneo incluso en el medio del cráter extirpado 282. También es necesario destacar que las mediciones de laboratorio indican que sólo aproximadamente 10% de la energía luminosa incidente en la CPC se absorbe realmente, siendo el 90% restante reflejado o retrodispersado. Por tanto, el flujo de energía efectiva que se suministraba a la capa de colorante, que pudo causar el calentamiento deseado, es sólo aproximadamente 400 J/cm². 8C representa la muestra después de que se aplicaron 5 pulsos de 810 nm de luz, siendo eliminada la barrera del estrato córneo sin dañar el tejido subyacente. Estos resultados son una buena representación del funcionamiento de la ablación térmica modulada ópticamente "ideal". La Fig. 8D representa la muestra después de que se aplicaron 50 pulsos. El tejido dañado 286 estaba presente en las capas epidérmicas, debido a la carbonización del tejido no extirpado y a la desnaturalización térmica del tejido subyacente. Las Figs. 8A-8C muestran separaciones entre el estrato córneo y las capas epidérmicas subyacentes, debido a un artefacto de deshidratación, congelación y preparaciones para formación de imágenes.

Ejemplo 8

Para examinar los detalles del mecanismo de ablación térmica, se construyó un modelo matemático de los tejidos cutáneos, sobre el cual se podían ensayar varias realizaciones diferentes del método de ablación térmica. Este modelo contabiliza la distribución de temperatura en un medio estratificado semiinfinito con una entrada de flujo térmico especificada localmente sobre la superficie y eliminación de calor desde la superficie hasta alguna distancia, es decir, se aplica convección entre los dos. La ecuación de difusión dependiente del tiempo, de simetría axial, se resuelve en coordenadas cilíndricas, usando el método implícito de dirección alternante (ADI). (Nota: la constante de temperatura B.C. se aplica sobre el límite inferior para servir como $z \rightarrow \text{inf}$; y el flujo térmico radial cero se aplica sobre el límite radial max. para servir como $r \rightarrow \text{inf}$). Las capas son paralelas a la superficie y se definen como: (1) colorante; (c) estrato córneo; (3) epidermis subyacente; y (4) dermis. La profundidad en el medio semiinfinito y las propiedades térmicas, densidad (ρ), calor específico (c) y conductividad (k), se tienen que especificar para cada capa.

Primero, el coeficiente de transferencia térmica, h , sobre la piel se calcula basado en la distribución de temperatura "estable", "1-D", determinada mediante la temperatura del aire ambiental, la temperatura de la superficie cutánea y la temperatura de la dermis. Se asume que no hay colorante presente y se proporciona " h " sobre la superficie de la piel. El programa permite entonces usar esta " h " sobre la superficie de la capa de colorante o introduce otra " h " deseada para la superficie del colorante. A continuación, se calcula la distribución de temperatura "estable" a través de todas las capas (incluyendo la capa de colorante), usando la " h " especificada en la superficie del colorante. Esta distribución de temperatura es la condición inicial para el problema de calentamiento dependiente del tiempo. Este constituye la m inicial del "archivo- m ". A continuación, el programa resuelve la distribución de temperatura dependiente del tiempo poniendo en marcha el tiempo, calculando y mostrando el campo de temperatura en cada etapa.

Cada realización del método aquí descrito, para el cual se han recogido datos empíricos, se ha modelado para al menos un conjunto de parámetros operativos, mostrando cómo la ablación del estrato córneo se puede conseguir de una forma precisa y controlable. El resultado de las simulaciones se presenta gráficamente en dos formatos diferentes: (1) una vista transversal de la piel que muestra las diferentes capas de tejido con tres isoterms representados en la parte superior de esta vista, que definen tres umbrales de temperatura críticos, y (2) dos gráficos diferentes de temperatura frente a tiempo, uno para el punto en el medio del estrato córneo, directamente debajo de la zona elegida como objetivo, y el segundo para el punto en las proximidades de las capas de células viables de la epidermis y la parte inferior del estrato córneo. Estos gráficos muestran cómo la temperatura en cada punto varía con el tiempo a medida que se aplican los pulsos de calor, como si uno pudiese implantar un termopar microscópico en los tejidos. Además, la aplicación de este modelo permite la investigación de los límites paramétricos dentro de los cuales se puede emplear el método, para fijar los límites externos para dos aspectos importantes de funcionamiento del método. Primero, los casos generales son casos presentados que definen la envolvente dentro de la que se puede emplearse el método sin producir dolor o daño tisular no deseado.

Para cualquier fuente de calor dada, según se describe en las diversas realizaciones diferentes de la invención, hay un punto en el que el efecto sobre los tejidos cutáneos del sujeto se torna no óptimo, porque el sujeto percibe una sensación de dolor, o porque las células viables en la epidermis y/o dermis subyacentes soportan temperaturas que, si se mantienen durante una duración suficientemente prolongada, producirán daños a estos tejidos. Consecuentemente, se realizó una simulación de ensayo usando la realización de colorante de ftalocianina de cobre (CPC) tópico calentado ópticamente como método de línea basal, para establecer cómo las constantes temporales

térmicas de las diferentes capas de tejido cutáneo definen esencialmente un intervalo temporal en el que el método se puede emplear sin dolor o daño a las capas de tejido adyacentes.

Las Figs. 9 y 10 muestran vistas transversales esquemáticas de la piel y la capa de colorante tópico. En cada figura, se representan tres isotermas distintos: (1) 123°C, el punto en el que la vaporización del agua contenida en el tejido produce la ablación del tejido; (2) 70°C, el punto en el que las células viables se dañarán si esta temperatura se mantiene durante varios segundos; y (3) 45°C, el punto promedio en el cual el sujeto percibirá una sensación de dolor. Este umbral del dolor se describe en varios textos de fisiología básicos, pero la experiencia demuestra que este umbral es, en cierto modo, subjetivo. De hecho, en análisis repetidos sobre el mismo individuo, diferentes zonas de poración dentro de unos pocos milímetros entre sí, pueden mostrar cantidades de sensación significativamente distintas, posiblemente debido a la proximidad de una terminación nerviosa en relación con la zona de poración.

Las dimensiones en los gráficos muestran las diferentes capas del colorante y piel, según se miden en μm , definidas por límites planos. Aunque que los tejidos cutáneos reales tienen límites mucho más replegados, en un sentido promedio para las dimensiones implicadas, el modelo proporciona una buena aproximación de los gradientes térmicos presentes en los tejidos reales. Las dimensiones usadas en esta, y todas las simulaciones posteriores, para los grosores de la capa de colorante CPC y las diversas capas cutáneas son como sigue: colorante, 10 m; estrato córneo, 30 m; epidermis subyacente, 70 m; y dermis, 100 m.

Las condiciones adicionales impuestas sobre el modelo para esta simulación particular, se muestran en las siguientes tablas:

Tabla 1	
Condiciones iniciales para el modelo térmico de diferencia finita	
Temperatura de aire ambiental	Ta = 20°C
Temperatura superficial de la piel	Ts = 30°C
Temperatura de la dermis	Td = 37°C
Temperatura de vaporización del colorante	Tvap = 550°C
Temperatura de vaporización del estrato córneo	Tcl = 123°C
Temperatura de daño del tejido	Tc2 = 70°C
Temperatura de dolor	Tc3 = 45°C
Radio del área irradiada	R _{ho} = 30 pm
Densidad de energía aplicada	FLUJO = 400 Joules/cm ²

20 Tabla 2

Parámetro	Colorante	Estrato córneo	Epidermis	Dermis
Conductividad térmica	0,00046	,00123	0,00421	0,00421
Densidad	0,67	1,28	1,09	1,09
Calor específico	0,8	1,88	3,35	3,35

Quando se realizan estas simulaciones, se imponen las siguientes suposiciones conservadoras:

1. Aunque cierta parte del estrato córneo se puede mostrar que tiene una temperatura que ya excede el umbral de ablación para la vaporización térmica del contenido de agua, este suceso no se modela, y la pérdida posterior de energía térmica en los tejidos debido a esta vaporización no se factoriza en la simulación. Esto producirá una ligera elevación en las temperaturas mostradas en los tejidos subyacentes desde este punto en adelante, en la realización de la simulación.

2. De forma similar, cuando alguna parte de la capa de colorante de ftalocianina de cobre (CPC) se muestra que ha alcanzado su punto de vaporización de 550°C, este suceso no se modela, sino que la temperatura se limita todo lo posible a este nivel. Esto producirá también una ligera elevación de las temperaturas posteriores en las capas subyacentes, a medida que la simulación progresa.

Incluso con estas simplificaciones usadas en el modelo, la correlación entre el funcionamiento predicho y el funcionamiento observado empíricamente, basado tanto en estudios clínicos como en estudios histológicos sobre las muestras de tejido donador, es notable. Los datos claves a destacar en las Figs. 9 y 10, son el espacio de tiempo en el que se aplica el pulso térmico, y la localización de las tres temperaturas umbral diferentes mostradas por las isoterma.

En la Fig. 9, con una longitud de pulso de 21 milisegundos, la isoterma de 70°C justo cruza el límite que separa el estrato córneo y la capa de células viables en la epidermis. Los estudios in vitro sobre muestras de piel de donador bajo estas condiciones, cincuenta pulsos de energía térmica suministrados con una separación de 50 milisegundos entre sí, producen un daño detectable a esta capa superior de células vivas (véase Fig. 8D). Sin embargo, también se mostró en estudios in vitro, que cinco pulsos de energía térmica con estos mismos parámetros de funcionamiento, no producían ningún daño significativo a estos tejidos. Parece razonable que, aunque se haya podido exceder el umbral de daño nominal, al menos en un sentido transitorio, esta temperatura se tiene que mantener durante cierto periodo de tiempo acumulativo para causar realmente cualquier daño a las células. No obstante, la información básica presentada por la simulación es que, si uno mantiene el “tiempo de encendido” del pulso térmico a menos de 20 milisegundos con una densidad de flujo de 400 Julios/cm², entonces las células vivas en la epidermis subyacente no soportarán ningún daño, aunque la isoterma del umbral de ablación se haya trasladado bien al estrato córneo. En otras palabras, usando una fuente de energía térmica de densidad de flujo reducida, modulada de forma que el “tiempo de encendido” sea adecuadamente corto, la ablación del estrato córneo se puede conseguir sin ningún daño a las células adyacentes en la epidermis subyacente (véase Fig. 8C). Esto es posible, en gran parte, debido a las difusividades térmicas significativamente diferentes de estas dos capas de tejido. Es decir, el estrato córneo, que contiene sólo aproximadamente de 10% a 20% de contenido de agua, tiene una constante de conductividad térmica mucho menor, 0,00123 J/(S*cm*K), que la de la epidermis, de 0,00421J/S*cm*K). Esto permite que la temperatura aumente en el estrato córneo, manteniendo simultáneamente una definición espacial restringida, hasta el punto en el que se producirá la destrucción.

En la Fig. 10, el mismo escenario de simulación iniciado en la prueba de punto crítico de umbral de daño ilustrado en la Fig. 9, se realiza más adelante en el tiempo. Manteniendo el pulso térmico durante 58 milisegundos a la misma intensidad de flujo de 400 Julios/cm² dentro del círculo de 60 µm de diámetro de colorante que se está calentando, la isoterma sensorial del dolor a 45°C, justo entra en la capa de piel inervada que comprende la dermis. Además, la isoterma de umbral de daño se mueve significativamente más adelante en la capa epidérmica que donde se mostraba que se encontraba en la Fig. 9. Relacionando esta simulación con los numerosos estudios clínicos llevados a cabo con este método, se obtiene una verificación excelente de la precisión del modelo, porque el modelo muestra casi exactamente la duración del “tiempo de encendido” en el que la sonda térmica se puede aplicar a la piel antes de que el individuo la perciba. En pruebas clínicas, se usó un generador de pulsos controlable para fijar el “tiempo de encendido” y el “tiempo de apagado” de una serie de pulsos lumínicos aplicados a la capa tópica de colorante de ftalocianina de cobre (CPC) sobre la piel. Mientras que se mantenía un “tiempo de apagado” constante de 80 milisegundos, el “tiempo de encendido” se incrementaba gradualmente hasta que el sujeto describía una sensación de “dolor” ligera. Sin excepción, todos los sujetos implicados en estos estudios describían el primer “dolor” en un “tiempo de encendido” de entre 45 y 60 milisegundos, muy próximo al predicho por el modelo. Además, la variabilidad entre zonas mencionada previamente en cuanto a la sensación de “dolor” se percibió en estos estudios clínicos. Consecuentemente, lo que se describe como “dolor” es el punto en el que se percibe por primera vez una sensación no ambigua. En una zona esto se puede describir como dolor, mientras que en una zona adyacente el mismo sujeto lo puede describir como meramente “perceptible”.

Un elemento de esta investigación clínica es el descubrimiento de que, incluso en la misma zona, un tren de pulsos térmicos no uniforme puede funcionar con la neuropercepción psico-fisiológica del sujeto, produciendo una reducción genuina en la sensación percibida. Por ejemplo, se puede usar una serie de pulsos térmicos de menor longitud para saturar las neuronas en el área, empobreciendo momentáneamente los neurotransmisores disponibles en esta unión sináptica y, por tanto, limitando la capacidad de enviar un mensaje de “dolor”. Esto permite entonces que un pulso más largo a continuación de estos pulsos cortos sea menos perceptible que si éste se aplicase al principio de la secuencia. Consecuentemente, se llevó a cabo una serie de experimentos con algunos trenes de pulsos creados arbitrariamente, y los resultados eran coherentes con esta hipótesis. Una analogía para esta situación se podría encontrar en la percepción cuando uno entra por primera vez en un baño muy caliente que es dolorosa al principio, pero rápidamente se hace tolerable a medida que uno se aclimata a la sensación de calor.

Ejemplo 9

Un objeto de esta invención es conseguir una microporación indolora del estrato córneo, sin causar ningún daño significativo a los tejidos viables adyacentes. Según se describe en la simulación ilustrada en el Ejemplo 8 y en las Figs. 9-10, parece existir un límite para cualquier densidad de flujo de energía térmica en el punto elegido como objetivo de ablación, en el cual la microporación se puede conseguir de una manera indolora y no traumática. Tanto los estudios in vivo como in vitro han mostrado que éste es el caso, y esto ha permitido el desarrollo a través de métodos empíricos, de algunos parámetros operativos que parecen funcionar muy bien. El siguiente conjunto de simulaciones muestra cómo funciona el método cuando se usan estos parámetros específicos.

En el primer caso, se aplica a la piel cubierta por CPC un tren de diez pulsos, 10 milisegundos de “tiempo de encendido” separados por 10 milisegundos de “tiempo de apagado”. La Fig. 11 muestra la distribución final de temperatura en los tejidos cutáneos, inmediatamente después de que este tren de impulsos haya terminado. Según se puede observar, las isotermas que representan los tres umbrales de temperatura críticos muestran que se ha conseguido la ablación del estrato córneo, sin ninguna sensación presente en los nervios de la capa dérmica y muy escaso cruce del umbral de daño hacia el interior o a través de las células viables de la epidermis subyacente. Según se mencionó previamente, parece que para producir realmente un daño celular permanente, las células epidérmicas tienen que, no sólo calentarse hasta un cierto punto, sino que tienen que mantenerse asimismo a esta temperatura durante cierto período de tiempo, que se cree generalmente que es aproximadamente cinco segundos. Las Figs. 12 y 13 muestran la temperatura del estrato córneo y la epidermis viable, respectivamente, en función del tiempo, mostrando el calentamiento durante el “tiempo de encendido” y el enfriamiento durante el “tiempo de apagado” para los diez ciclos completos. En relación con esta simulación para los estudios llevados a cabo in vivo, hay que destacar que en más de 90% de los intentos de poración con los parámetros del sistema fijados para optimizar la simulación, se consiguió una poración efectiva del estrato córneo sin dolor para el sujeto, y en un examen microscópico posterior de la zona de poración varios días más tarde, no se evidenciaba ningún daño perceptible de los tejidos. Los estudios in vitro realizados en muestras de piel de donador de grosor total, eran también coherentes con la predicción de comportamiento del modelo.

Ejemplo 10

Al llevar a cabo tanto los estudios empíricos in vivo como estas simulaciones, parece que el preenfriamiento de la piel ayuda a optimizar el proceso de microporación para reducir la probabilidad de dolor o daño en los tejidos adyacentes. En la práctica, esto se puede conseguir fácilmente usando una simple placa fría colocada contra la piel previamente al proceso de poración. Por ejemplo, aplicando una placa de Peltier enfriada al círculo de 1 cm de diámetro que rodeaba la zona de poración elegida como objetivo, con la placa mantenida a aproximadamente 5°C durante unos pocos segundos, se reduce significativamente la temperatura de los tejidos. En las Figs. 3A-B se muestra una ilustración esquemática de un dispositivo experimental usado para este propósito en el laboratorio. Aplicando exactamente el mismo tren de pulsos de diez pulsos usado en la prueba ilustrada en el Ejemplo 9, se puede observar, comparando Fig. 11 con Fig. 14, Fig. 12 con Fig. 15 y Fig. 13 con Fig. 16, cuánta mejora se puede realizar en el control de la penetración de temperatura en o a través de los tejidos cutáneos. Nuevamente, la difusividad térmica y el calor específico relativamente bajos del estrato córneo, en comparación con la epidermis y la dermis, son ventajosos. Una vez enfriados, los tejidos altamente hidratados de la epidermis y dermis requieren una entrada de energía térmica mucho mayor para elevar sus temperaturas, mientras que el estrato córneo, con su composición relativamente seca, se puede calentar rápidamente hasta el umbral de ablación.

Ejemplo 11

Una vez que se ha entendido el mecanismo básico de conducción térmica para el suministro de la energía a los tejidos cutáneos a la destrucción y microporación indolora efectiva del estrato córneo, se pueden concebir varios métodos específicos diferentes para conseguir las modulaciones de temperatura rápidas requeridas del punto de contacto, como las realizaciones de hilo caliente ilustradas en las Figs. 4-7.

Una realización básica, según se describe aquí, usa un elemento de calentamiento óhmico (Fig. 4), como el extremo de un pequeño soldador sin cables, con un hilo dimensionado adecuadamente, relativamente no reactivo, enrollado en torno al mismo con una pequeña cantidad de hilo que se deja sobresalir hacia afuera del cuerpo del calentador. Cuando se aplica electricidad con una fuente de corriente constante, el calentador alcanzará cierta temperatura y, en unos pocos segundos, alcanzará un estado de equilibrio con las pérdidas de convección al aire circundante. De forma similar, el hilo, que es una parte de este sistema térmico, alcanzará un estado de equilibrio, de forma que el extremo más externo del hilo se puede incrementar hasta casi cualquier temperatura arbitraria, hasta aproximadamente 1000°C, con estos tipos de componentes. El extremo se puede dimensionar para proporcionar exactamente la dimensión de microporo deseada.

En el laboratorio, se han utilizado hilos de tungsteno con un diámetro de 80 μm unidos al extremo reemplazable de un soldador sin cables “WAHL” con aproximadamente 2 mm de hilo sobresaliendo del extremo. Con un termopar, la temperatura del extremo se ha medido en su estado estable, y se ha detectado que, variando los parámetros de corriente constante, se pueden conseguir fácilmente temperaturas de estado estable superiores a 700°C. Para conseguir la modulación deseada, se acopló al extremo un actuador electromecánico de respuesta rápida, de masa pequeña, de forma que la posición del hilo se podía convertir linealmente más de 2 mm a una velocidad máxima de 200 Hz. Luego, montando el aparato entero sobre un escenario de precisión, este extremo vibratorio se podría poner en contacto, de forma muy controlable, con la superficie de la piel, de forma que estuviese en contacto sólo durante menos de 10 milisegundos cada vez, el “tiempo de encendido”, mientras que se podría conseguir un “tiempo de apagado” de períodos arbitrariamente largos, fijando el generador de pulsos consecuentemente. Estos estudios in vivo mostraban que la poración se podía conseguir realmente antes de que el sujeto en el que se estaban formando los poros supiese incluso que el extremo del hilo se estaba poniendo en contacto con la piel.

Para comparar el funcionamiento de esta realización con la realización del colorante CPC tópico calentado ópticamente, se realizaron las siguientes simulaciones, según el procedimiento del Ejemplo 8. Esencialmente, sólo

variando las condiciones iniciales, la realización del hilo caliente se puede realizar con el idéntico código de simulación. Debido a que el contacto con el hilo se produce esencialmente de forma instantánea, no existe ningún incremento de calor dependiente del tiempo en la capa de colorante CPC y, cuando el hilo se elimina físicamente del contacto con la piel, no existe ningún calor residual restante sobre la superficie, como se produce con la capa de colorante CPC calentado. Asimismo, como el propio hilo define el área elegida como objetivo para ablación/microporación, no debería haber ninguna difusión lateral de energía térmica antes de su aplicación al estrato córneo. Los funcionamientos comparativos de la realización del "hilo caliente" se muestran en las Figs. 17-19.

Ejemplo 12

En este ejemplo, se siguió el procedimiento del Ejemplo 11, excepto porque la piel se preenfrió según el procedimiento del Ejemplo 10. De forma similar, el preenfriamiento de la zona elegida como objetivo produce resultados positivos análogos a la realización del "hilo caliente". Los resultados de la simulación preenfriada del enfoque del "hilo caliente" se muestran en las Figs. 20-22.

Ejemplo 13

Según se analizó en la introducción de antecedentes de esta descripción, la patente de Tankovich 803 parece a primera vista que es similar a la invención aquí reivindicada. En este ejemplo, el modelo de simulación se estableció con los parámetros operativos especificados en la 803 de Tankovich, es decir, una amplitud de pulso de 1 s y un nivel de potencia de 40.000.000 W/cm². Las Figs. 23 y 24 muestran que, bajo estas condiciones, ninguna parte del estrato córneo alcanza el umbral para la vaporización instantánea del agua, 123°C, y, por tanto, no se produce la ablación/microporación del estrato córneo. En la práctica, la aplicación de este tipo de pulso de potencia máxima elevada y corta duración, a la capa de colorante tópica, vaporiza meramente el colorante hacia el exterior de la superficie de la piel, sin ningún efecto sobre la piel. Este ejemplo, por tanto, demuestra que las condiciones especificadas por la 803 de Tankovich no son operativas en la invención aquí reivindicada.

Ejemplo 14

En este ejemplo, el fluido intersticial obtenido después de la poración de la piel según el procedimiento del Ejemplo 6, se recogió y analizó para determinar su concentración de glucosa. Los datos se obtuvieron en cuatro sujetos no diabéticos y seis sujetos diabéticos de tipo I sometidos a una prueba de sobrecarga de glucosa. Las edades de los sujetos variaban entre 27 y 43. La finalidad del estudio era examinar la utilidad del método para recoger de forma indolora suficiente fluido intersticial (ISF) de los sujetos para permitir que las muestras de ISF se analizaran para el contenido de glucosa, y luego comparar estas concentraciones con la concentración de glucosa presente en la sangre total del sujeto.

A todos los sujetos se les realizaron las pruebas de glucosa ISF y en sangre con el sistema "ELITE" de Miles-Bayer. Los diez sujetos pasaron por idénticos protocolos de medición, realizándose los ajustes en relación con la sobrecarga de glucosa e inyección de insulina para aquellos sujetos con diabetes dependiente de insulina.

