

IRRITACIÓN DÉRMICA DE MEMBRANAS DE HIDROGEL EN CONEJOS

Dayana Sosa*, A. Escobar*, R. Faure*, Betty Mancebo*, Dulce M. Soler**,
Yanet Rodríguez**, H. Correa**, Ailed Moreno***, Lila Carrizales***

*Departamento Farmacología y **Grupo de Desarrollo y Biotecnología Industrial, Centro Nacional Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.

Correo electrónico: dayana@censa.edu.cu; ***Unidad de Tecnología Nuclear, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Carretera Panamericana, Altos de Pipe, Caracas, Edo Miranda, Venezuela

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue determinar el potencial irritante de las membranas de hidrogel (MH) de polivinilpirrolidona (PVP). Para el desarrollo del mismo se empleó la metodología descrita en la Norma ISO 10993-Parte 10 2003. Se utilizaron conejos albinos de la raza Nueva Zelanda, con un peso que osciló entre 2.4-2.5 kg, a los cuales se les aplicaron muestras de hidrogel de 2.5x2.5 cm de superficie. No se observó la presencia de signos de irritación posterior a 1, 24, 48 y 72 horas. El Índice de Irritación Primario (IIP) fue igual a cero, por lo que se clasificaron las MH como un biomaterial que no presenta un potencial irritante significativo. Adicionalmente se verificó el efecto de la exposición de la membrana durante 24 horas, y se observó la presencia de un ligero eritema que desapareció a las 72 horas.

(Palabras clave: membranas de hidrogel; conejo; irritación dérmica; PVP; irradiación gamma)

DERMAL IRRITATION OF HYDROGEL MEMBRANES IN RABBITS

ABSTRACT: The aim of this study was to determine the irritant potential of polyvinylpyrrolidone (PVP) hydrogels membranes (MH). This evaluation was developed using the methodology described in ISO 10993-Part 10, 2003. Albino rabbits of the race New Zealand were used, weighting between 2.4-2.5 kg, to which hydrogels samples 2.5x2.5 cm of thick were applied. The presence of irritation signs at 1, 24, 48 and 72 hours were not observed being the Primary Irritation Index (PII) of zero, ranking the HM as a substance without a significant irritant potential. Additionally, the effect of membrane exposition during 24 hours was verified and the presence of a mild erythema disappearing at 72 hours was observed.

(Key words: hydrogel membranes; rabbits; dermal irritation; PVP; gamma irradiation)

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los biomateriales poliméricos se destacan por su amplio uso en la medicina (1); sobresaliendo en este grupo los hidrogeles (2). Estos se aplican como materiales de recubrimiento, en: quemaduras, heridas de difícil cicatrización, ulceraciones, escaras, injertos en piel, y otros tipos de daños, pues proporcionan un ambiente húmedo fisiológico en el lecho de la herida dado que el agua es su principal componente (3,4).

La tecnología de preparación de hidrogeles mediante radiación ionizante posee numerosas ventajas (5,6). En el caso de los hidrogeles de poli (vinil-2 pirrolidona) (PVP) entre otros, favorecen la reticulación y la esterilización simultánea de la matriz polimérica (7). Sin