El diseño básico del estudio era reclutar un número modesto de voluntarios, algunos con diabetes y algunos sin diabetes, de los que se extraían una serie de parejas de muestras de ISF y sangre total cada 3 a 5 minutos, a lo largo de las 3 a 4 horas de duración del período de estudio. Tanto las muestras de sangre como de ISF se analizaron para glucosa, y se determinó la relación estadística entre las concentraciones de glucosa sanguínea y el fluido intersticial. Para examinar el retraso temporal hipotético de las concentraciones de glucosa del ISF, comparadas con las concentraciones de glucosa de la sangre total, se indujo a los sujetos de estudio a mostrar un cambio dinámico y significativo en sus concentraciones de glucosa. Esto se consiguió haciendo ayunar a cada sujeto durante 12 horas antes de empezar la prueba y, luego, dando al sujeto una sobrecarga de glucosa después de que se hubiesen establecido sus concentraciones de glucosa de línea de base, a través de un conjunto de tres concentraciones de glucosa sanguínea y de ISF en ayunas. Una vez que se habían establecido las concentraciones basales, se proporcionó a los sujetos una sobrecarga de glucosa en forma de un zumo dulce basado en las siguientes directrices:

i. Para los sujetos de control, la sobrecarga de glucosa se calculó basada en 0,75 gramos de glucosa por libra de peso corporal.

ii. Para los sujetos con diabetes dependiente de insulina, la sobrecarga de glucosa era de 50 gramos de glucosa. Además, inmediatamente después de tomar la sobrecarga de glucosa, los sujetos diabéticos se inyectaban su dosis matutina normal de insulina de acción rápida. En el caso en que el sujeto diabético presentara concentraciones de glucosa en ayunas superiores a 300 mg/dl, se le pedía que se inyectase su insulina primero, y la sobrecarga de glucosa se les proporcionó una vez que sus concentraciones de glucosa sanguínea se habían reducido hasta menos de 120 mg/dl.

A cada sujeto reclutado se le proporcionó inicialmente una descripción completa del estudio en el documento de "consentimiento informado", que se requirió que entendiesen y firmasen antes de inscribirse oficialmente en el programa. Tras la aceptación, completaron un cuestionario de su historial médico. El procedimiento clínico detallado llevado a cabo fue:

(a) Sujeto en ayunas desde las 9:00 p.m. la noche antes de la visita del estudio, consumiendo sólo agua. No se permitió cafeína, cigarrillos, zumo de fruta durante este período.

(b) El sujeto llega a las instalaciones de prueba alrededor de las 9:00 a.m. del día siguiente.

5 (c) Se hizo sentarse al sujeto en una silla reclinable proporcionada para que el sujeto se relajase durante el procedimiento de estudio.

10 (d) Se tomaron muestras de sangre total e ISF a intervalos entre tres y cinco minutos, comenzando tras la llegada del sujeto y continuando durante las siguientes tres a cuatro horas. La duración durante la que se recogieron los datos se basaba en cuándo las concentraciones de glucosa sanguínea habían vuelto a su intervalo normal y se habían estabilizado tras la sobrecarga de glucosa. Las muestras de ISF se recogían usando poración óptica, método de bombeo de ISF, descrito con más detalle más adelante. Cada muestra de ISF era aproximadamente de 5 µl de volumen, para asegurar un buen relleno de la banda de prueba ELITE. Las muestras de sangre se obtenían a través de una lanceta de punción digital convencional. Tanto las muestras de ISF como sanguíneas se probaban inmediatamente para glucosa con el sistema de glucómetro doméstico ELITE de Miles-Bayer. Para mejorar la estimación de las concentraciones de glucosa sanguíneas “verdaderas”, se realizaron dos pruebas ELITE separadas en cada muestra de pinchazo de dedo.

20 (e) Para facilitar la recolección continua del ISF de la misma zona a lo largo de la fase completa de recolección de datos para un individuo dado, se creó una matriz de 5 por 5 de veinticinco microporos, sobre el antebrazo superior del sujeto, teniendo cada microporo entre 50 y 80 µm de ancho y estando espaciados entre sí 300 µm. Se sujetó al antebrazo del sujeto un disco de teflón de 30 µm de diámetro con un orificio de 6 mm en el centro, con un adhesivo sensible a la presión, y se colocó de forma que el orificio central de 6 mm se localice sobre la matriz de microporos de 5 por 5. Esta unión permitió un método conveniente mediante el que se podía conectar una pequeña tubería de succión, aplicando un ligero vacío (10 a 12 pulgadas de Hg) al área en la que se formaban los poros, para inducir al ISF a que fluyese hacia fuera del cuerpo a través de los microporos. En la parte superior del disco de teflón se montó una cubierta transparente de vidrio claro, permitiendo al operador observar directamente la piel en la que se formaban los microporos por debajo de la misma. Cuando se formaba un glóbulo de 5 µl de ISF sobre la superficie de la piel, esto se podía constatar fácilmente mediante control visual de la zona a través de esta cubierta transparente. Este nivel de vacío creaba un gradiente de presión nominal de aproximadamente 5 libras/pulgada cuadrada (PSI). Sin los microporos, no se podría extraer ningún ISF en absoluto del cuerpo del sujeto usando sólo el ligero vacío.

30 (f) Una vez extraídos los tres primeros pares de muestras, se le proporcionó al sujeto una sobrecarga de glucosa en forma de zumo de naranja muy endulzado. La cantidad de glucosa proporcionada fue de 0,75 gramos por libra de peso corporal para los sujetos no diabéticos y 50 gramos para los sujetos diabéticos. Los sujetos diabéticos se administraron también un pinchazo de insulina de acción rápida, (regular) con la dosificación calculada apropiadamente, basada en esta concentración de glucosa de 50 gramos concurrente con la ingestión de la sobrecarga de glucosa. Con el retraso normal de 1,5 a 2,5 horas entre la recepción de una inyección de insulina y el efecto máximo de la inyección, se esperaba que los sujetos diabéticos presentasen un aumento ascendente de sus concentraciones de glucosa sanguínea hasta 300 mg/dl, y luego un descenso rápido nuevamente hacia el intervalo normal, a medida que la insulina producía su efecto. Se esperaba que los sujetos no diabéticos presentasen los perfiles de prueba de tolerancia a la glucosa estándar, mostrando típicamente un máximo en las concentraciones de glucosa sanguínea entre 150 mg/dl y 220 mg/dl entre 45 minutos y 90 minutos después de administrar la sobrecarga de glucosa, y luego un descenso rápido de nuevo hasta sus concentraciones basales normales durante la siguiente hora más o menos.

45 (g) Después de la administración de la sobrecarga de glucosa o de la sobrecarga de glucosa y la inyección de insulina, se extrajeron simultáneamente de los sujetos las muestras de ISF y sangre total de pinchazo de dedo a intervalos de cinco minutos durante las siguientes tres a cuatro horas. El muestreo terminó cuando las concentraciones de glucosa sanguíneas en tres muestras sucesivas indicaban que la glucosa del sujeto se había estabilizado. Después del examen de los datos, fueron evidentes varias características. En particular, para cualquier lote específico de tiras de prueba ELITE, existe una desviación marcada en la salida mostrada en el glucómetro en mg/dl de glucosa, comparada con la concentración indicada en la sangre. Se podría esperar una lectura elevada, debido a la carencia de hematocrito en el ISF y a las diferencias normales en las concentraciones de electrolitos entre el ISF y la sangre completa. Independientemente de las razones subyacentes a esta desviación en la salida, se determinó a través de comparación con una prueba de referencia, que las concentraciones de glucosa del ISF están relacionadas linealmente con los valores producidos por el sistema ELITE, con los coeficientes de escala constantes para cualquier lote específico de tiras ELITE. Consecuentemente, para la comparación de las concentraciones de glucosa del ISF frente a las mediciones de sangre completa, se aplicó una corrección lineal de primer orden a los datos del ISF, como sigue:

$$\text{ISFglucosa} = 0,606 * \text{ISFELITE} + 19,5.$$

Esta reducción a escala de la salida del glucómetro ELITE, cuando se usa para medir las concentraciones de glucosa del ISF, permite examinar, a través del conjunto completo de datos, los factores de error asociados con el

uso del ISF para estimar las concentraciones de glucosa sanguínea. Por supuesto, incluso sin ninguna reducción a escala lineal en absoluto, las correlaciones entre los valores de glucosa del ISF y las concentraciones de glucosa sanguínea son las mismas que en la versión reducida a escala.

5 Basándose en la mayoría del conjunto de literatura publicada sobre el objeto de glucosa del ISF, así como en datos preliminares, se esperaba originalmente observar un retraso de 15 a 20 minutos entre las concentraciones de glucosa del ISF y las presentadas en la sangre completa procedente de un pinchazo del dedo. Esto no es lo que mostraron los datos cuando se analizaron. Específicamente, cuando el conjunto de datos de cada individuo se analiza para determinar la desviación temporal requerida para conseguir la correlación máxima entre las concentraciones de glucosa del ISF y las concentraciones de glucosa sanguínea, se descubrió que el peor caso de retraso temporal para este conjunto de sujetos era sólo de 13 minutos, y el tiempo promedio de retraso era sólo de 6,2 minutos, con varios sujetos que mostraban un ajuste temporal que era casi instantáneo (aproximadamente 1 minuto).

15 Basándose en la cantidad mínima de retraso observada en este conjunto de datos, el gráfico mostrado en la Fig. 25 presenta las diez pruebas de sobrecarga de glucosa, concatenadas una tras otra en una escala de tiempo extendida. Los datos se presentan sin ninguna desviación temporal en absoluto, mostrando el elevado nivel de ajuste entre las concentraciones de glucosa del ISF y de la sangre, tratándose el conjunto completo de datos clínicos exactamente de la misma manera. Si el conjunto completo de datos se desvía en su totalidad para encontrar la mejor estimación temporal, la correlación entre las concentraciones de glucosa del ISF y de la sangre alcanza el máximo con un retraso de dos (2) minutos a un valor r de $r=0,97$. Esta es sólo una mejora trivial de la correlación no desviada $r=0,964$. Por tanto, para el resto del análisis, los valores del ISF se tratan sin imponer sobre los mismos una desviación temporal. Es decir, cada conjunto de concentraciones de glucosa sanguínea y del ISF se trata como pares de datos recolectados simultáneamente.

25 Una vez que las lecturas del ISF de ELITE no desviadas se habían reducido a escala para reflejar la glucosa proporcional presente en el ISF, fue posible examinar el error asociado con estos datos. El método más simple para ello es asumir que el promedio de las dos lecturas de glucosa sanguínea de pinchazo del dedo es, de hecho, el valor absolutamente correcto y, a continuación, comparar meramente los valores del ISF reducidos a escala con estos valores de glucosa sanguínea promedio. Estos datos son como sigue: desviación estándar sangre-ISF, 13,4 mg/dl; coeficiente de varianza de ISF, 9,7%; desviación estándar de los dos ELITES, 8,3 mg/dl; y coeficiente de varianza de la sangre (Miles), 6%.

30 Como muestran estos datos, la medición basada en la sangre ya contiene un factor de error. En efecto, los datos de funcionamiento del fabricante indican que el sistema ELITE tiene un coeficiente de varianza nominal (CV) de entre 5% y 7%, dependiendo de las concentraciones de glucosa y de la cantidad de hematocrito en la sangre.

35 Un vistazo adicional al factor diferencial entre la glucosa del ISF y la glucosa sanguínea se muestra en forma de un gráfico de dispersión en la Fig. 26. En esta figura, se muestran también para referencia los límites superior e inferior del intervalo de confianza del 90%. Es interesante destacar que, con sólo dos excepciones, todos los datos en el intervalo de concentraciones de glucosa sanguínea inferiores a 100 mg/dl se incluyen entre estos topes de error del intervalo de confianza del 90%. Esto es importante, ya que las consecuencias de pasar por alto una tendencia hacia la hipoglucemia serían muy significativas para el usuario diabético. Es decir, sería mucho mejor predecir por defecto las concentraciones de glucosa entre 40 y 120 mg/dl, que predecirlas por exceso.

40 Esencialmente, si uno asume que el error de la prueba básica cuando se usa el sistema ELITE sobre el ISF, es comparable con el error de la prueba asociado con el uso de ELITE sobre sangre completa, entonces la desviación de la glucosa del ISF respecto a la glucosa sanguínea, se puede describir como:

$$\text{ISFdesviación} = [(\text{ISFreal})^2 - (\text{ISFreal})^2]^{1/2}.$$

45 Aplicando esta ecuación a los valores mostrados anteriormente, uno puede resolver el valor "verdadero" estimado del factor de error del ISF:

$$\text{ISFreal} = [(\text{ISFdesviación})^2 - (\text{sanguíneo})^2]^{1/2}.$$

O, resolviendo la ecuación,

$$\text{ISFreal} = [(13,4)^2 - (8,3)^2]^{1/2} = 10,5 \text{ mg/dl}$$

50 En la Fig. 27 se muestra un histograma de la desviación relativa de las concentraciones de glucosa del ISF respecto a las sanguíneas.

Suministro de fármacos a través de poros en el estrato córneo

La presente invención también incluye un método para el suministro de fármacos, incluyendo fármacos actualmente suministrados transdermicamente, a través de microporos en el estrato córneo. En una realización ilustrativa, el suministro se consigue colocando la solución en un recipiente sobre la zona de poración. En otra realización

ilustrativa, se usa un gradiente de presión para incrementar más el suministro. En otra realización ilustrativa, se usa energía sónica con o sin gradiente de presión, para incrementar más el suministro. La energía sónica se puede aplicar según los parámetros transdérmicos tradicionales, o utilizando efectos de flujo acústico, que se describirán momentáneamente, para impulsar la solución de suministro a través del estrato córneo en el que se han formado poros.

Ejemplo 15

Este ejemplo muestra el uso de poración en el estrato córneo para el suministro de lidocaína, un analgésico tópico. La solución de lidocaína contenía también una formulación potenciadora de la permeación química, diseñada para incrementar su difusión pasiva a través del estrato córneo. En la Fig. 28 se muestra un plano de un aparato de suministro ilustrativo 300, en el que el aparato comprende una carcasa 304 que incluye un depósito 308 para albergar una solución que contiene el fármaco 312. La parte superior de la carcasa comprende un transductor ultrasónico 316 para proporcionar energía sónica destinada a ayudar al transporte de la solución que contiene el fármaco a través de los microporos 320, hacia el interior del estrato córneo 324. Una salida 328 en el transductor ultrasónico permite la aplicación de presión al mismo para ayudar más al transporte de la solución que contiene el fármaco a través de los microporos en el estrato córneo. El aparato de suministro se aplica a un área seleccionada de la piel de un individuo, de forma que se coloca sobre al menos uno, y preferiblemente una pluralidad, de microporos. Una capa adhesiva 332, unida a una parte inferior de la carcasa, permite al aparato adherirse a la piel, de forma que la solución que contiene fármaco albergada en el depósito, está en comunicación líquida con los microporos. El suministro del fármaco a través de los microporos produce el transporte hacia el interior de la epidermis 336 y la dermis 340 subyacentes.

Se analizaron cinco sujetos para la efectividad del suministro del fármaco, usando poración junto con ultrasonidos. El experimento utilizó dos zonas sobre el antebrazo izquierdo de los sujetos, separadas entre sí aproximadamente tres pulgadas, a igual distancia entre el pulgar y el brazo. La zona cercana al pulgar se denominará zona 1, y la zona más lejana al pulgar se denominará zona 2. La zona 1 se usó como control en el que se aplicaron la solución de lidocaína y potenciador usando un aparato de suministro idéntico 300, pero sin ninguna microporación del estrato córneo ni energía sónica. En la zona 2 se formaron poros con 24 orificios separados entre sí por 0,8 milímetros en una rejilla contenida en un círculo de 1 cm de diámetro. Los microporos en la zona 2 se produjeron según el procedimiento del Ejemplo 6. Se aplicaron lidocaína y ultrasonidos de nivel bajo. Las aplicaciones de ultrasonidos se realizaron con un sistema transductor ultrasónico Zevox fabricado a medida, fijado en modo de ráfagas con entradas de 0,4 voltios entre máximo y máximo, produciéndose un recuento de 1000 ráfagas a 10 Hz con una frecuencia fundamental de 65,4 kHz, es decir, una señal modulada de pulso con el transductor activado para ráfagas de 15 milisegundos, y luego apagado para los siguientes 85 milisegundos. La salida medida del amplificador al transductor fue de 0,090 vatios RMS.

Tras la aplicación de la lidocaína, se realizaron mediciones de sensación friccionando un hilo de calibre 30 a lo largo de la zona de prueba. Se ejecutaron experimentos en ambas zonas, en la zona 1 durante intervalos de 10 a 12 minutos de duración, y en la zona 2 durante dos intervalos de 5 minutos de duración, aplicados serialmente a la misma zona. Ambas zonas se valoraron para entumecimiento, usando una escala de 10 a 0, en la que 10 indicaba ningún entumecimiento y 0 indicaba entumecimiento completo, según se describía por los sujetos analizados. El siguiente resumen de resultados es para los 5 sujetos.

La zona de control, zona 1, presentó escaso a ningún entumecimiento (escala de 7 a 10) entre 10 y 12 minutos. Aproximadamente a los 20 minutos se observó algún entumecimiento (escala 3) en la zona 1, a medida que la solución permeaba completamente el estrato córneo. La zona 1 se limpió una vez completada la aplicación de lidocaína. La zona 2 presentó un entumecimiento prácticamente completo (escala de 0 a 1) en el círculo de 1 cm que contenía las poraciones. En el exterior del círculo de 1 cm de diámetro, el entumecimiento descendió casi linealmente hasta 1 en un círculo de 2,5 cm de diámetro, sin ningún entumecimiento fuera del círculo de 2,5 cm de diámetro. La valoración de la zona 2 después de la segunda aplicación produjo un círculo ligeramente mayor totalmente entumecido de aproximadamente 1,2 cm de diámetro, descendiendo el entumecimiento linealmente hasta 1 en un patrón oval irregular con un diámetro de 2 a 2,5 cm, perpendicular al antebrazo, y un diámetro de 2 a 6 cm paralelo al antebrazo. En el exterior del área no se percibía ningún entumecimiento. En las Figs. 29A-C, se muestra una representación gráfica de resultados ilustrativos obtenidos en un sujeto típico. Las Figs. 29A y 29B muestran los resultados obtenidos en la zona 2 (con poración) después de 5 y 10 minutos, respectivamente. La Fig. 29C muestra los resultados obtenidos en la zona 1 (control sin poración).

Energía sónica y potenciadores para incrementar el flujo transdérmico

Se puede utilizar la física de los campos de energía sónica creados por transductores sónicos en un método mediante el cual se puede modular la frecuencia sónica, para mejorar las velocidades de flujo conseguidas mediante otros métodos. Según se muestra en la Fig. 1 de la patente de EE.UU. N° 5.445.611, la distribución de energía de un transductor sónico, se puede dividir en campos cercanos y lejanos. El campo cercano, caracterizado por la longitud N, es la zona desde el primer mínimo de energía hasta el último máximo de energía. La zona distal respecto al último máximo es el campo lejano. El patrón del campo cercano (N) está dominado por un gran número de valores máximos y nulos de presión local muy próximos. La longitud de la zona del campo cercano, N, es una función de la

frecuencia, tamaño y forma de la cara del transductor, y la velocidad del sonido en el medio a través del que viaja el ultrasonido. Para un transductor individual, las variaciones de intensidad en su intervalo de funcionamiento normal, no afectan a la naturaleza de la distribución de la energía sónica más que de forma lineal. Sin embargo, para un sistema con transductores múltiples, todos modulados tanto en frecuencia como en amplitud, las intensidades relativas de los transductores separados afectan a la distribución de energía en el medio sónico, independientemente de que sea piel u otro medio.

Cambiando la frecuencia de la energía sónica en una cantidad pequeña, por ejemplo en el intervalo de aproximadamente 1 a 20%, el patrón de valores máximos y nulos permanece relativamente constante, pero la longitud λ de la zona del campo cercano cambia en proporción directa a la frecuencia. Cambios mayores de la frecuencia, es decir un factor de 2 o más, producirán lo más probablemente un conjunto diferente de resonancias o modos vibracionales en el transductor, produciendo un patrón de energía del campo cercano significativa e impredeciblemente diferente. Por tanto, con un cambio pequeño en la frecuencia sónica, el patrón complejo de valores máximos y nulos se comprime o expande de forma similar a un acordeón. Seleccionando la dirección de la modulación de frecuencia, se puede controlar la dirección de desviación de estos valores máximos de presión local. Aplicando energía sónica a la superficie de la piel, la modulación selectiva de la frecuencia sónica controla el movimiento de estos valores máximos de presión local a través de la piel, bien hacia el interior del cuerpo o hacia la superficie del cuerpo. Una modulación de frecuencia de elevada a baja conduce los valores máximos de presión hacia el interior del cuerpo, mientras que una modulación de frecuencia de baja a elevada impulsa los valores máximos de presión desde el interior del cuerpo hacia la superficie y a través de la piel hasta el exterior del cuerpo.

Asumiendo parámetros típicos para esta aplicación de, por ejemplo, un transductor sónico de 1,27 cm de diámetro, una frecuencia de funcionamiento nominal de 10 MHz, y una impedancia acústica similar a la del agua, una modulación de frecuencia de 1 MHz produce un movimiento de aproximadamente 2,5 mm de los valores máximos y nulos del patrón de energía del campo cercano en las proximidades del estrato córneo. Desde la perspectiva de extracción transdérmica y/o transmucosa de analitos, este grado de acción proporciona acceso al área muy por debajo del estrato córneo, e incluso de la epidermis, dermis, y otros tejidos por debajo de los mismos. Para cualquier transductor determinado, puede existir un intervalo óptimo de frecuencias en el que esta modulación de frecuencias tiene la máxima efectividad.

El flujo de un fármaco o analito a través de la piel se puede incrementar también cambiando, bien la resistencia (el coeficiente de difusión) o la fuerza directriz (el gradiente de difusión). El flujo se puede incrementar mediante el uso de los denominados potenciadores de penetración o químicos.

Los potenciadores químicos comprenden dos categorías principales de componentes, es decir, compuestos disgregadores de la envuelta y disolventes o sistemas binarios que contienen tanto compuestos disgregadores de la envuelta celular, como disolventes.

Los compuestos disgregadores de la envuelta celular se conocen en la técnica por ser útiles en preparaciones farmacéuticas tópicas y funcionan también en la extracción de analitos a través de la piel. Se piensa que estos compuestos ayudan a la penetración en la piel disgregando la estructura lipídica de las envueltas celulares del estrato córneo. En la solicitud de patente europea 43.738, publicada el 13 de junio de 1982, se describe una lista completa de estos compuestos. Se cree que cualquier compuesto disgregador de la envuelta celular es útil para los propósitos de esta invención.

Disolventes adecuados incluyen agua; dioles, como propilenglicol y glicerol; mono-alcoholes, como etanol, propanol y alcoholes superiores; DMSO; dimetil-formamida; N,N-dimetil-acetamida; 2-pirrolidona; N-(2-hidroxi-etil) pirrolidona, N-metil-pirrolidona, 1-dodecil-aza-cicloheptan-2-ona y otras alquil-aza-cicloalquil-2-onas (azonas) n-sustituidas y análogos.

La patente de EE.UU. 4.537.776, de Cooper, concedida el 27 de agosto de 1985, contiene un excelente compendio de la técnica previa e información de antecedentes que detalla el uso de ciertos sistemas binarios para el incremento de permeante.

De forma similar, la solicitud de patente europea 43.738, a la que se hizo referencia anteriormente, enseña a usar dioles seleccionados como disolventes junto con una categoría amplia de compuestos disgregadores de la envuelta celular, para el suministro de compuestos lipófilos, farmacológicamente activos.

En la solicitud de patente inglesa GB 2.153.223 A, publicada el 21 de agosto de 1985, se describe un sistema binario para incrementar la penetración de metoclopramida, que consiste en un éster de alcohol monovalente de un ácido alifático monocarboxílico C8-32 (insaturado y/o ramificado si es C18-32) o un monoalcohol alifático C6-24 (insaturado y/o ramificado si es C14-24) y un compuesto N-cíclico como 2-pirrolidona, N-metil-pirrolidona y análogos.

En la patente de EE.UU. 4.973.468, se describen combinaciones de potenciadores que consisten en éter monoetílico o monometílico de dietilen-glicol con monolaurato y metil-laurato de propilen-glicol, que incrementan el suministro transdérmico de esteroides, como progesteronas y estrógenos. En la patente de EE.UU. 4.820.720, se muestra un potenciador dual que consiste en monolaurato de glicerol y etanol, para el suministro transdérmico de fármacos. La patente de EE.UU. 5.006.342, enumera numerosos potenciadores para la administración transdérmica de fármacos,

consistentes en ésteres de ácidos grasos o éteres de alcoholes grasos de alcanodiolos C2 a C4, en los que cada porción de ácido graso/alcohol del éster/éter es de aproximadamente 8 a 22 átomos de carbono. La patente de EE.UU. 4.863.970, muestra composiciones potenciadoras de penetración para aplicación tópica, que comprenden un permeante activo contenido en un vehículo potenciador de penetración, que contiene cantidades específicas de uno o más compuestos disgregadores de la envuelta celular, como ácido oleico, alcohol oleílico, y ésteres de glicerol de ácido oleico; un alcohol C2 o C3 y un diluyente inerte, como agua.

Otros potenciadores químicos, no asociados necesariamente con sistemas binarios, incluyen DMSO o soluciones acuosas de DMSO, como se enseña en la patente de EE.UU. 3.551.554 de Herschler; patente de EE.UU. 3.711.602 de Herschler y patente de EE.UU. 3.711.606 de Herschler, y las azonas (alquil-aza-cicloalquil-2-onas n-sustituidas), como se destacó en la patente de EE.UU. 4.557.943 de Cooper.

Algunos sistemas potenciadores químicos pueden poseer efectos secundarios negativos, como toxicidad e irritación cutánea. La patente de EE.UU. 4.855.298, describe composiciones para reducir la irritación cutánea producida por composiciones que contienen un potenciador químico que tienen propiedades de irritación cutánea, con una cantidad suficiente de glicerina para proporcionar un efecto antiirritativo.

Debido a que la combinación de la microporación del estrato córneo y la aplicación de energía sónica, acompañada por el uso de potenciadores químicos, puede producir una velocidad incrementada de extracción de analitos o suministro de permeante a través del estrato córneo, el vehículo de transporte específico y particularmente el potenciador químico utilizado, se pueden seleccionar de una larga lista de vehículos de la técnica previa, algunos de los cuales se mencionaron anteriormente. No se piensa que sea necesario detallar o enumerar específicamente lo que está disponible fácilmente en la técnica. La invención no se dirige al uso de potenciadores químicos en sí, y se cree que todos los potenciadores químicos, útiles en el suministro de fármacos a través de la piel, funcionarán con colorantes en la microporación óptica, y también con energía sónica para efectuar una extracción mensurable de analitos desde debajo y a través de la superficie de la piel, o el suministro de fármacos a través de la superficie de la piel.

Ejemplo 16

Se analizaron la energía sónica modulada y los potenciadores químicos para su capacidad de controlar el flujo transdérmico sobre muestras de piel de cadáveres humanos. En estas pruebas, la membrana epidérmica se había separado de la piel completa del cadáver mediante el método de separación térmica del Ejemplo 1. La membrana epidérmica se cortó y colocó entre las dos mitades de la célula de permeación, con el estrato córneo enfrentado al compartimiento superior (donador) o al compartimiento inferior (receptor). Se usaron células de Franz modificadas para contener la epidermis, según se muestra en la Fig. 2 de la patente de EE.UU. Nº 5.445.611. Cada célula de Franz consiste en una cámara superior y una cámara inferior que se mantienen juntas mediante una o más mordazas. La cámara inferior tiene una entrada de muestreo a través de la que se añaden o eliminan los materiales. Cuando las cámaras superior e inferior se fijan entre sí, una muestra de estrato córneo se mantiene entre las mismas. La cámara superior de cada célula de Franz se modifica para permitir la colocación de un transductor de ultrasonidos en 1 cm de la membrana del estrato córneo. Se usó una solución de azul de metileno como molécula indicadora para valorar la permeación del estrato córneo. Se obtuvo un registro visual de cada experimento en una banda magnética con el tiempo grabado, con una cámara de vídeo y una grabadora de videocasete (no mostradas). Adicionalmente, se extrajeron muestras para medición con un espectrómetro de absorción, para cuantificar la cantidad de colorante que había atravesado la membrana del estrato córneo durante un experimento. Los potenciadores químicos adecuados para el uso podrían variar entre un amplio intervalo de disolventes y/o compuestos disgregadores de la envuelta celular, según se indicó anteriormente. El potenciador específico utilizado fue: etanol/glicerol/agua/monooleato de glicerol/metil-laurato, en proporciones de volumen 50/30/15/2,5/2,5. El sistema para producir y controlar la energía sónica incluía un generador de formas de onda aleatorias (Standford Research Systems modelo DS345), un amplificador de 0,30 MHz y 20 vatios, y dos transductores de inmersión de ultrasonidos no enfocados que tenían resonancias máximas a 15 y 25 MHz, respectivamente. Se prepararon seis células simultáneamente para probar las muestras de estrato córneo del mismo donador. Una vez instaladas las muestras de estrato córneo, se dejaron hidratar con agua destilada durante al menos 6 horas, antes de realizar cualquier prueba.

Ejemplo 17

Efectos de la energía sónica sin potenciadores químicos

Según se indicó anteriormente en el Ejemplo 16, la epidermis separada por calor se colocó en las células de Franz con la cara epidérmica hacia arriba, y la cara del estrato córneo hacia abajo, a menos que se indique otra cosa. Las cámaras inferiores se rellenaron con agua destilada, mientras que las cámaras superiores se rellenaron con solución concentrada de azul de metileno en agua destilada.

Epidermis separada por calor: Inmediatamente después de rellenar las cámaras superiores con solución de azul de metileno, se aplicó energía sónica a una de las células con el transductor sumergido totalmente. Esta orientación correspondería, por ejemplo, a tener el transductor en la cara opuesta de un pliegue de piel, o hacer que la energía

sónica se reflejase hacia el exterior de una placa reflectora colocada de forma similar y usada para “impulsar” el analito fuera de la otra cara del pliegue hacia el interior de un dispositivo de recogida. Las características de regulación de energía sónica se fijaron inicialmente a la frecuencia de funcionamiento nominal de 25 MHz, con una intensidad equivalente a una forma de onda de entrada de 20 voltios entre máximo y máximo (P-P). Esto corresponde aproximadamente a 1 vatio de potencia de entrada promedio al transductor y, de forma similar, asumiendo el valor nominal del fabricante para una eficiencia de conversión de 1% para este transductor particular, una potencia de salida sónica de alrededor de 0,01 vatios sobre la superficie de 0,78 cm² del área activa, o una intensidad sónica de 0,13 vatios/cm². A otras tres células de control distintas no se les aplicaba energía sónica. Después de 5 minutos se desconectaba la energía sónica. No se observó ninguna indicación visual de flujo de colorante a través del estrato córneo durante este intervalo en ninguna de las células, indicando niveles inferiores a aproximadamente 0,0015% (v/v) de solución de colorante, en 2 ml de medio receptor.

El análisis de estas mismas 3 células de control y 1 célula experimental continuó como sigue. La intensidad de energía sónica se incrementó hasta la salida máxima posible disponible del equipo director de una entrada de 70 voltios entre pico y pico, entrada de potencia promedio de 12 vatios o (0,13 vatios/cm² de intensidad de salida sónica). Asimismo, la frecuencia se fijó para modular o barrer de 30 MHz a 10 MHz. Este barrido de 20 MHz se realizó diez veces por segundo, es decir, una velocidad de barrido de 10 Hz. A estos niveles de potencia de entrada, era necesario controlar el transductor de energía sónica para evitar el sobrecalentamiento. Se aplicó un termopar de contacto al cuerpo del transductor, y la potencia se sometió a ciclos de encendido y apagado para mantener la temperatura máxima del transductor por debajo de 42°C. después de aproximadamente 30 minutos de funcionamiento cíclico a una potencia máxima, a un ciclo de funcionamiento de aproximadamente 50%, 1 minuto encendido y 1 minuto apagado, no había aun ninguna permeación detectable del estrato córneo por el colorante azul de metileno.

A continuación, se fijó al transductor de energía sónica un revestimiento de agua refrigerante para permitir una activación extendida al nivel de energía máxima. Usando los mismos 3 controles y 1 célula experimental, se aplicó energía sónica a una potencia máxima durante 12 horas a la célula experimental. Durante este tiempo, la temperatura del fluido en la cámara superior aumentó sólo hasta 35°C, sólo ligeramente por encima de los aproximadamente 31°C de temperatura normal del estrato córneo in vivo. No se observó ninguna evidencia visual aparente de flujo de colorante a través del estrato córneo en ninguna de las cuatro células, tras 12 horas de energía sónica aplicada según se describió anteriormente.

Ejemplo 18

Efectos de la energía sónica sin potenciadores químicos

Estrato córneo perforado: Se prepararon seis células, según se describió anteriormente en el Ejemplo 16. Las mordazas que sujetaban las cámaras superior e inferior de las células de Franz se apretaron más de la medida requerida para sellar normalmente el compartimiento superior del compartimiento inferior, y hasta el punto de introducir artificialmente perforaciones y poros en las muestras epidérmicas separadas por calor. Cuando la solución de colorante se añadió a la cámara superior de cada célula, se produjeron inmediatamente indicaciones de escape de colorante en las cámaras inferiores, a través de las perforaciones formadas en el estrato córneo. Tras la aplicación de energía sónica a las células en las que se había perforado de esta forma el estrato córneo con pequeños poros, se observó un rápido incremento en el transporte de fluido a través de un poro en el estrato córneo. La velocidad de transporte de las moléculas de colorante indicador estaba directamente relacionada con la aplicación o no de energía sónica. Es decir, la aplicación de energía sónica causaba un pulso inmediato (tiempo de retraso aproximadamente <0,1 segundos) de las moléculas indicadoras a través de los poros en el estrato córneo. Este pulso de moléculas indicadoras cesaba inmediatamente después de desconectar la energía sónica (un retraso de apagado de aproximadamente < 0,1 segundos). El pulso se podría repetir según se describió.

Ejemplo 19

Efectos de la energía sónica y los potenciadores químicos

Se usaron dos formulaciones de potenciadores químicos diferentes. El potenciador químico uno o CE1 era una mezcla de etanol/glicerol/agua/monooleato de glicerol/laurato de metilo en las proporciones de volumen 50/30/15/2,5/2,5. Estos son componentes generalmente considerados como seguros, es decir, GRAS, por la FDA, para uso como excipientes farmacéuticos. El potenciador químico dos o CE2 es una formulación experimental que se demuestra que es muy efectiva para incrementar el suministro transdérmico de fármacos, pero considerado generalmente muy irritante para aplicaciones de suministro transdérmico a largo plazo. CE2 contenía etanol/glicerol/agua/lauradona/laurato de metilo en las proporciones de volumen 50/30/15/2,5/2,5. La lauradona es el éster laurílico (dodecilo) del ácido 2-pirrolidona-5-carboxílico (“PCA”) y se denomina también lauril-PCA.

Se prepararon seis células de Franz como anteriormente (Ejemplo 16), salvo porque la epidermis separada por calor se instaló con la capa epidérmica hacia abajo, es decir, la cara del estrato córneo hacia arriba. La hidratación se estableció exponiendo cada muestra a agua destilada durante la noche. Para empezar el experimento, el agua destilada en las cámaras inferiores se reemplazó con solución de colorante azul de metileno en las seis células. Las

5 cámaras superiores se rellenaron con agua destilada y las células se observaron durante aproximadamente 30 minutos, confirmando que no había ningún paso de colorante, para asegurar que no había ninguna perforación de poro en ninguna de las células. Cuando no se encontró ninguna, el agua destilada de las cámaras superiores se extrajo de cuatro de las células. Las otras dos células servían como controles de agua destilada. Las cámaras superiores de dos de las células experimentales se rellenaron a continuación con CE1 y las otras dos células experimentales se rellenaron con CE2.

10 La energía sónica se aplicó inmediatamente a una de las dos células CE2. Se usó un transductor de 25 MHz con una frecuencia que barría cada 0,1 segundos de 10 MHz a 30 MHz, a una intensidad máxima de 0,13 vatios/cm². Después de aplicar 10-15 minutos de energía sónica a un ciclo de funcionamiento de 50%, se detectó visualmente el flujo de colorante. No se detectó flujo de colorante en las otras cinco células.

A continuación se aplicó energía sónica a una de las dos células que contenían CE1 con las mismas características de regulación. El colorante comenzó a aparecer en la cámara superior en 5 minutos. Por tanto, la energía sónica junto con un potenciador químico, incrementaba significativamente la velocidad de flujo transdérmico de un colorante marcador a través del estrato córneo, reduciendo asimismo el tiempo de retraso.

15 Ejemplo 20

Efectos de la energía sónica y los potenciadores químicos

20 Se prepararon formulaciones de los dos potenciadores químicos, CE1 y CE2, menos la glicerina, y estas nuevas formulaciones, denominadas CE1MG y CE2MG, se probaron como anteriormente. El agua se sustituyó por glicerina, de forma que las proporciones de los otros componentes permanecieron invariables. Se prepararon tres células de Franz modificadas con la cara epidérmica de las muestras de epidermis separada por calor hacia la cara superior de las cámaras. Estas muestras se hidrataron luego en agua destilada durante 8 horas. Después de la etapa de hidratación, el agua destilada en las cámaras superiores se reemplazó, bien con CE1MG o CE2MG, y la cámara superior se rellenoó con la solución de colorante. Se aplicó energía sónica a cada una de las tres células secuencialmente.

25 Tras la aplicación de energía sónica de frecuencia modulada, pulsada, durante una duración total inferior a 10 minutos, se observó un incremento significativo en la permeabilidad de las muestras de estrato córneo. La permeabilidad del estrato córneo se alteró de manera relativamente uniforme a través del área expuesta tanto al potenciador químico como a la energía sónica. No se observaron perforaciones en forma de poros a través de las que el colorante pudiese atravesar el estrato córneo. La velocidad de flujo transdérmico se podía controlar instantáneamente conectando o desconectando la energía sónica. La desconexión de la energía sónica parecía reducir instantáneamente la velocidad de flujo transdérmico, de forma que ningún colorante se transportaba activamente de forma visible a través de la muestra de piel; presumiblemente, la velocidad se reducía a la de la difusión pasiva. La conexión de la energía sónica de nuevo reanudaba instantáneamente la velocidad de flujo de nivel elevado. El modo modulado parecía proporcionar un incremento pulsátil regular en la velocidad de flujo transdérmico a la velocidad modulada. Cuando la energía sónica se fijaba a una frecuencia constante, el incremento máximo en la velocidad de flujo transdérmico para esta configuración parecía producirse a aproximadamente 27 MHz.

30 Habiendo obtenido los mismos resultados con las tres muestras, las células se drenaron a continuación de todos los fluidos y se lavaron con agua destilada sobre ambas caras del estrato córneo. Las cámaras inferiores se rellenaron a continuación inmediatamente con agua destilada, y las cámaras superiores se volvieron a rellenar con la solución de colorante. Las células se observaron durante 30 minutos. No se observaban orificios en las muestras de estrato córneo y no se detectaba una gran cantidad de colorante en las cámaras inferiores. Una pequeña cantidad de colorante se hizo visible en las cámaras inferiores, probablemente debido al colorante y potenciador atrapados en las muestras de piel, procedentes de sus exposiciones previas. Después de 12 horas adicionales, la cantidad de colorante detectada era todavía muy pequeña.

45 Ejemplo 21

Efectos de la energía sónica y los potenciadores químicos

50 Estrato córneo perforado: Se prepararon tres células con muestras de epidermis separada por calor con la cara epidérmica hacia la cara superior de la cámara, procedentes del mismo donador que en el Ejemplo 16. Las muestras se hidrataron durante 8 horas y luego se reemplazó el agua destilada en las cámaras inferiores, bien con CE1MG o CE2MG. Las cámaras superiores se rellenaron a continuación con la solución colorante. Las perforaciones en forma de poro en las muestras del estrato córneo permitieron al colorante filtrarse a través de las muestras de estrato córneo, hacia el interior de las cámaras subyacentes que contenían potenciador. Se aplicó energía sónica. Inmediatamente después de la aplicación de la energía sónica, las moléculas de colorante se impulsaron rápidamente a través de los poros. Según se mostró anteriormente, el flujo rápido de colorante a través de los poros se correlacionó directa e inmediatamente con la aplicación de la energía sónica.

Ejemplo 22

Efectos de la energía sónica y los potenciadores químicos

Se probó un transductor de energía sónica de bajo coste, TDK N° NB-58S-01 (TDK Corp.), en cuanto a su capacidad para incrementar las velocidades de flujo transdérmico. La respuesta máxima de este transductor se determinó que era aproximadamente 5,4 MHz, produciéndose otros máximos locales a aproximadamente 7 MHz, 9 MHz, 12,4 MHz y 16 MHz.

Este transductor TDK se probó a continuación a 5,4 MHz en cuanto a su capacidad para incrementar la velocidad de flujo transdérmico conjuntamente con CE1MG. Se prepararon tres células con la cara epidérmica hacia la cámara inferior, después se hidrataron las muestras de piel durante 8 horas. La solución colorante se colocó en la cámara inferior. El transductor se colocó en la cámara superior, sumergido en CE1MG. Usando frecuencias de barrido de 5,3 a 5,6 MHz como activación de energía sónica, se movieron cantidades significativas de colorante a través del estrato córneo y se detectaron en el pocillo de recogida de la célula en 5 minutos. Se produjo un calentamiento local, alcanzando el transductor una temperatura de 48°C. En un control que usaba CE1MG sin energía sónica, una exposición de 24 horas producía menos colorante en el pocillo de recogida, que una exposición de 5 minutos con energía sónica.

Este ejemplo demuestra que un transductor de energía sónica de bajo coste a frecuencia baja, puede afectar enormemente a la velocidad de flujo transdérmico, cuando se usa conjuntamente con un potenciador químico apropiado. Aunque una energía sónica de mayor frecuencia concentraría teóricamente más energía en el estrato córneo, cuando se usa con un potenciador químico la energía sónica modulada de frecuencia inferior puede acelerar la velocidad de flujo transdérmico, haciendo la tecnología útil y práctica.

Ejemplo 23

Demostración de la migración de moléculas a través de la piel humana: Se repitieron las pruebas con el transductor de TDK y CE1MG descritas anteriormente, a aproximadamente 12,4 MHz, uno de los máximos resonantes locales más elevados para el transductor, con un barrido de frecuencia a una velocidad de 2 Hz desde 12,5 a 12,8 MHz y una densidad de energía sónica inferior a 0,1 W/cm². La cara epidérmica de la epidermis separada por calor estaba hacia abajo, la solución de colorante estaba en la cámara inferior, y la solución potenciadora y la energía sónica se colocaban en la cámara superior. En 5 minutos, una cantidad significativa de colorante se había movido a través del estrato córneo hacia el interior del pocillo de recogida. El calentamiento óhmico en el transductor era significativamente inferior que cuando el mismo transductor se hacía funcionar a 5,4 MHz, produciendo un incremento en la temperatura del potenciador químico hasta sólo aproximadamente 33°C.

Incluso a estos niveles de eficiencia bajos, los resultados obtenidos con CE1MG y energía sónica procedente del transductor de TDK eran notables en la dirección de determinación. Las Figs. 3A y 3B de la patente de EE.UU. N° 5.445.611 muestran gráficos de datos obtenidos de tres células separadas con la velocidad de flujo medida en la dirección de determinación. Incluso en el punto temporal de 5 minutos, estaban presentes cantidades fácilmente medibles del colorante en el potenciador químico sobre el exterior del estrato córneo, indicando transporte desde la cara epidérmica a través del estrato córneo hasta el área "exterior" de la muestra de piel.

Para optimizar el uso de la energía sónica o del enfoque energía sónica/potenciador químico, para recoger y supervisar analitos del cuerpo, se requieren medios para analizar la cantidad de analito de interés. Un sistema de ensayo que realiza múltiples lecturas mientras que la unidad está en el proceso de extraer analitos mediante energía sónica, con o sin potenciadores químicos, hace innecesario estandarizar a través de una amplia población de base y normalizar para diferentes características de piel y velocidades de flujo. Representando gráficamente dos o más puntos de datos en el tiempo a medida que la concentración de analito en el sistema de recogida se va incrementando, se puede aplicar un algoritmo que se adapte a la curva para determinar los parámetros que describen la curva en relación con la extracción de analito o la velocidad de flujo hasta el punto en el que se alcanza el equilibrio, estableciendo así la medida de la concentración del intervalo. La forma general de esta curva es invariable de un individuo a otro; sólo cambian los parámetros. Una vez que se han establecido estos parámetros, la resolución para la solución del estado de equilibrio (es decir, el tiempo es igual a infinito) de esta función, es decir, cuando se ha establecido el equilibrio total, proporciona la concentración del analito en el cuerpo. Por tanto, este enfoque permite realizar mediciones hasta el nivel deseado de precisión en la misma cantidad de tiempo para todos los miembros de una población, independientemente de las variaciones individuales en la permeabilidad cutánea.

Existen actualmente varias técnicas de detección que son adaptables para esta aplicación. Véase, D.A. Christensen, en 1648 Proceedings of Fiber Optic, Medical and Fluorescent Sensors and Applications 223-26 (1992). Un método implica el uso de un par de fibras ópticas que se colocan juntas entre sí, de una manera aproximadamente paralela. Una de las fibras es una fibra fuente, a través de la que se conduce la energía lumínica. La otra fibra es una fibra de detección, conectada a un diodo fotosensible. Cuando se conduce luz a través de la fibra fuente, una parte de la energía lumínica, la onda evanescente, está presente en la superficie de la fibra, y una parte de esta energía lumínica se recoge por la fibra de detección. La fibra de detección conduce la energía de la onda evanescente capturada al diodo fotosensible, que la mide. Las fibras se tratan con un aglutinante, para atraer y unir el analito que

se va a medir. A medida que las moléculas de analito se unen a la superficie (p.ej. el analito de glucosa se une a las lectinas inmovilizadas, como concanavalina A, o a anticuerpos anti-glucosa inmovilizados), la cantidad de acoplamiento de onda evanescente entre las dos fibras cambia, y la cantidad de energía capturada por la fibras de detección y medida por el diodo también cambia. Varias mediciones de la energía de la onda evanescente detectada a lo largo de períodos de tiempo cortos, soportan una determinación rápida de los parámetros que describen la curva de equilibrio, haciendo posible así el cálculo de la concentración del analito en el cuerpo. Los resultados experimentales, que muestran un flujo medible en 5 minutos (Figs 3A y 3B de la patente de EE.UU. N° 5.445.611) con este sistema, sugieren que los datos suficientes para una lectura final precisa se recogen en 5 minutos.

En su realización más básica, se puede utilizar un dispositivo para la aplicación de energía sónica y recogida de analito, que comprende una almohadilla absorbente, bien de material natural o sintético, que sirve como depósito para el potenciador químico, si se usa, y para recibir el analito procedente de la superficie de la piel. La almohadilla o depósito se mantiene en su sitio, bien pasivamente o ayudado por medios de retención apropiados, como una tira o tira adhesiva, sobre el área seleccionada de la superficie de la piel.

Se coloca un transductor de energía sónica de forma que la almohadilla o depósito esté entre la superficie de la piel y el transductor, y se mantenga en su sitio mediante medios apropiados. Se acopla una fuente de potencia al transductor y se activa mediante medios de interruptor o mediante otros medios adecuados. El transductor se activa para suministrar energía sónica modulada en frecuencia, fase o intensidad, según se desee, para suministrar el potenciador químico, si se usa, desde el depósito a través de la superficie de la piel, seguido de recogida del analito desde la superficie de la piel al interior del depósito. Después del período de tiempo deseado, fijo o variable, el transductor se desactiva. La almohadilla o depósito, que ahora contiene el analito de interés, se puede eliminar para cuantificar el analito, por ejemplo, mediante un laboratorio que utiliza varios análisis químicos convencionales, o mediante un dispositivo portátil. Alternativamente, el mecanismo para cuantificar el analito se puede construir en el interior del dispositivo usado para la recogida del analito, bien como una parte integral del dispositivo o como un anexo. Los dispositivos para controlar un analito se describen en la patente de EE.UU. N° 5.458.140.

Ejemplo 24

Un método alternativo para la detección de un analito, como glucosa, tras la recogida de la muestra a través de la superficie de la piel en la que se han formado poros, según se describió anteriormente, se puede conseguir a través del uso de medios enzimáticos. Existen varios métodos para la medición de glucosa en una muestra biológica. Un método implica la oxidación de glucosa en la muestra con glucosa-oxidasa, para producir glucono-lactona y peróxido de hidrógeno. En presencia de un cromógeno incoloro, el peróxido de hidrógeno se convierte a continuación mediante peroxidasa, en agua y un producto coloreado.

Glucosa + glucosa-oxidasa → gluconolactona + H₂O₂

2H₂O₂ + cromógeno → H₂O + producto coloreado

La intensidad del producto coloreado será proporcional a la cantidad de glucosa en el fluido. Este color se puede determinar a través del uso de métodos convencionales de absorbancia o reflectancia. Mediante calibrado con concentraciones conocidas de glucosa, la cantidad de color se puede usar para determinar la concentración de glucosa en el analito recogido. Ensayando para determinar la relación, uno puede calcular la concentración de glucosa en la sangre del sujeto. Esta información se puede usar luego de la misma forma que la información obtenida de una prueba de glucosa procedente de un pinchazo en el dedo. Los resultados pueden estar disponibles en un tiempo de cinco a diez minutos.

Ejemplo 25

Cualquier sistema que use una representación visual o lectura de concentración de glucosa indicará a un especialista o paciente la necesidad de administración de insulina u otra medicación apropiada. En cuidados intensivos u otras situaciones en las que se desea un control constante y se necesita realizar acciones correctivas casi simultáneamente, el dispositivo de visualización se puede conectar con medios de señalización apropiados, que activan la administración de insulina u otra medicación de forma apropiada. Por ejemplo, existen bombas de insulina que se implantan en el peritoneo u otra cavidad corporal, que se pueden activar como respuesta a estímulos externos o internos. Alternativamente, utilizando las velocidades de flujo transdérmico incrementadas, posibles con la microporación del estrato córneo y otras técnicas descritas en esta invención, se podría aplicar un sistema de suministro de insulina transdérmico, con control de las velocidades de flujo moduladas mediante la señal procedente del sistema detector de glucosa. De esta forma, puede estar disponible un sistema de control biomédico completo, que no sólo controla y/o diagnostica una necesidad médica, sino que proporciona simultáneamente una acción correctiva.

Se podrían proporcionar sistemas de control biomédico de un tipo similar en otras situaciones, como mantener los equilibrios de electrolito correctos o administrar analgésicos como respuesta a un parámetro de analito medido, como las prostaglandinas.

Ejemplo 26

De forma similar al sonido audible, las ondas sónicas pueden sufrir reflexión, refracción y absorción cuando encuentran otro medio con propiedades diferentes [D. Bommannan et al., 9 Pharm. Res. 559 (1992)]. Los reflectores o lentes se pueden enfocar o controlar de otra manera la distribución de energía sónica en un tejido de interés. Para muchas localizaciones en el cuerpo humano, se puede encontrar un pliegue de carne que pueda soportar este sistema. Por ejemplo, un lóbulo de la oreja es una localización conveniente que permitiría el uso de un reflector o lente para ayudar a ejercer un control direccional (p.ej., "impulso" de analitos o permeantes a través del estrato córneo en el que se han formado poros), similar al que se realiza cambiando la frecuencia e intensidad sónicas.

Ejemplo 27

Se pueden usar múltiples transductores de energía sónica para dirigir selectivamente la dirección del flujo transdérmico a través del estrato córneo en el que se han formado poros, bien hacia el interior del cuerpo o desde el cuerpo. Un pliegue de la piel, como un lóbulo de la oreja permite que los transductores se localicen en sendas caras del pliegue. Los transductores se pueden activar selectivamente o en fase, para incrementar el flujo transdérmico en la dirección deseada. Se puede construir un conjunto de transductores o un circuito acústico para usar tipos de sistemas en fase, similares a aquellos desarrollados para sistemas de comunicación por radar y microondas, para dirigir y enfocar la energía sónica hacia el interior del área de interés

Ejemplo 28

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 19, con la excepción de que las muestras de epidermis separada por calor se tratan primero con un láser excímer (p.ej. modelo EMG/200 de Lambda Physik; 193 nm de longitud de onda, 14 ns de amplitud de pulso) para destruir el estrato córneo, según el procedimiento descrito en la patente de EE.UU. N° 4.775.361.

Ejemplo 29

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 19, con la excepción de que las muestras de epidermis separadas por calor se tratan primero con yoduro de 1,1'-dietil-4,4'-carbocianina (Aldrich, max = 703 nm) y luego se suministra un total de 70 mJ/cm²/50 ms a la muestra tratada con colorante, con un modelo de láser de diodo TOLD9150 (Toshiba America Electronic, 30 mW a 690 nm) para destruir el estrato córneo.

Ejemplo 30

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 29, con la excepción de que el colorante es verde de indocianina (Sigma, N° de catálogo I-2633; λ_{max} = 775 nm) y el láser es un modelo Diolite 800-50 (LiCONiX, 50 mW a 780 nm).

Ejemplo 31

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 29, con la excepción de que el colorante es azul de metileno y el láser es un modelo SDL-8630 (SDL Inc.; 500 mW a 670 nm).

Ejemplo 32

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 29, con la excepción de que el colorante está contenido en una solución que comprende un potenciador de permeación, p.ej. CE1.

Ejemplo 33

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 29, con la excepción de que se suministra al estrato córneo el colorante y una solución que contiene un potenciador, con ayuda de la exposición a ultrasonidos.

Ejemplo 34

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 31, con la excepción de que la fuente de luz pulsada es una lámpara de arco corto que emite a lo largo del amplio intervalo de 400 a 1100 nm, pero tiene un filtro de paso de banda colocado en el sistema para limitar la salida a la región de longitud de onda de aproximadamente 650 a 700 nm.

Ejemplo 35

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 19, con la excepción de que las muestras de epidermis separadas por calor se perforan primero con una microlanceta (Becton Dickinson) calibrada, para producir un microporo en el estrato córneo sin alcanzar al tejido subyacente.

Ejemplo 36

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 19, con la excepción de que las muestras de epidermis separadas por calor se tratan primero con energía sónica enfocada en el intervalo de 70-480 mJ/cm²/50 ms, para destruir el estrato córneo.

5 Ejemplo 37

En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 19, con la excepción de que el estrato córneo se perfora primero hidráulicamente con un chorro de fluido a alta presión, para formar un microporo de hasta aproximadamente 100 µm de diámetro.

Ejemplo 38

10 En este ejemplo, se sigue el procedimiento del Ejemplo 19, con la excepción de que el estrato córneo se perfora primero con pulsos cortos de electricidad para formar un microporo de hasta aproximadamente 100 µm de diámetro.

Ejemplo 39

Flujo acústico

15 Se describirá a continuación un nuevo mecanismo y aplicación de energía sónica en el suministro de sustancias terapéuticas al interior del cuerpo y/o la recogida de fluidos del interior del cuerpo en un depósito externo, a través de microporaciones formadas en el estrato córneo. Un aspecto adicional de esta invención es la utilización de energía sónica para crear un efecto de flujo acústico sobre los fluidos que fluyen alrededor y entre las células intactas en los tejidos viables por debajo de la capa externa de un organismo, como la epidermis y dermis de la piel humana. El flujo acústico es un modo bien documentado mediante el que la energía sónica puede interactuar con un medio fluido.

20 Nyborg, *Physical Acoustics Principles and Methods*, págs. 265-331, Vol II-parte B, Academic Press, 1965. El primer análisis teórico del fenómeno del flujo acústico lo proporcionó Rayleigh (1884, 1945). En un tratamiento extensivo del problema, Longuet-Higgins (1953-1960) ha proporcionado un resultado aplicable al flujo bidimensional, que produce la cuasi-adyacencia de cualquier superficie cilíndrica vibratoria. Nyborg (1958) desarrolló una aproximación tridimensional para una superficie arbitraria. Según se describió por Fairbanks et al., 1975 *Ultrasonics Symposium Proceedings*, IEEE, N° de catálogo 75, CHO 994-4SU, la energía sónica y los fenómenos de flujo acústico pueden ser de gran utilidad para acelerar el flujo de un fluido a través de un medio poroso, mostrando incrementos mensurables en las velocidades de flujo de hasta 50 veces respecto a las velocidades posibles pasivamente o aplicando sólo gradientes de presión.

30 Todos los esfuerzos previos de suministro transdérmico o extracción utilizando ultrasonidos, se han enfocado en métodos de interacción entre la energía sónica y los tejidos cutáneos, diseñados para permeabilizar la capa del estrato córneo. Se ha hipotetizado que el modo exacto de interacción implicado se debe exclusivamente a la elevación local de la temperatura en la capa SC y la fusión resultante de los dominios lipídicos en los espacios intercelulares entre los corneocitos. Srinivasan et al. Otros investigadores han sugerido que las microcavitaciones y/o el cizallamiento de las estructuras en el estrato córneo, abren canales a través de los que los fluidos pueden fluir más fácilmente. En general, el diseño de los sistemas sónicos para el incremento de las velocidades de flujo transdérmico, se ha basado en el descubrimiento temprano de que la aplicación de una unidad de ultrasonidos terapéuticos existente, diseñada para producir un efecto de "calentamiento profundo" sobre el sujeto, cuando se usa conjuntamente con una aplicación tópica de una preparación gelificada o líquida que contiene el fármaco a suministrar al interior del cuerpo, podría producir un incremento cuantificable en la velocidad de flujo del fármaco hacia el interior del cuerpo. En el contexto del método enseñado aquí para crear microporos en esta capa de barrera, el uso de energía sónica se puede considerar ahora en un sentido totalmente nuevo y diferente que los conceptos de sonoforesis definidos clásicamente.

45 Basándose en el descubrimiento experimental mencionado en las patentes de EE.UU. 5.458.140 y 5.445.611, de que cuando existía o se creaba un pequeño orificio en el estrato córneo (SC) en las células de Franz usadas en los estudios in vitro, la aplicación de un transductor ultrasónico dirigido de forma apropiada al depósito de fluido sobre cada cara de la muestra SC en la que se habían formado poros podía generar un suceso de "flujo acústico", en el que se podían bombear grandes velocidades de flujo de fluido a través de esta membrana en la que se habían formado poros.

50 Con el método enseñado aquí para crear microporaciones controladas en la capa de estrato córneo de la piel de un sujeto vivo, la aplicación del modo de flujo fluido de interacción fluido/energía sónica a la inducción de fluido hacia el interior o hacia el exterior del organismo se puede explorar ahora de forma práctica. Por ejemplo, estudios clínicos han demostrado que, haciendo una serie de microporos de 80 µm de diámetro en un cuadrado de 400 µm, y aplicando luego una succión suave (25-30 cm de Hg) a este área, se puede inducir aproximadamente a 1 µl de fluido intersticial, en promedio, a abandonar el cuerpo para la recogida en una cámara externa. Añadiendo un transductor sónico pequeño, de baja potencia a este sistema, configurado de forma que genere activamente ondas de presión circulares concéntricas convergentes hacia el interior en los 2 a 6 mm de tejido que rodea a la zona de poración, se ha demostrado que esta velocidad de flujo ISF se puede incrementar en un 50%.

Liberándonos del deseo de crear alguna forma de absorción directa de energía sónica en los tejidos cutáneos (como se requiere para producir calentamiento), se pueden determinar frecuencias de energía sónica para las que los tejidos cutáneos son virtualmente transparentes, es decir en la región de frecuencia muy baja de 1 kHz a 500 kHz. Incluso a algunas de las frecuencias inferiores ensayadas, se podían observar efectos de flujo acústico significativos, usando un microscopio para observar una prueba in vivo, en la que la piel del sujeto se sometía a microporación y el ISF se inducía a salir del cuerpo y se recogía sobre la superficie de la piel. La activación del transductor sónico mostraba indicaciones visuales considerables de la cantidad de flujo acústico, a medida que pequeños trozos de materia particulada se transportaban junto con el ISF, cuando éste se arremolinaba alrededor. La magnitud típica de movimiento presentado se puede describir como sigue: para un depósito circular de ISF de 3mm de diámetro sobre la superficie de la piel, se podía observar una partícula visual individual que completaba aproximadamente 3 órbitas completas por segundo. Esto se equipara a una velocidad de fluido lineal de más de 2,5 mm/segundo. Toda esta acción se demostraba con niveles de potencia sónica en los tejidos de menos de 100 mW/cm².

Aunque uno puede observar fácilmente la superficie superior de la piel y la actividad fluida sobre la misma, valorar lo que está sucediendo dinámicamente en el interior de las capas del tejido cutáneo en respuesta al acoplamiento de energía sónica al interior de estos tejidos, es mucho más difícil. Uno puede asumir que, si tales velocidades de fluido grandes (p.ej. >2,5 mm/s) se pueden inducir tan fácilmente sobre la superficie, entonces también se podría percibir algún incremento detectable en el flujo de fluido en los canales intercelulares presentes en los tejidos dérmicos viables, en respuesta a esta entrada de energía sónica. Actualmente, se ha cuantificado un incremento en el ISF recogido a través de un conjunto dado de microporaciones, cuando se aplicaba una energía sónica de frecuencia baja al área en un círculo que rodeaba las zonas de poración. En este experimento, se alternaba una técnica de recolección de ISF basada solamente en una succión suave (10 a 12 pulgadas de Hg), con el uso de exactamente el mismo aparato pero con el transductor sónico acoplado. Durante una serie de 10 períodos de recolección de dos minutos, cinco con mera succión y cinco con succión y energía sónica activa, se observaba que, activando la fuente de energía sónica, se podía recolectar aproximadamente 50% más de ISF durante el mismo período de tiempo. Estos datos se muestran en la Fig. 30. Este incremento en la velocidad de flujo de ISF se detectó sin un incremento descrito en la sensación procedente del sujeto ensayado, debido a la energía sónica. El aparato usado para este experimento se ilustra en Figs. 31-33. El sistema transductor de las Figs. 31-33 comprende un cilindro de pared gruesa de material piezoeléctrico, con un diámetro interno de aproximadamente 8 mm y un grosor de pared de 4 mm. El cilindro se ha polarizado de forma que, cuando se aplica un campo eléctrico a través de las superficies metalizadas del diámetro externo e interno, el grosor de la pared del cilindro se expande o contrae como respuesta a la polaridad del campo. En la práctica, esta configuración produce un dispositivo que comprime rápidamente el tejido que se ha succionado hacia el interior del orificio central, produciendo un efecto de flujo acústico radial hacia el interior sobre aquellos fluidos presentes en estos tejidos. Este flujo acústico hacia el interior es responsable de llevar más ISF a la localización de las microporaciones en el centro del orificio, donde puede abandonar el cuerpo para la recolección externa.

Se construyó y probó un dispositivo similar mostrado en Fig. 34A-B, y produjo resultados iniciales similares. En la versión de la Fig. 34A-B, se modificó un transductor ultrasónico construido por Zevex, Inc. Salt Lake City, Utah, añadiéndole una extensión espatulada a la bocina sónica. En el extremo espatulado de 0,5 mm de grosor de esta extensión se colocó un orificio de 4 mm. Cuando se activó, el principio de movimiento era longitudinal a lo largo de la longitud de la espátula, produciendo un movimiento rápido de vaivén. La perturbación física de la espátula metálica, producida por la colocación del orificio de 4 mm, producía un comportamiento de desplazamiento grande muy activo, pero caótico, en este punto. Durante el uso, la piel del sujeto se succionaba hacia el interior de este orificio, y la energía sónica se conducía al interior de la piel, de forma similar a la ilustrada en Fig. 33.

El aspecto nuevo de esta nueva aplicación de ultrasonidos reside en las siguientes áreas básicas:

1. Ya no se necesita que la función de la energía sónica este enfocada en la permeabilización de la membrana de la barrera del estrato córneo, según se enseñó por Langer, Kost, Bommannan y otros.
2. Se puede utilizar un sistema de frecuencia mucho más baja, que tiene una absorción muy escasa en los tejidos cutáneos, aunque puede crear aun el fenómeno de flujo fluido deseado en los pasadizos intercelulares, entre las células epidérmicas que contienen el fluido intersticial.
3. El modo de interacción con los tejidos y fluidos en su interior es el denominado modo "flujo", reconocido en la literatura sónica como un modo único y diferente de las interacciones vibratorias clásicas, capaces de cizallar las membranas celulares y acelerar el proceso de difusión pasiva.

Optimizando la configuración geométrica, frecuencia, potencia y modulaciones aplicadas al transductor sónico, se ha demostrado que se pueden conseguir incrementos significativos en el flujo de fluido a través de las zonas de la piel en las que se han formado poros. La optimización de estos parámetros se diseña para explotar las no linealidades que gobiernan las relaciones de flujo fluido en este medio a escala microscópica. Usando frecuencias inferiores a 200 kHz, se pueden observar grandes efectos fluidicos, sin ningún calentamiento detectable u otras interacciones de tejido negativas. Los niveles de potencia sónica requeridos para producir estos efectos mensurables son muy bajos, con niveles de potencia promedio típicamente inferiores a 100 milivatios/cm².

5 Por tanto, los ejemplos anteriores son representativos de sistemas que se pueden emplear en la utilización de ultrasonido o potenciadores químicos o de ultrasonido, en la recolección y cuantificación de analitos para propósitos diagnósticos y para el suministro transdérmico de permeantes. La invención está dirigida al descubrimiento de la poración del estrato córneo, seguido por el uso apropiado de ultrasonido, particularmente cuando está acompañado por el uso de potenciadores químicos, permite la determinación transdérmica no invasiva o mínimamente invasiva de analitos, o el suministro de permeantes. Sin embargo, la invención no se limita a las ilustraciones específicas. Hay numerosas técnicas de poración y sistemas potenciadores, algunos de los cuales pueden funcionar mejor que otros, para la detección y extracción de ciertos analitos o el suministro de permeantes a través del estrato córneo. Sin embargo, con las directrices presentadas aquí y un cierto grado de experimentación para obtener una poración 10 óptima, potenciadores, o tiempo óptimo e intensidad y frecuencia del ultrasonido aplicado, así como modulación de frecuencia, amplitud y fase del ultrasonido aplicado, se pueden llevar a cabo fácilmente por los expertos en la técnica. Por tanto, la invención está limitada en su alcance sólo por las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes funcionales.

REIVINDICACIONES

1. Un sistema para la ablación de la capa del estrato córneo de la piel de un organismo, que comprende:
 un medio (140) para la ablación de la piel (160) del organismo en un área seleccionada para formar al menos un microporo no transitorio, teniendo cada microporo un diámetro de 1-1000 µm y extendiéndose hasta la profundidad deseada, en donde el medio para la ablación es un medio para calentar un área seleccionada del estrato córneo con una fuente de calor para extirpar el estrato córneo, en donde la fuente de calor comprende un elemento sólido metálico (148) en comunicación operativa con un medio (156) para modular la temperatura de dicho elemento sólido metálico (148) entre un estado de temperatura elevada de al menos 123°C y un estado de temperatura reducida, y en donde, en el estado de temperatura elevada, dicho elemento sólido metálico transfiere conductivamente energía térmica a la piel para elevar suficientemente la temperatura de la piel debajo del elemento sólido metálico para extirpar una porción de la piel, y en donde, en el estado de temperatura reducida, dicho elemento sólido metálico transfiere menos energía térmica a la piel que lo que se requiere para extirpar la porción de piel.
2. El sistema de la reivindicación 1, que además comprende un depósito que contiene un permeante, siendo dimensionado dicho depósito para la colocación para cubrir la pluralidad de microporos formados, en donde, en uso, el permeante pasa fuera del depósito y al menos un microporo formado.
3. El sistema de las reivindicaciones 1 o 2, en donde la fuente de calor es dimensionada para limitar el contacto de la fuente de calor con la piel hasta un área que sea 1 -1000 µm de diámetro.
4. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, o 3, en donde, en el estado de temperatura elevada, la fuente de calor transfiere conductivamente energía térmica a la piel de tal manera que la temperatura de la superficie de la piel en el punto de contacto es mayor que 123°C.
5. El sistema de las reivindicaciones 1, 2 o 3, en donde, en el estado de temperatura reducida, la fuente de calor no transfiere conductivamente energía térmica a la piel de manera tal que la temperatura de la superficie de la piel en el punto de contacto es reducida hasta aproximadamente temperatura ambiente de la piel.
6. El sistema de la reivindicación 1, en donde la fuente de calor, en el estado de temperatura elevada, tiene una temperatura menor que 100°C cuando es colocada en contacto con la piel.
7. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, o 5, en donde la fuente de calor es ciclada a través de al menos uno o más ciclos de modulaciones de temperatura entre el estado de temperatura elevada y el estado de temperatura reducida.
8. El sistema de la reivindicación 7, en donde cada ciclo de las modulaciones de temperatura es menor que entre 30 a 80 milisegundos.
9. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5 o 7, en donde la superficie de contacto del elemento sólido metálico (148) es modulada del estado de temperatura reducida al estado de temperatura elevada, un tiempo de trabajo, durante un período de entre 1 a 50 milisegundos.
10. El sistema de la reivindicación 9, en donde el elemento sólido metálico (148) es modulado del estado de temperatura elevada al estado de temperatura reducida, un tiempo fuera de trabajo, durante un período de tiempo mayor que 10 milisegundos a 50 milisegundos.
11. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, o 10, que además comprende un medio (250) para sensor cuando la ablación de la piel ha formado al menos un microporo hasta la profundidad deseada en la piel.
12. El sistema de la reivindicación 11, en donde dicho medio sensor (250) comprende un medio para medir cambios en la impedancia eléctrica de la piel a medida que se forma al menos un microporo, y en donde dicho medio sensor está operativamente acoplado al medio de ablación para discontinuar la ablación de la piel cuando el microporo alcanza la profundidad deseada.
13. El sistema de las reivindicaciones 11 o 12, en donde el medio sensor (250) detecta un cambio predeterminado en la impedancia eléctrica de la piel, y en donde, al llegar al cambio predeterminado, detiene ese medio de ablación.
14. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10 o 11, en donde dicho elemento sólido metálico (148) está configurado para estar posicionado en contacto directo con una porción del área seleccionada (258) de la piel.
15. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 o 14, en donde la profundidad de cada microporo está entre 10 micrones a 30 micrones.
16. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 o 14, en donde dicho medio de modulación (156) comprende un bucle de corriente de modulación que modula la corriente suministrada a dicho elemento sólido metálico de manera tal que dicho elemento sólido metálico (148) se mantiene sustancialmente en el estado de temperatura elevada durante menos de 5 milisegundos para reducir sensación para el organismo y minimizar el

volumen de tejido que es afectado por la energía térmica transferida.

17. El sistema de la reivindicación 16, en donde, en el estado de temperatura reducida, el bucle de corriente de modulación elimina la corriente de dicho elemento sólido (148).
- 5 18. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 o 14, en donde dicho medio de modulación (156) comprende un campo magnético de modulación, estando el campo magnético selectivamente energizado para producir corrientes de Foucault eléctricas dentro de dicho elemento sólido metálico (148) de manera tal que el elemento sólido se mantiene sustancialmente en el estado de temperatura elevada durante 5 milisegundos para reducir la sensación para el organismo y minimizar el volumen de tejido que es afectado por la energía térmica transferida.
- 10 19. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 14, 16 o 18 que además comprende un medio (124) para enfriar el área seleccionada de la piel de manera tal que el área seleccionada está en una condición de enfriamiento.
20. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 18 o 19, en donde el medio (124) para enfriar comprende un dispositivo de Peltier.
- 15 21. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 18, o 19, en donde el medio para la ablación causa exudación del líquido intersticial, y que además comprende medios para recolectar una cantidad seleccionada de dicho líquido intersticial.
22. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 19, o 21, que además comprende un medio para aplicar succión al menos un microporo formado.
- 20 23. El sistema de las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 14, 16, 18, 19, o 21, que además comprende un medio para poner en contacto el área seleccionada con una composición que comprende una cantidad efectiva de tinta de tatuaje de manera tal que el flujo de dicha tinta de tatuaje en el cuerpo sea mejorado.

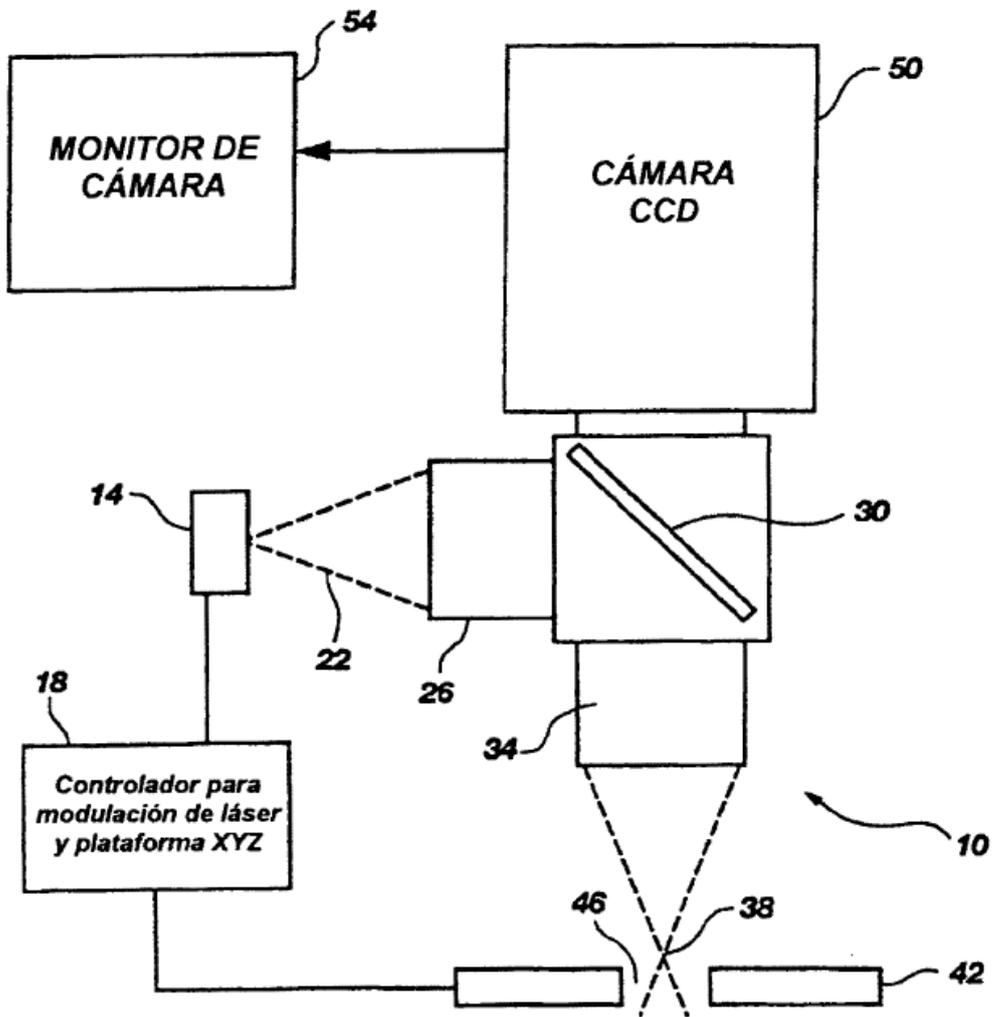


Fig. 1

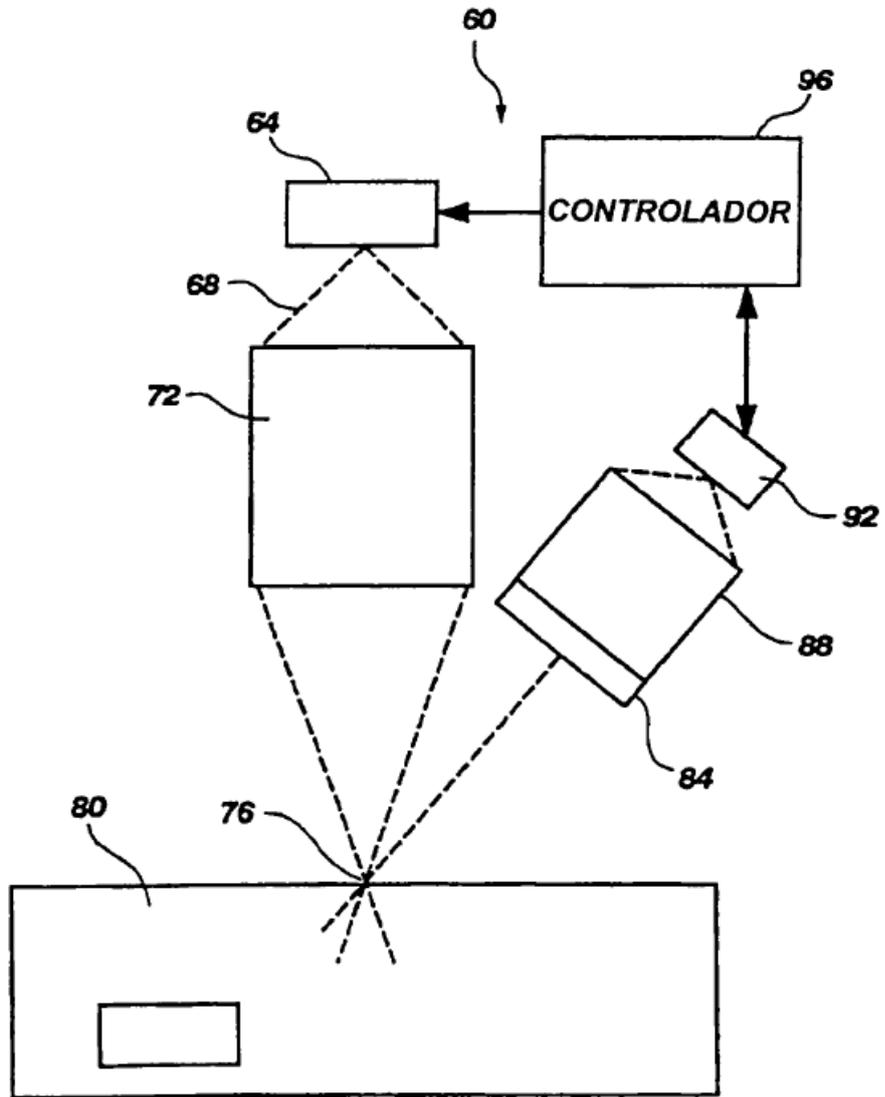


Fig. 2

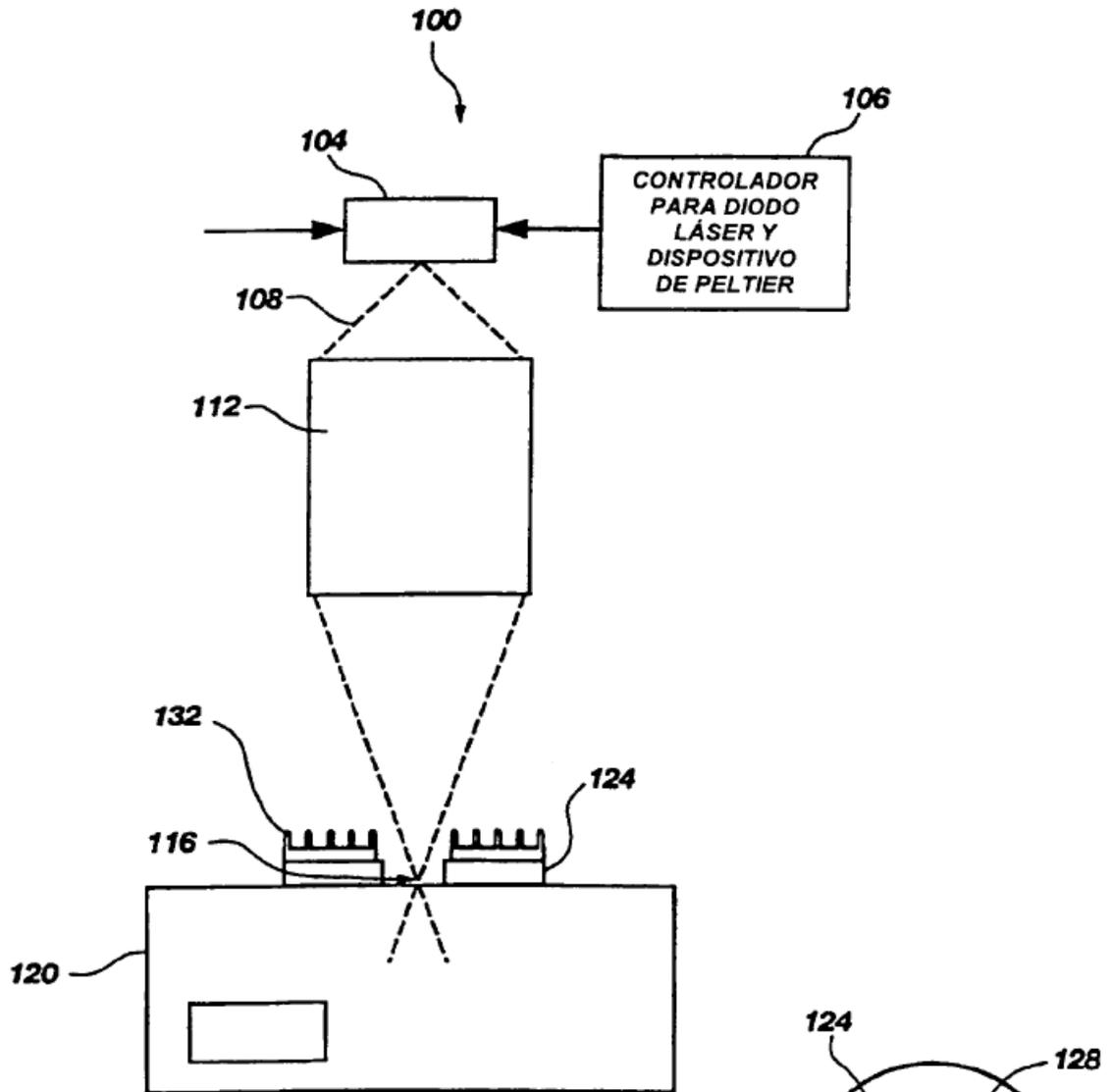


Fig. 3A

Fig. 3B

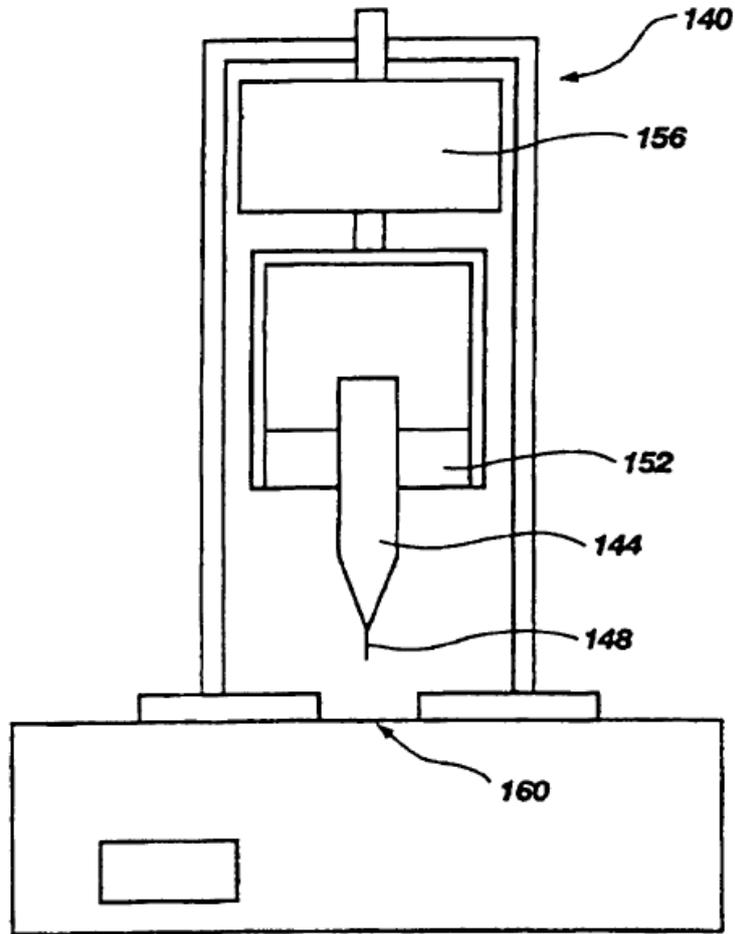


Fig. 4

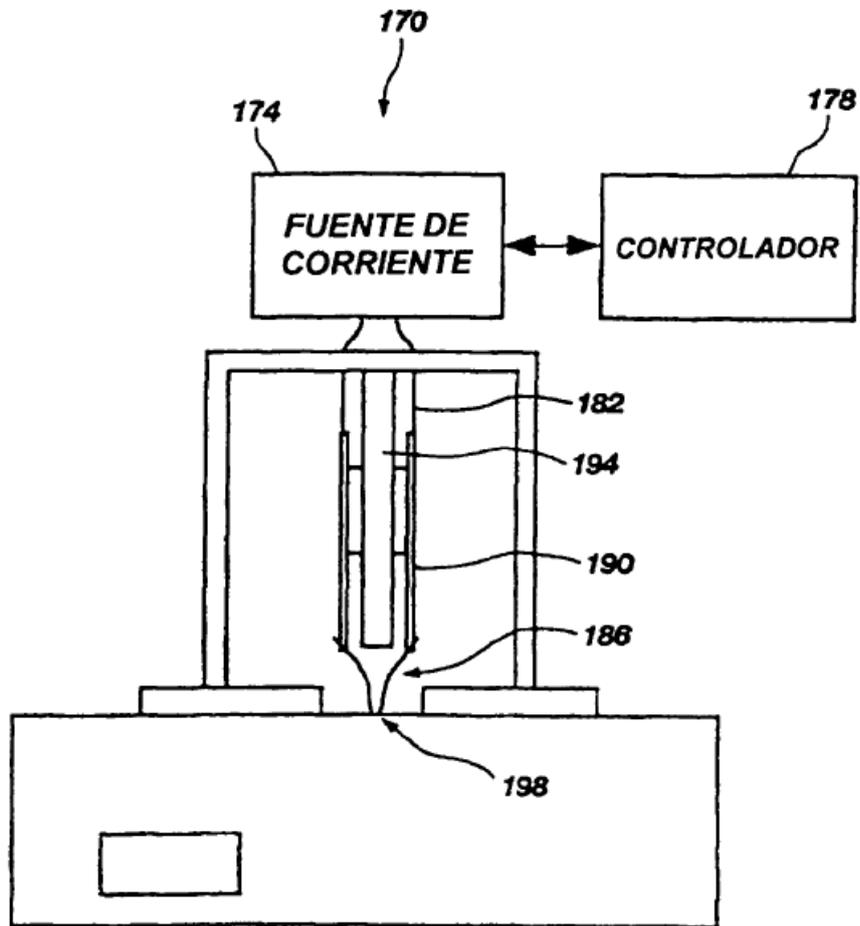


Fig. 5

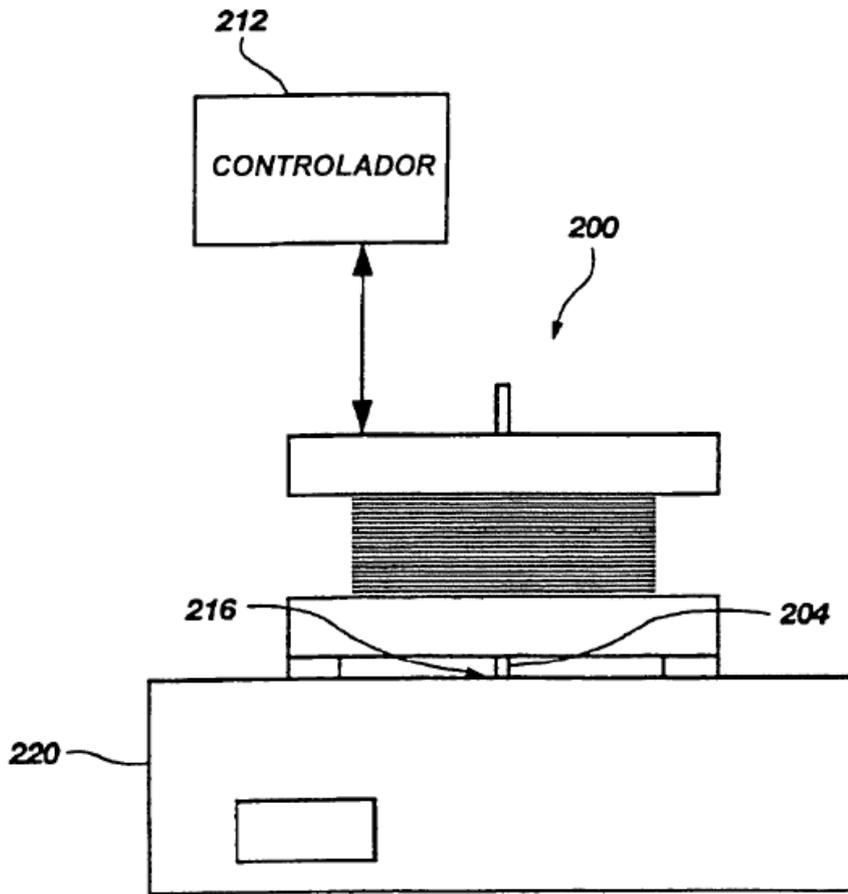


Fig. 6

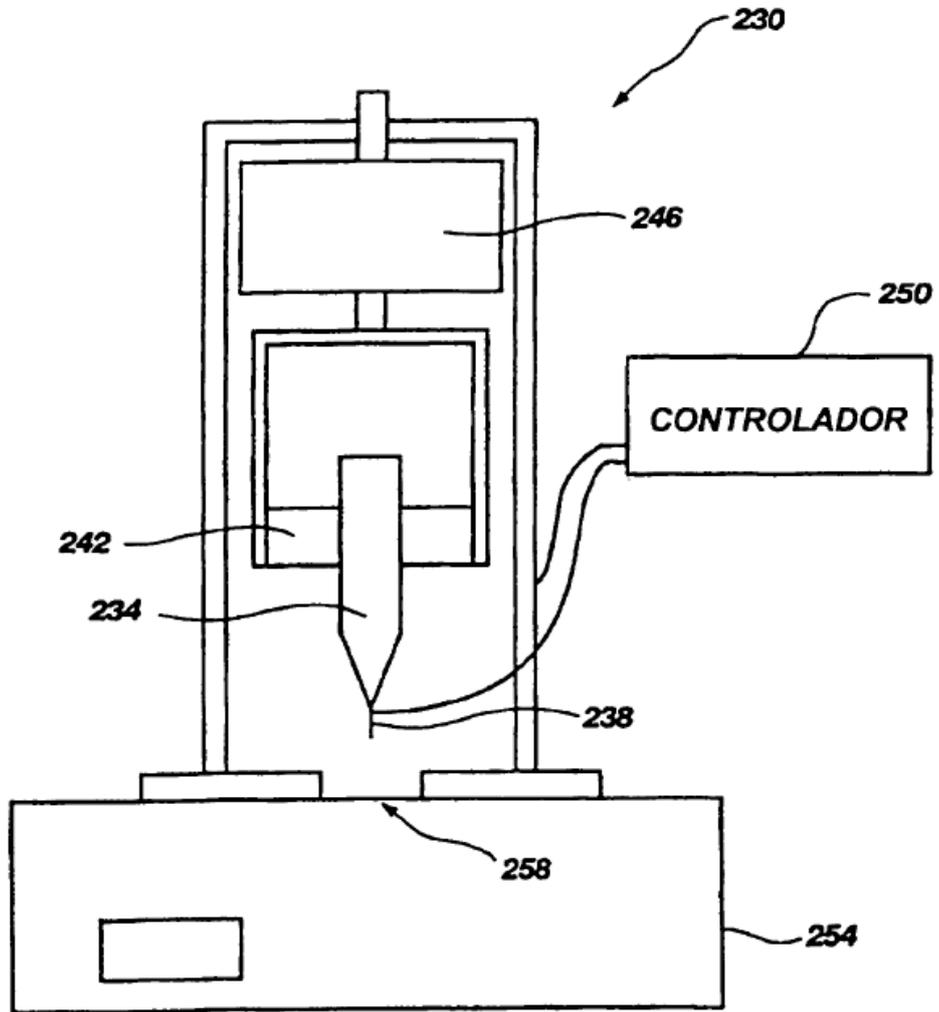


Fig. 7

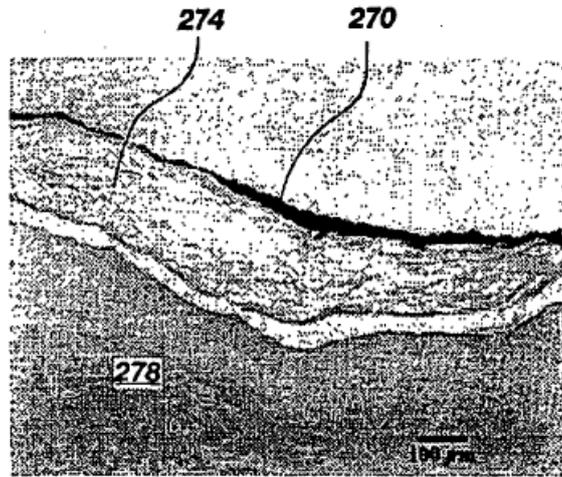


Fig. 8A

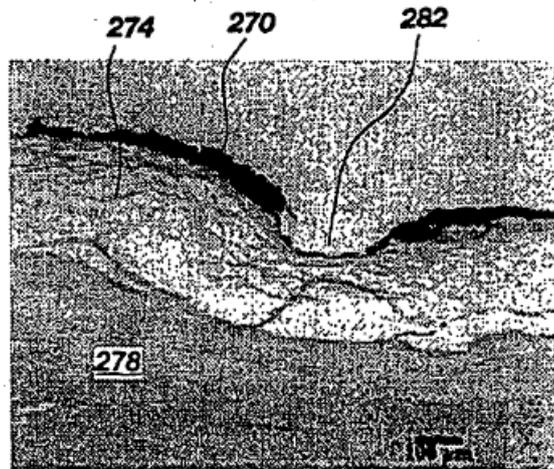


Fig. 8B

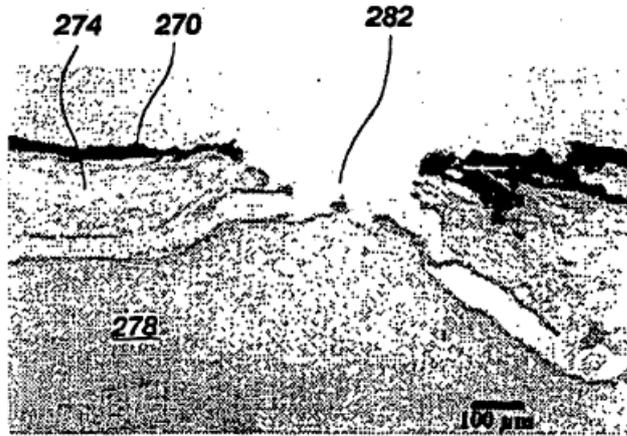


Fig. 8C

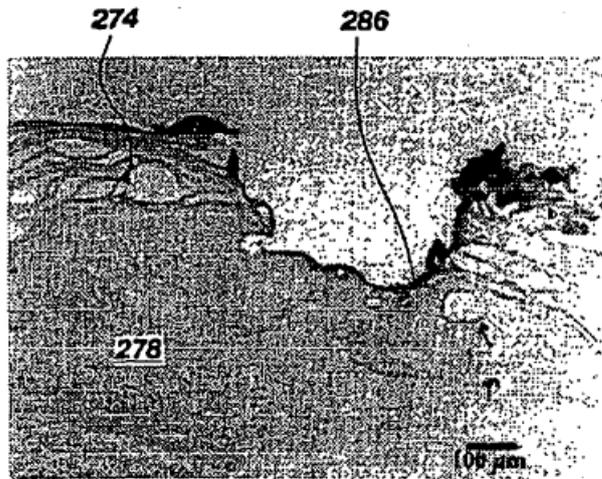


Fig. 8D

LONGITUD MÁXIMA DE UN PULSO TÉRMICO ÚNICO, $t=0,21$ SEGUNDOS, HASTA QUE EL UMBRAL DE DAÑO ENTRA EN EL TEJIDO VIABLE

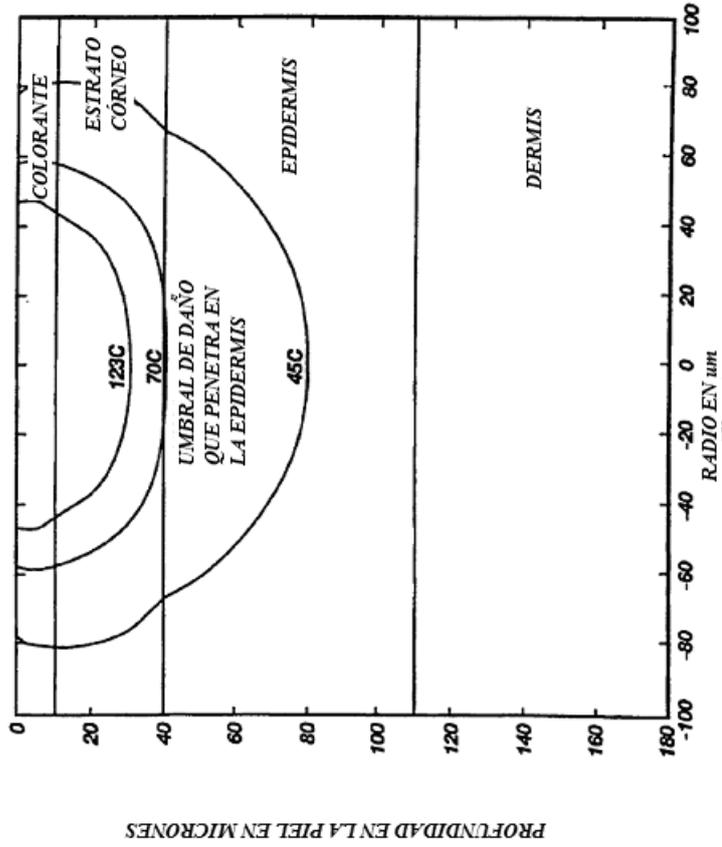


Fig. 9

LONGITUD MÁXIMA DE UN PULSO TÉRMICO ÚNICO, $t=0,60$ SEGUNDOA, HASTA QUE LE UMBRAL DE DOLOR PENETRA EN EL TEJIDO INERVADO

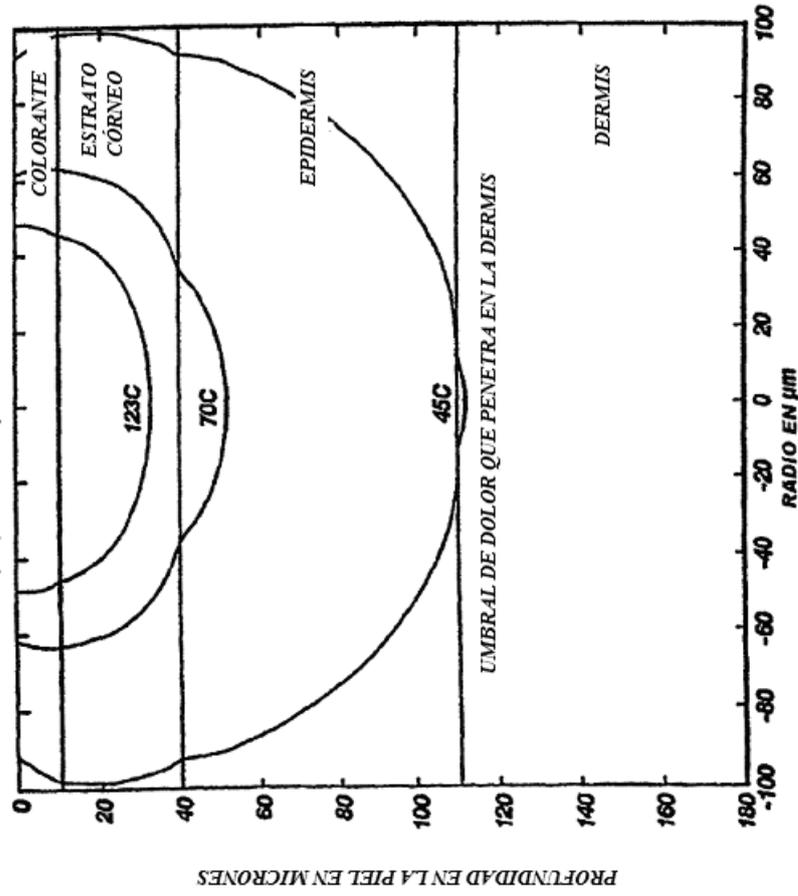


Fig. 10

DISTRIBUCIÓN DE CALOR EN EL COLORANTE Y EN LAS CAPAS DE TEJIDO DESPUÉS DE CICLOS DE 10 PULSOS

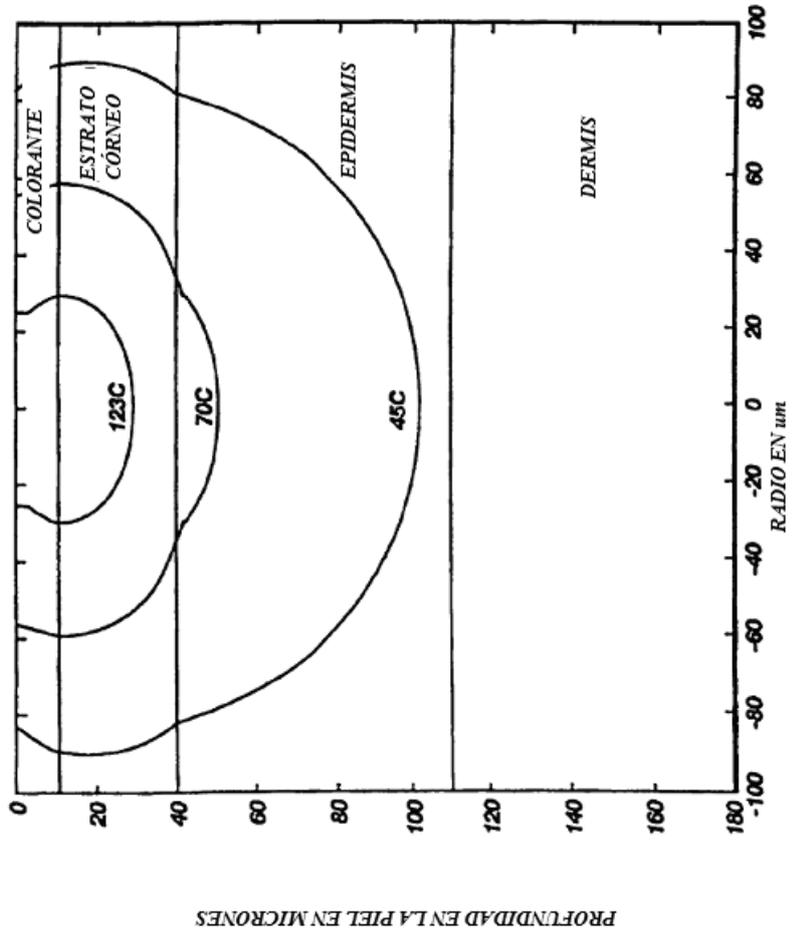


Fig. 11

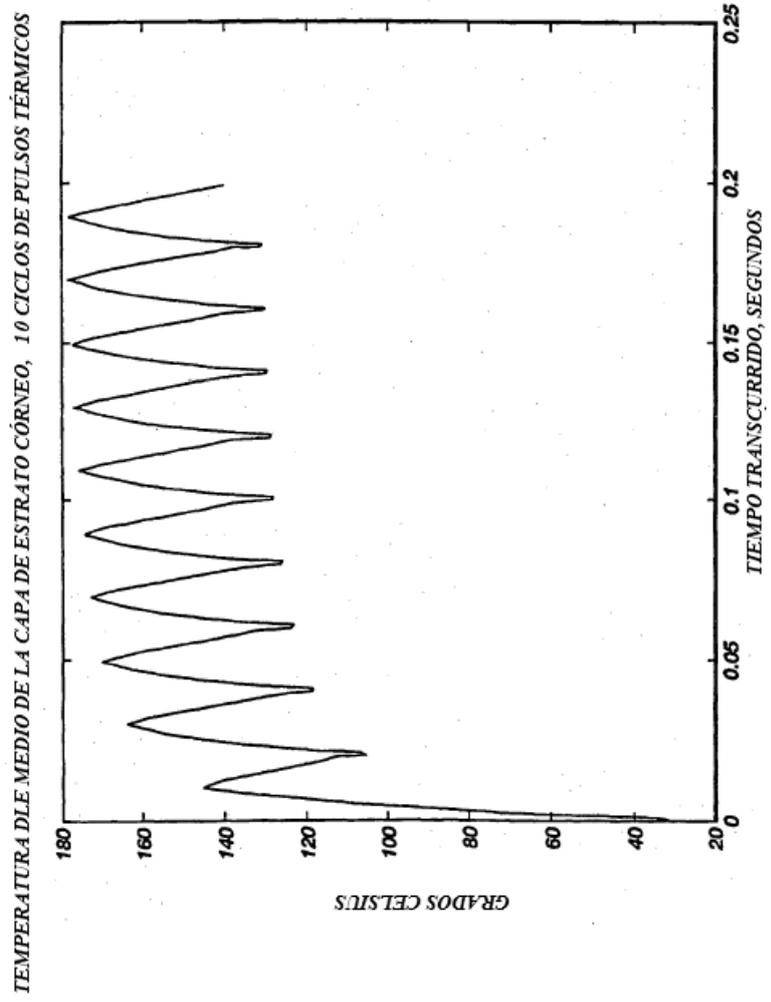


Fig. 12

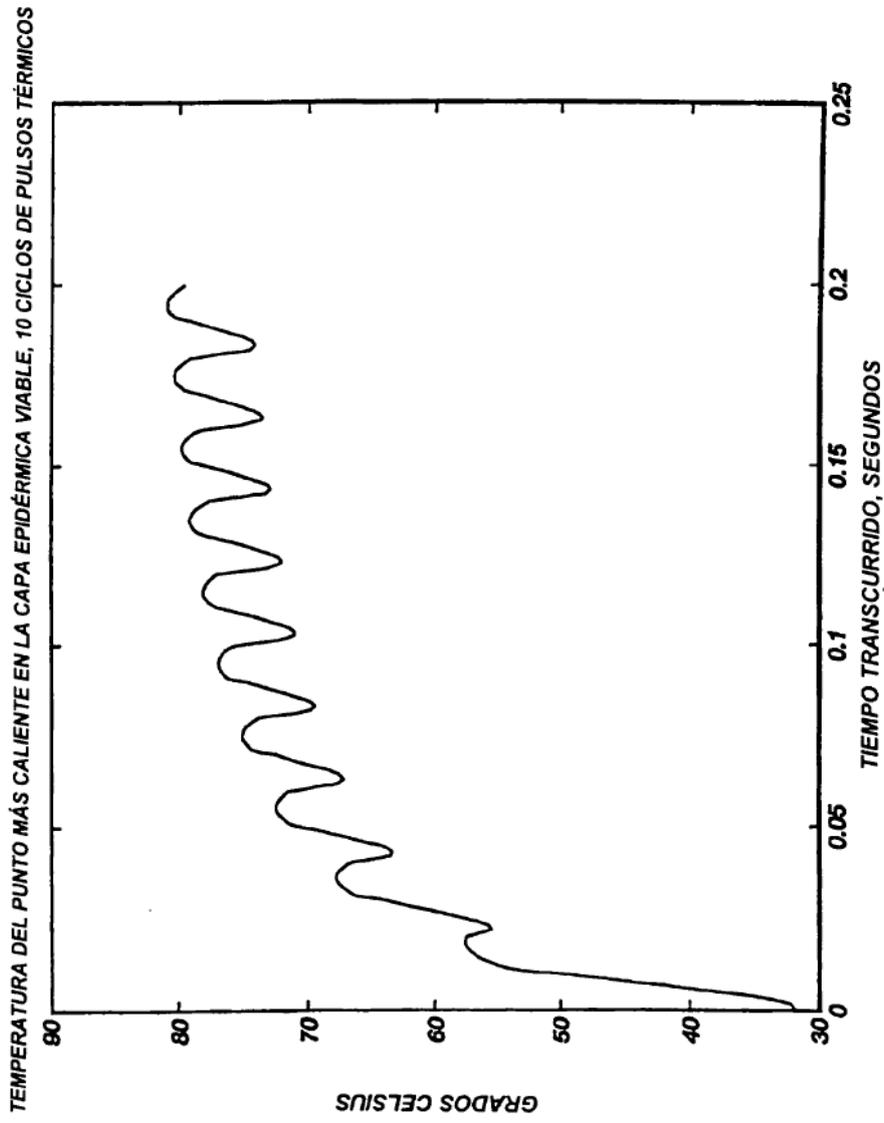


Fig. 13

DISTRIBUCIÓN DE CALOR EN LAS CAPAS DE COLORANTE Y DE TEJIDO CUTÁNEO, PRENEFRIADAS, DESPUÉS DE 10 CICLOS DE PULSOS

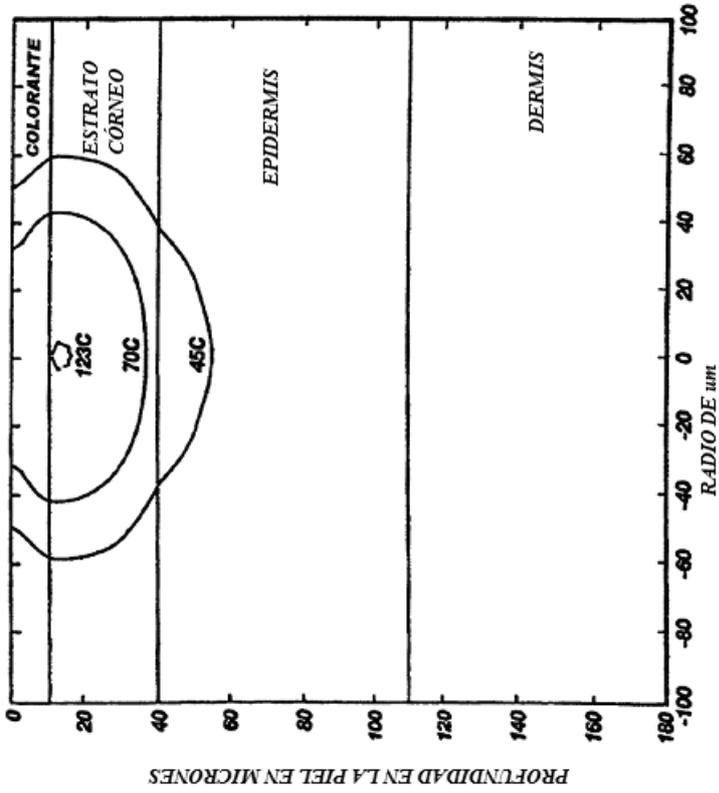


Fig. 14

TEMPERATURA DEL MEDIO DE LA CAPA DE ESTRATO CÓRNEO, TEJIDO PREENFRIADO, 10 CICLOS DE PULSOS TÉRMICOS

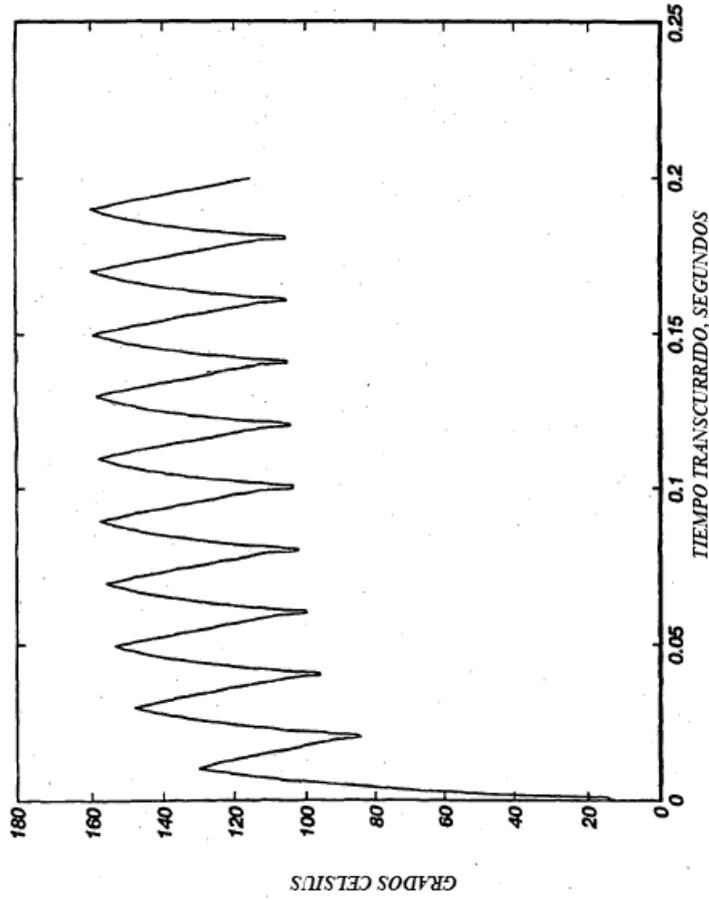


Fig. 15

TEMPERATURA DEL PUNTO MÁS CALIENTE EN LA CAPA EPIDÉRMICA VIABLE, TEJIDO PREENFRIADO, 10 CICLOS DE PULSOS TÉRMICOS

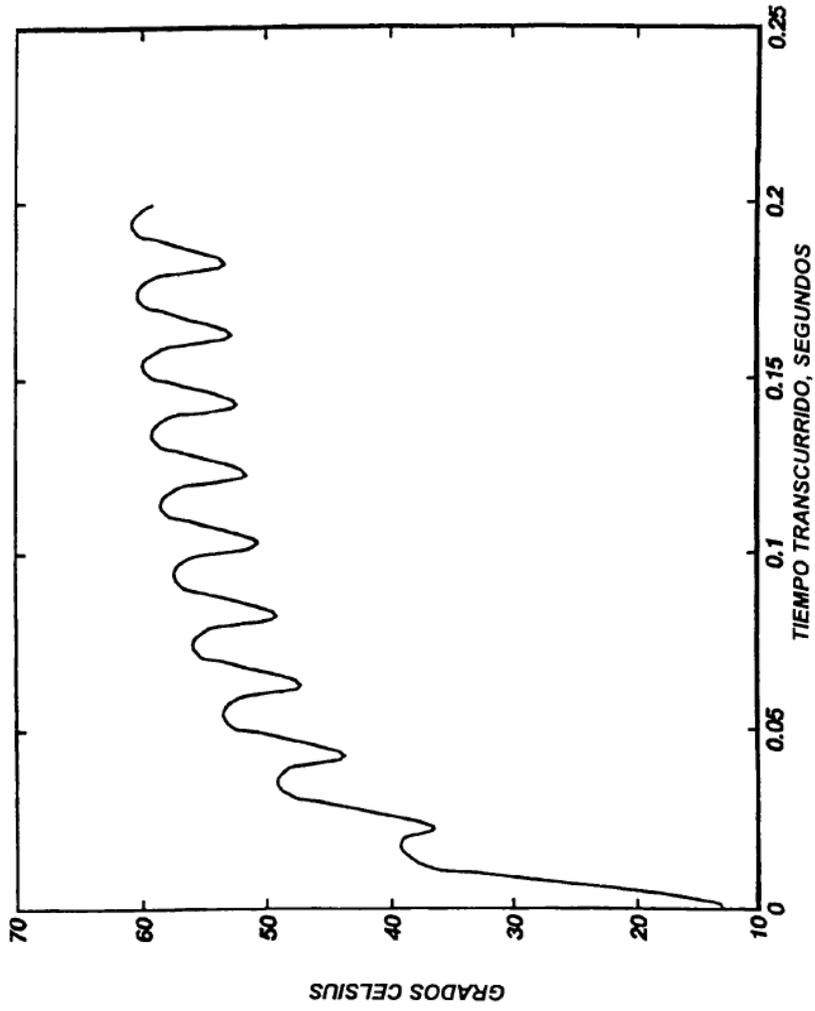


Fig. 16

DISTRIBUCION DE CALOR EN CAPAS DE TEJIDO CUTÁNEO TRAS 10 CICLOS DE PULSOS DE Sonda Térmica de HILO CALIENTE

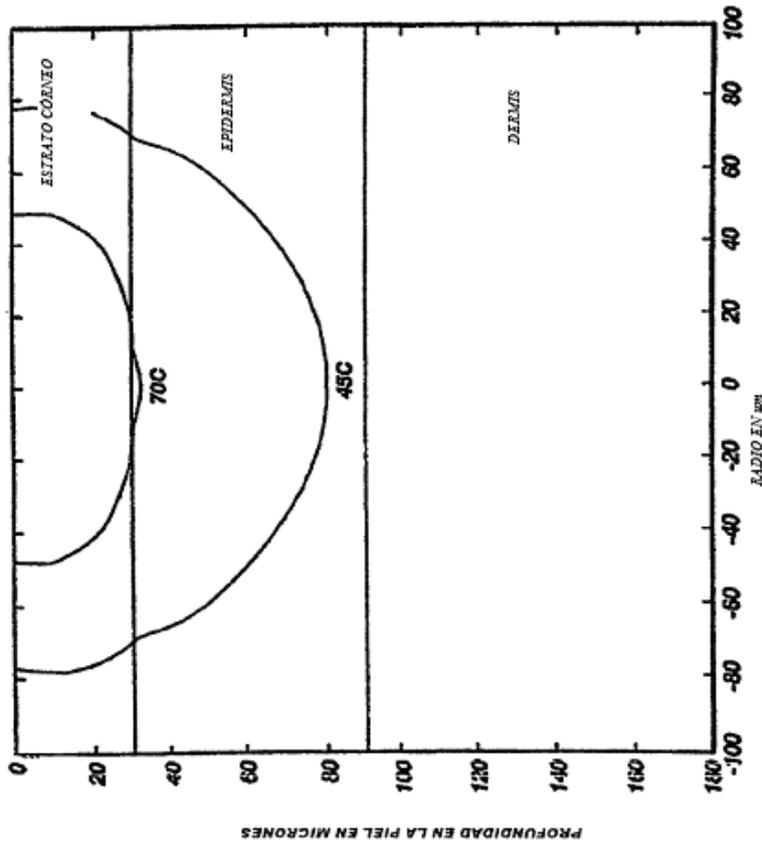


Fig. 17

TEMPERATURA DEL MEDIO DE LA CAPA DE ESTRATO CÓRNEO, 10 CICLOS DE PULSOS IPERMICOS, SONDA DE HILO CALIENTE

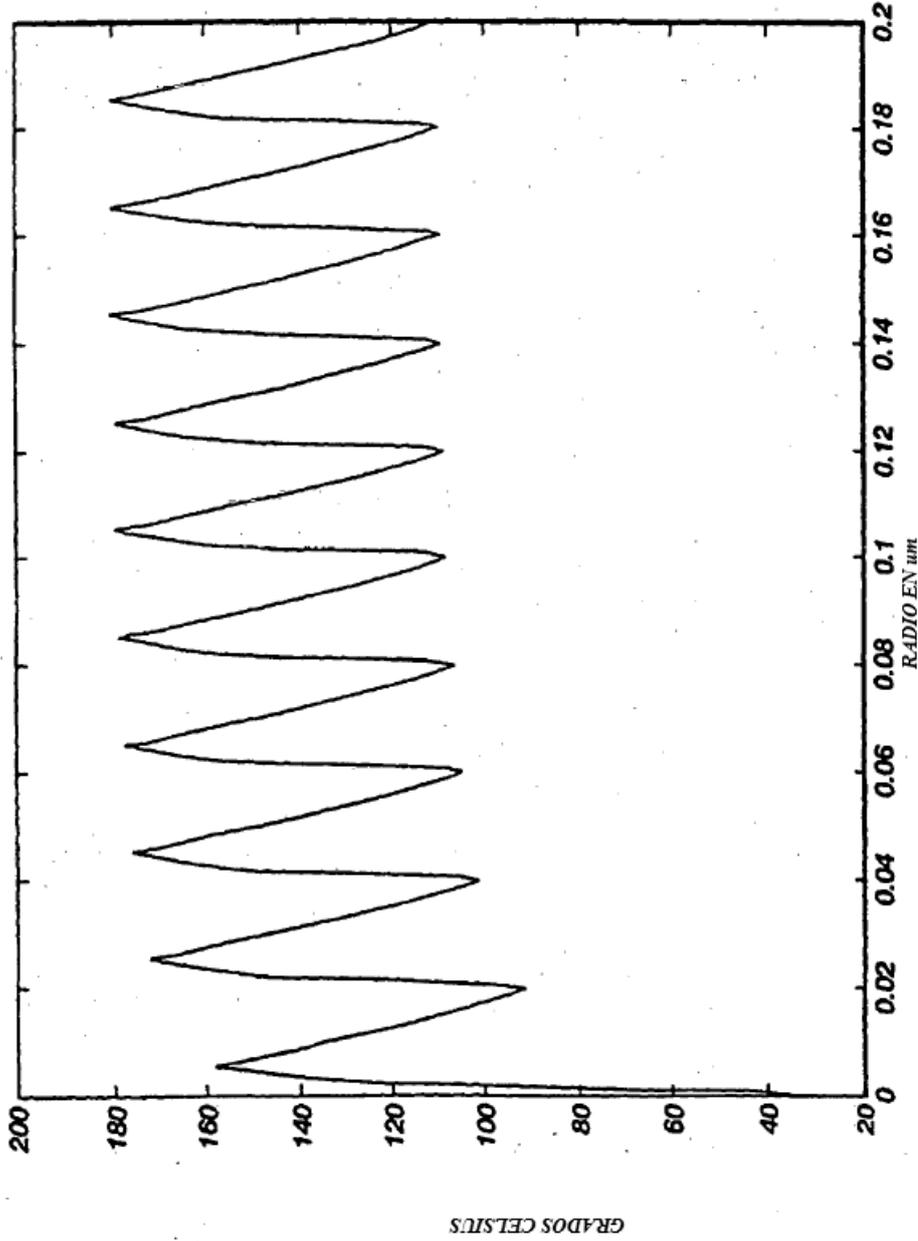


Fig. 18

TEMPERATURA DE PUNTO MÁS CALIENTE EN LA CAPA EPIDÉRMICA VIABLE, 10 CICLOS DE PULSOS TÉRMICOS, SONDA DE HILO CALIENTE

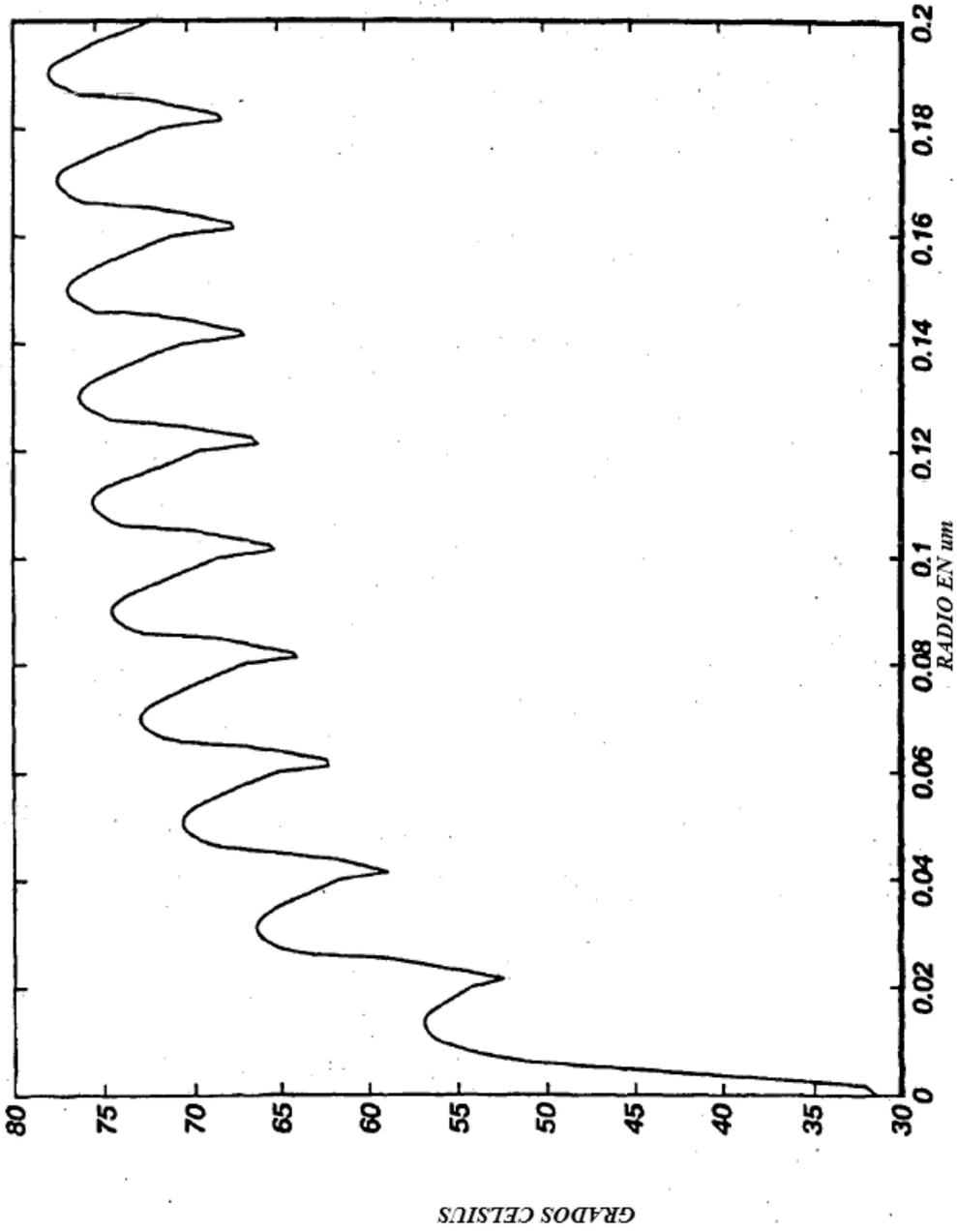


Fig. 19

DISTRIBUCIÓN TÉRMICA EN LAS CAPAS DE TEJIDO DE PIEL PREENFRIADO DESPUÉS DE 10 CICLOS DE PULSOS DE LA Sonda TÉRMICA DE HILO CALIENTE

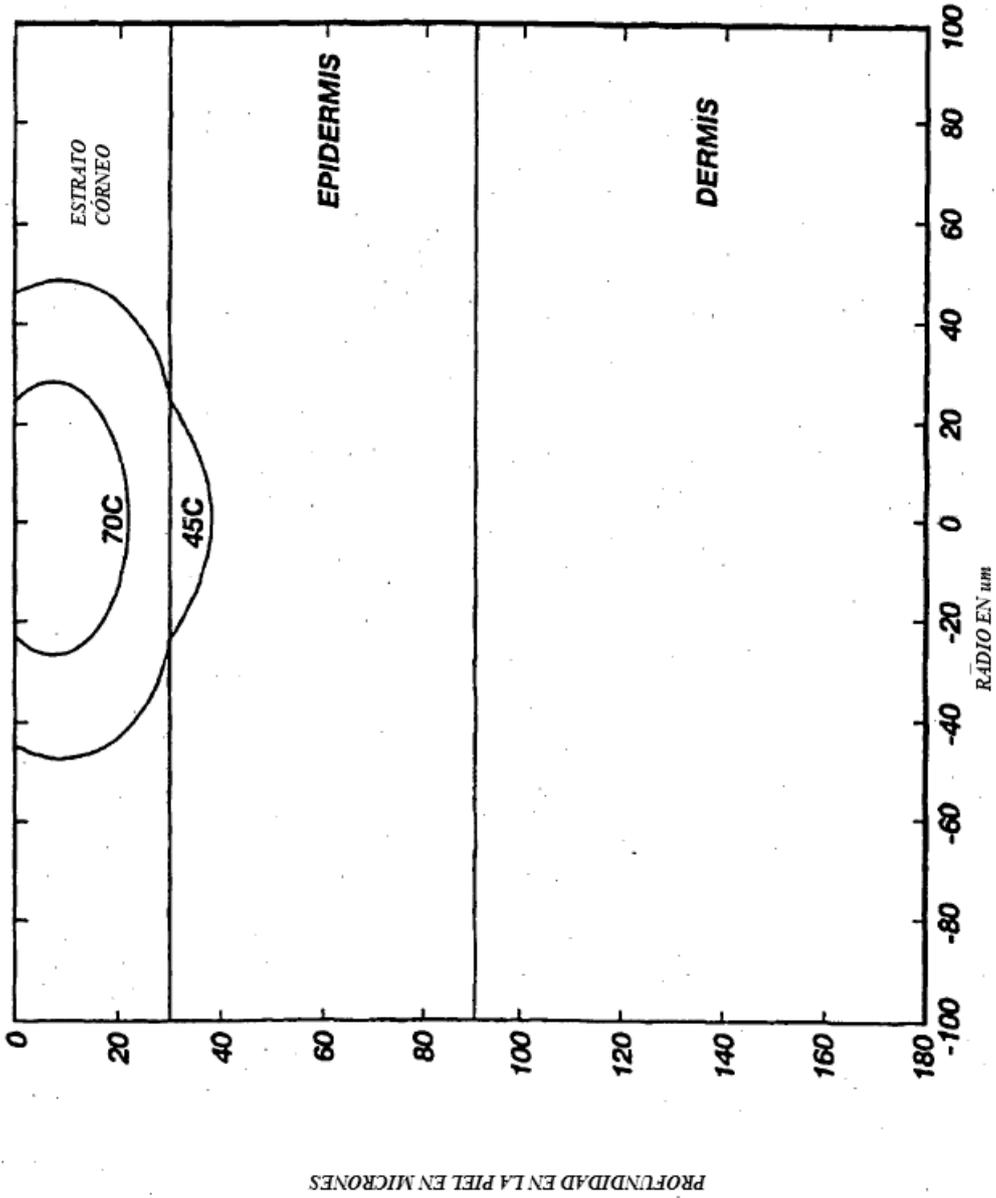


Fig. 20

TEMPERATURA DEL MEDIO DE LA CAPA DE ESTRATO Córneo PREENFRÍADA, 10 CICLOS DE PULSOS TÉRMICOS, SONDA DE HILO CALIENTE

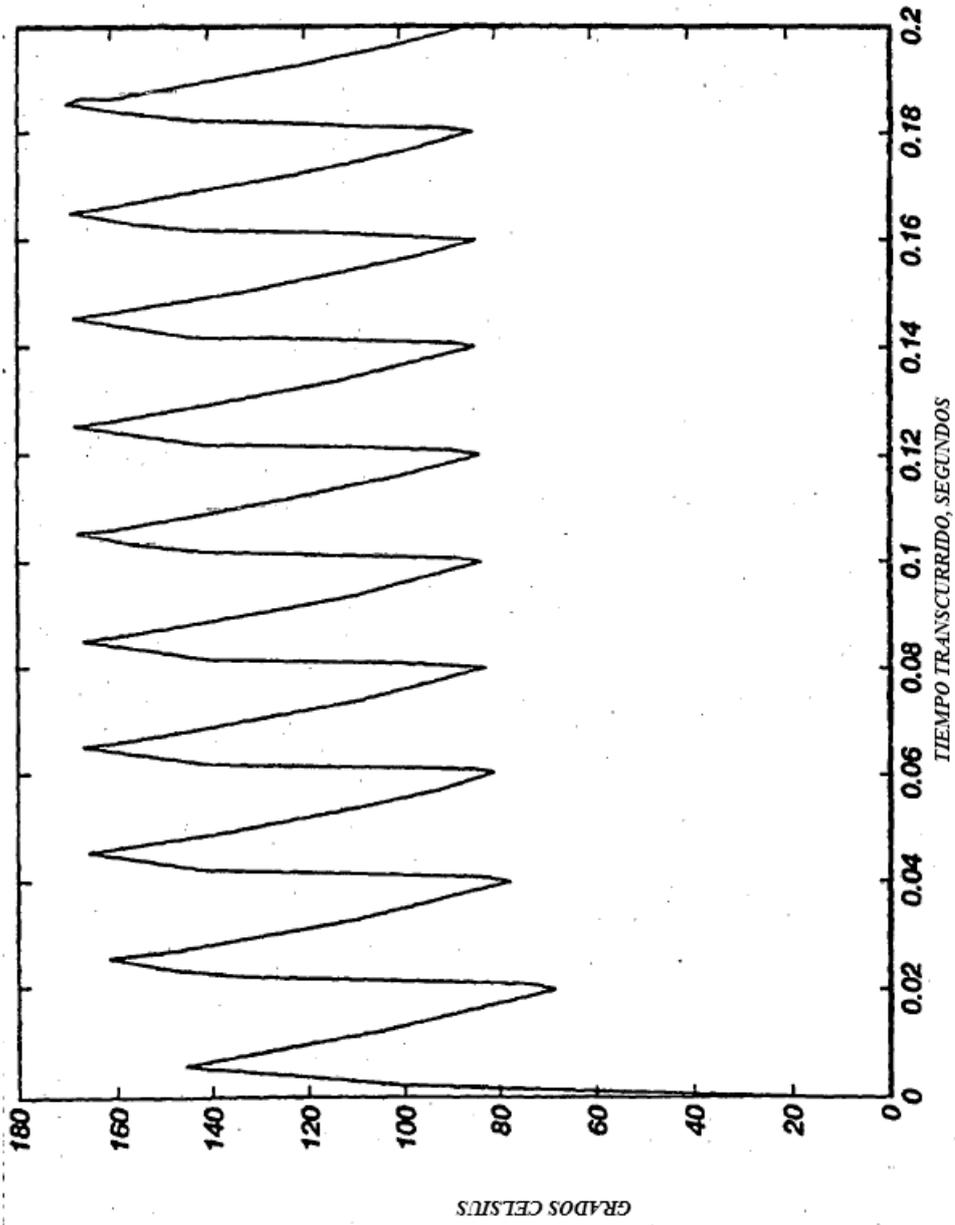


Fig. 21

TEMPERATURA DEL PUNTO MÁS CALIENTE EN LA CAPA EPIDÉRMICA PREENFRIADA VIABLE, 10 CICLOS DE PULSOS TÉRMICOS, SONDA DE HILO CALIENTE

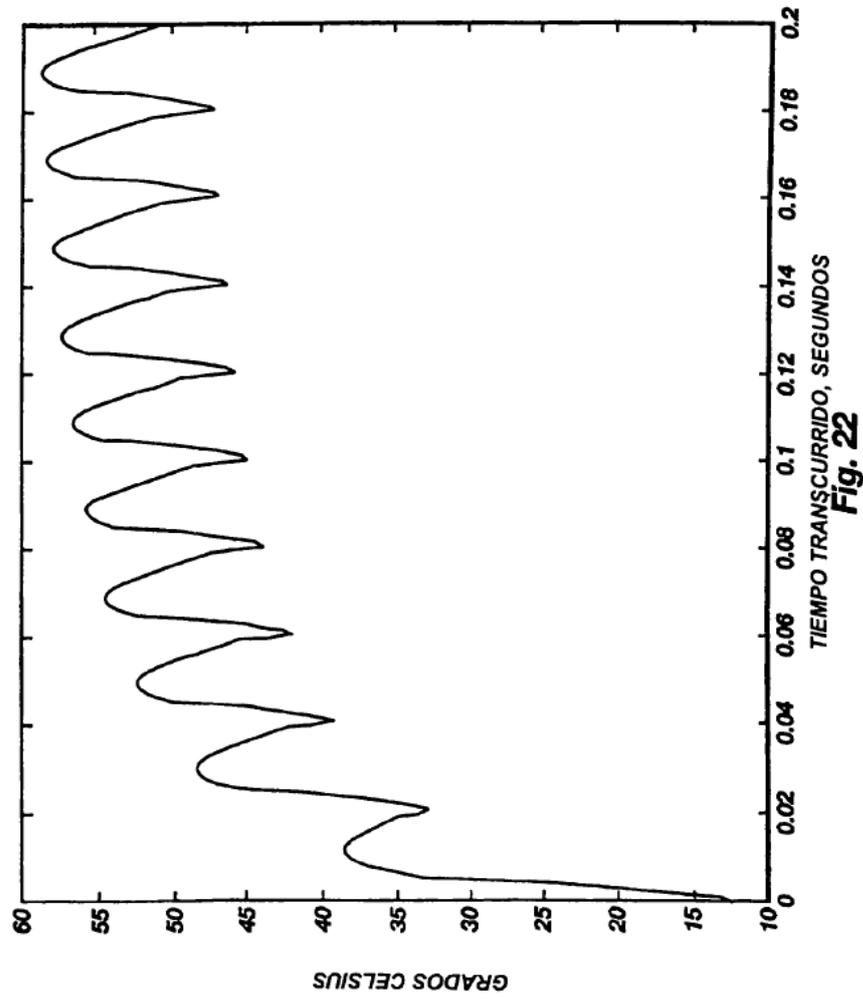


Fig. 22

DISTRIBUCIÓN DE CALOR EN CAPAS DE COLORANTE CPC Y TEJIDO CUTÁNEO CUANDO SE PROYECTA UN LÁSER DE TANKOVICH DE ELEVADA POTENCIA 1 μ S

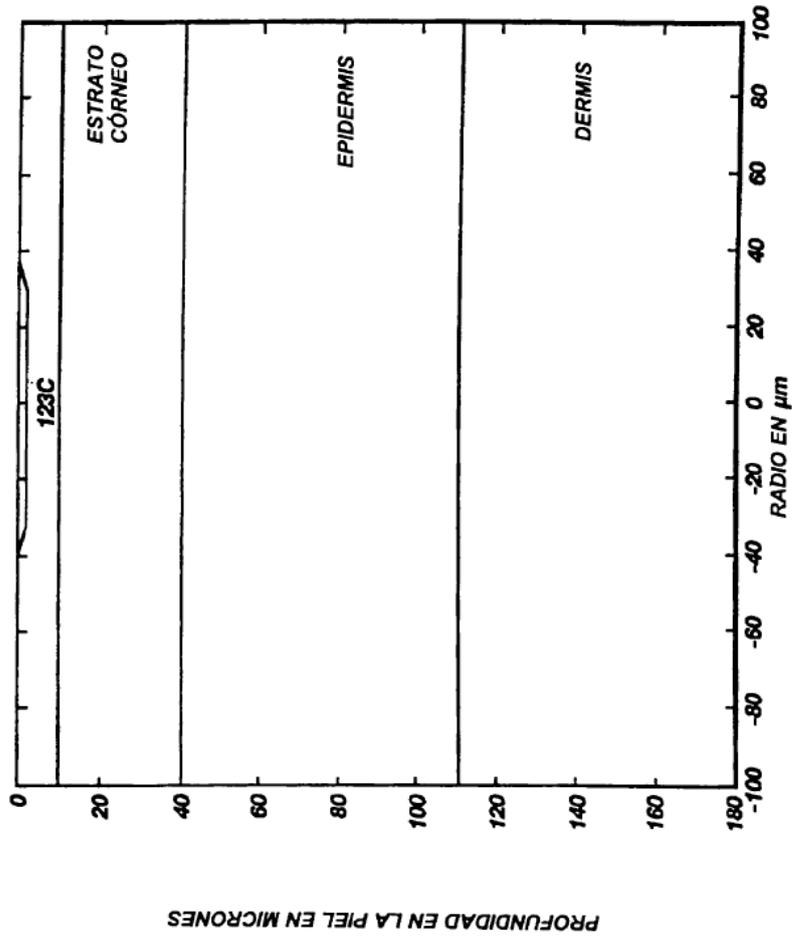


Fig. 23

TEMPERATURA DEL CENTRO DE LA CAPA DEL ESTRATO CÓRNEO, 10 PULSOS DE LÁSER DE 1 μ S DE POTENCIA ELEVADA, COMO PARA TANKOVICH

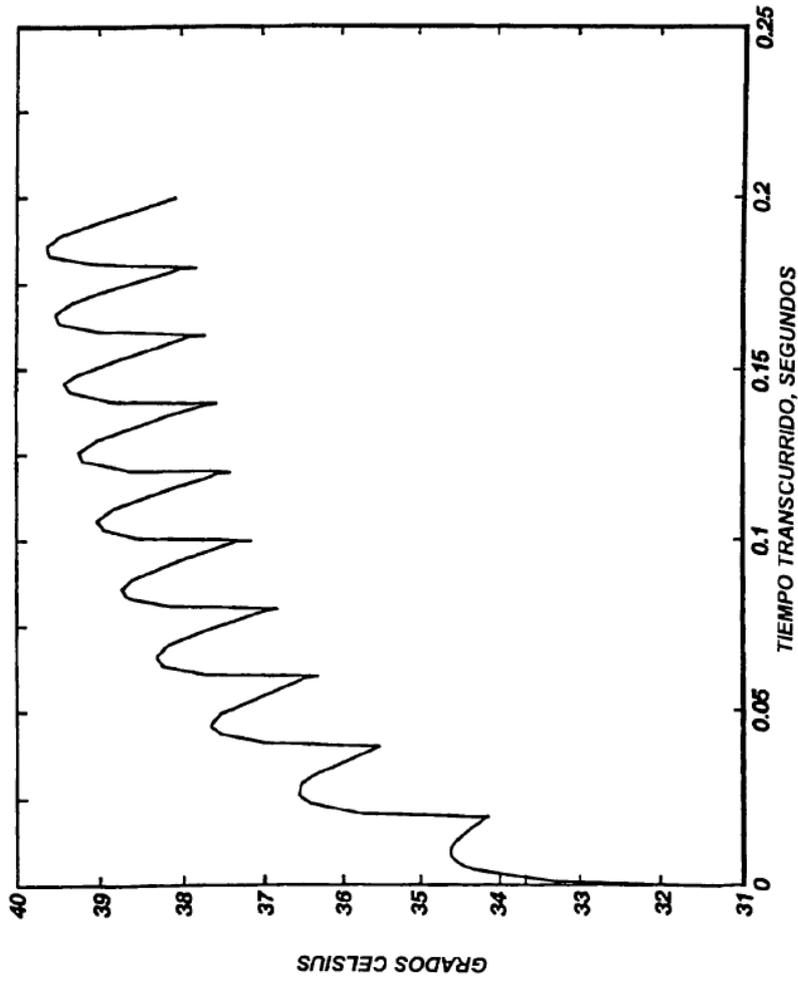
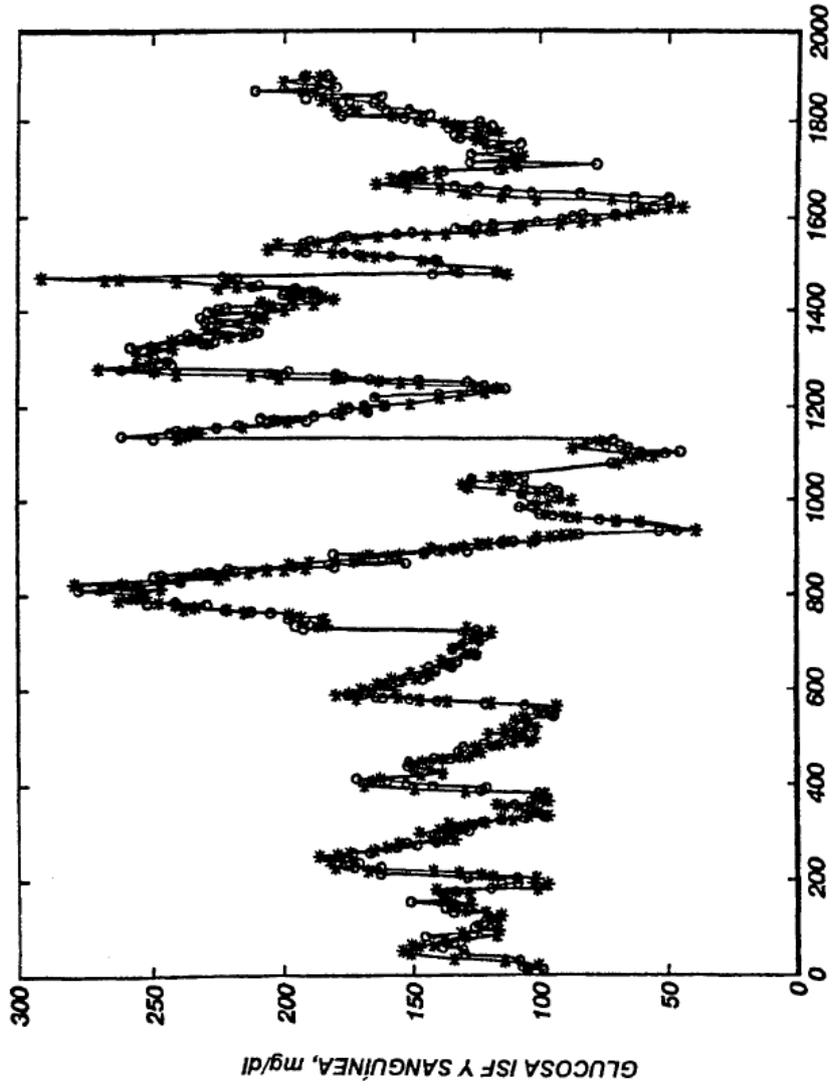


Fig. 24

Concentraciones de glucosa ISF (o) y sanguínea (*) frente al tiempo, conjunto completo de datos, Coeficiente de correlación $r=0,95$, $n=438$



Tiempo transcurrido en minutos, 10 sujetos concatenados uno tras de otro, $n=438$ pares de datos

Fig. 25

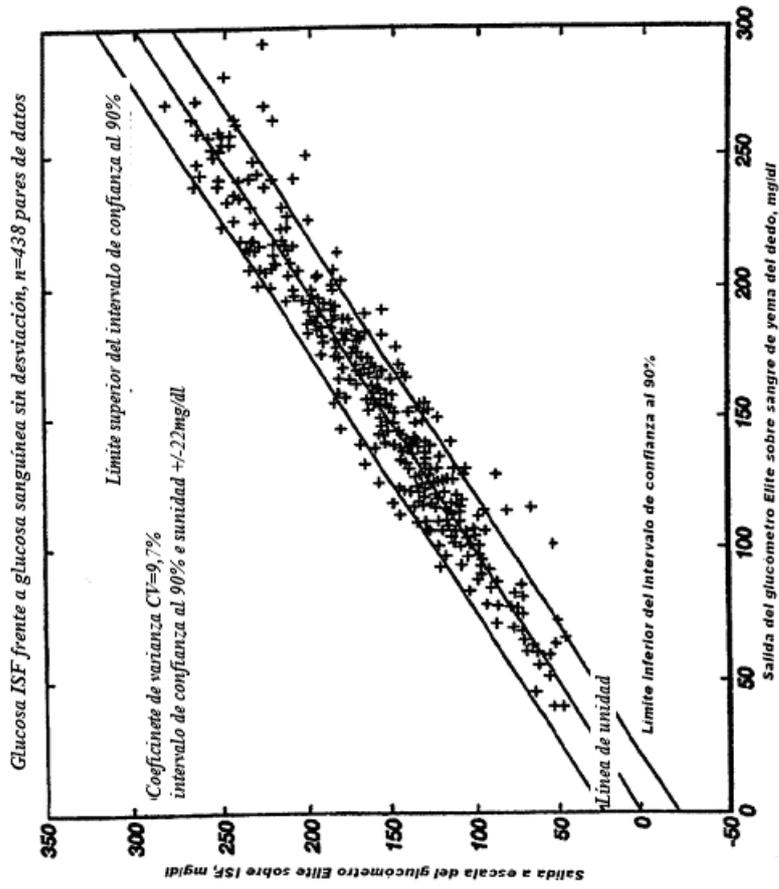


Fig. 26

Distribución de la diferencia relativa (Dif/concentración sanguínea), de glucosa ISF respecto a glucosa sanguínea, n=438 pares de datos

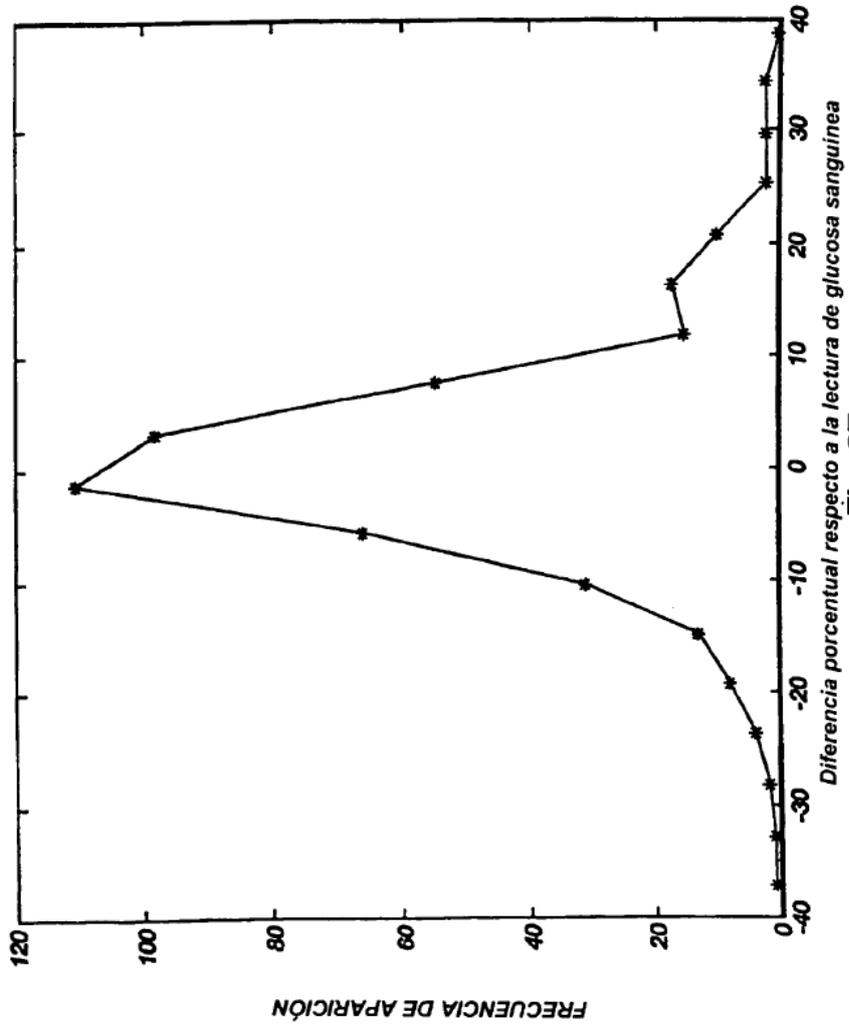


Fig. 27

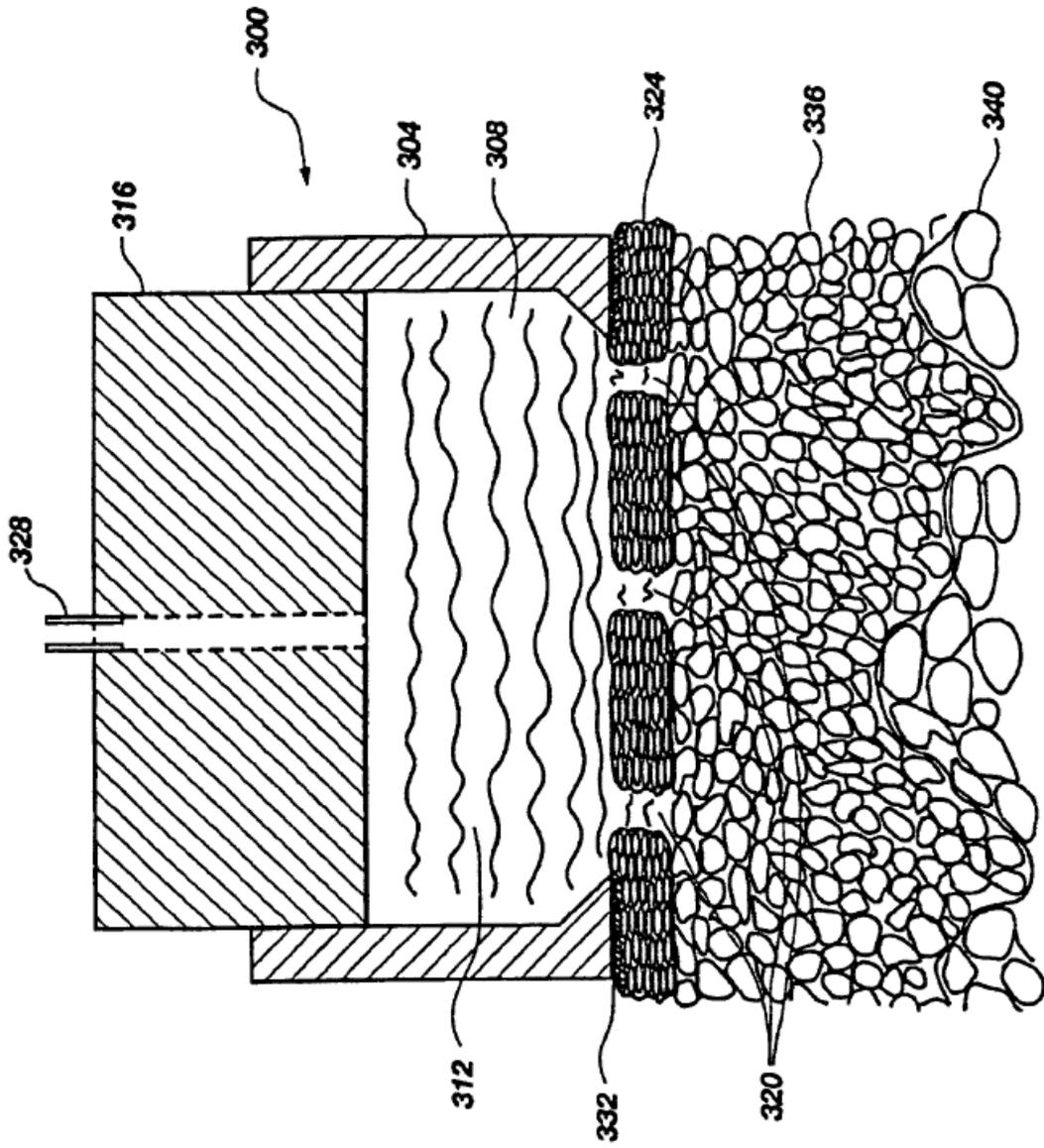


Fig. 28

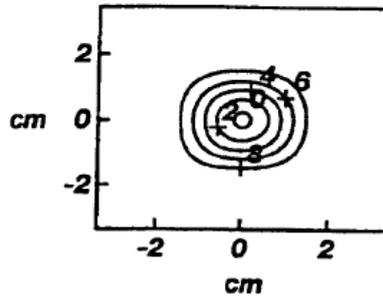


Fig. 29A

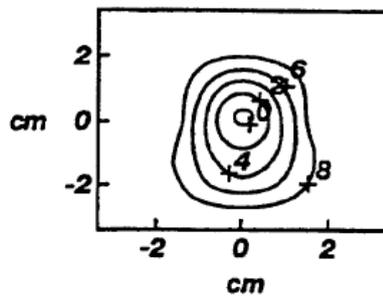


Fig. 29B

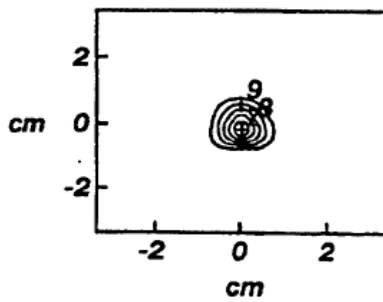


Fig. 29C

Comparación del volumen de ISF recogido en 2 minutos usando succión (O) y succión con ultrasonidos (*)

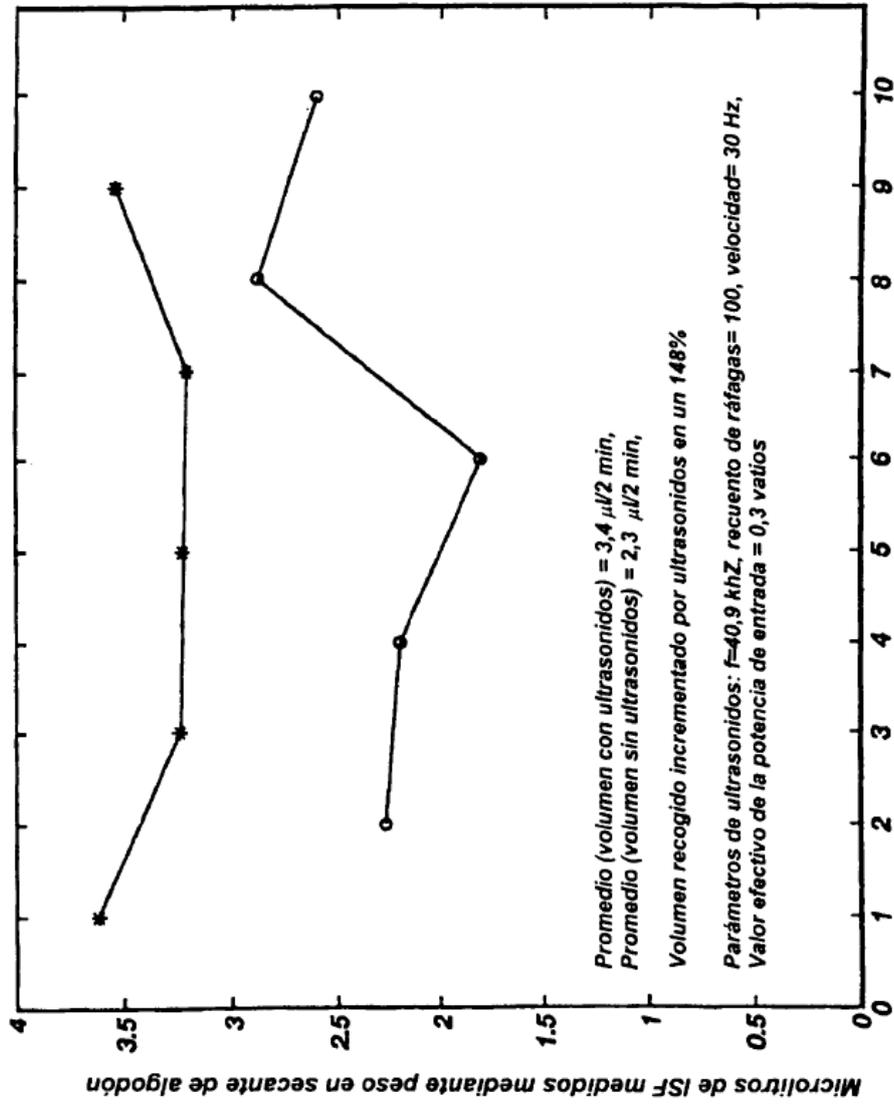


Fig. 30

Número de extracciones de fluido secuenciales de la misma matriz de cuatro orificios de 80 micrones

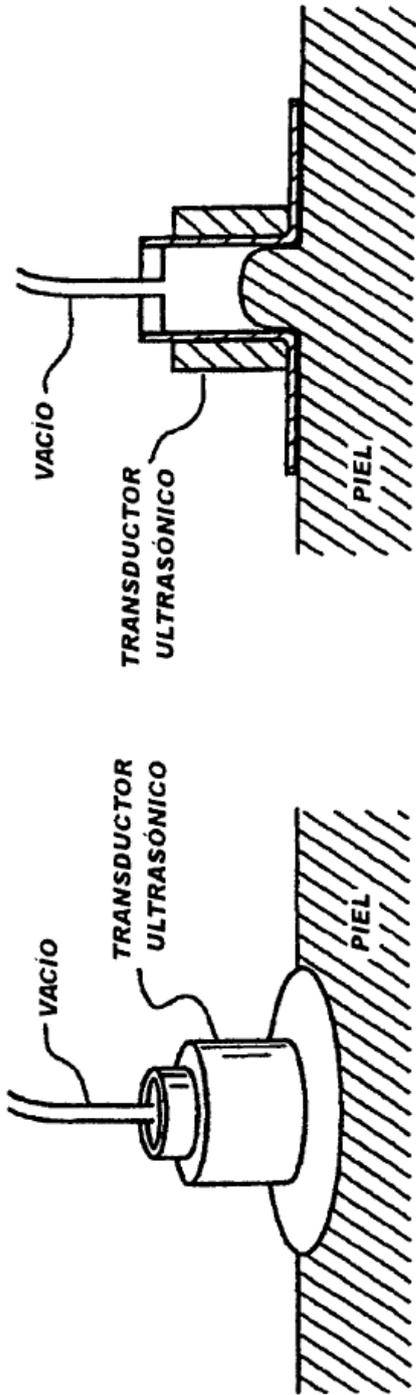


Fig. 31

Fig. 32

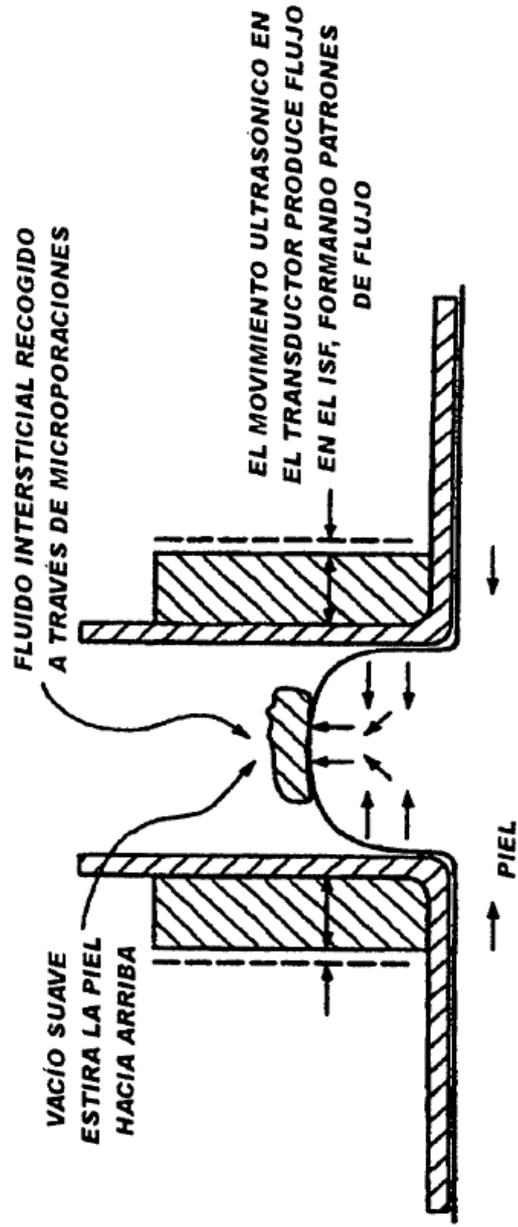


Fig. 33

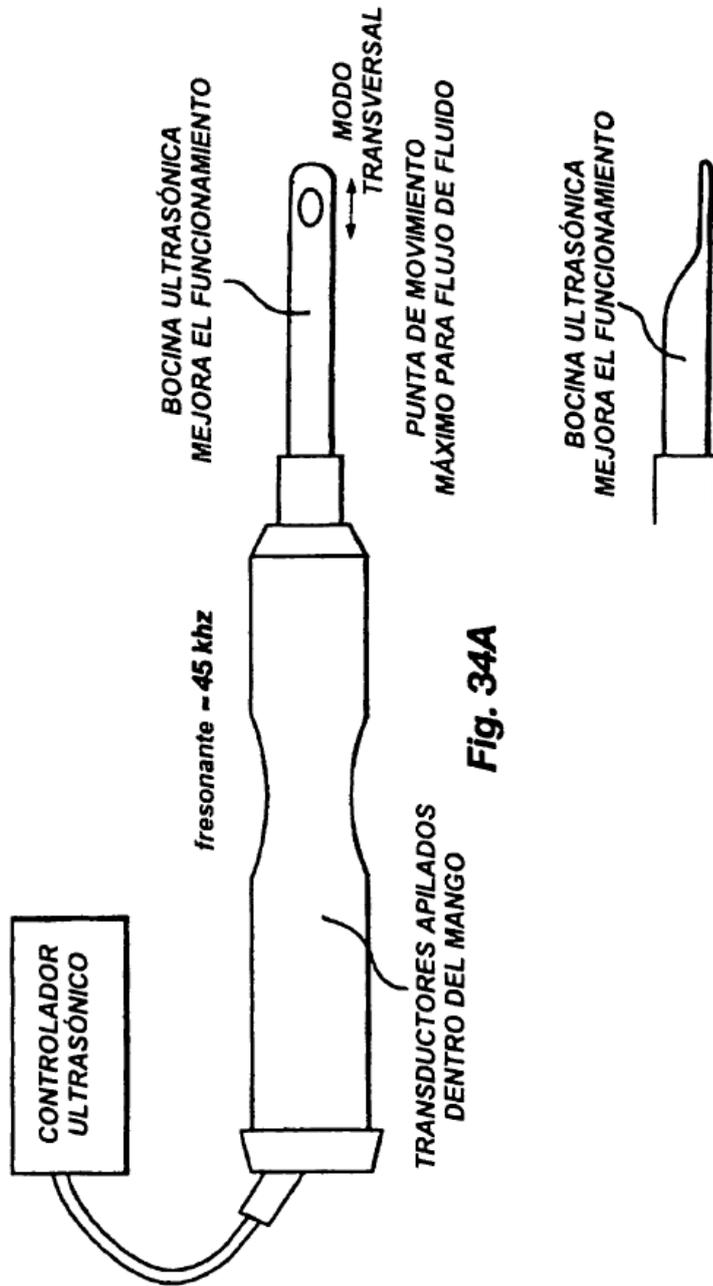


Fig. 34A

Fig. 34B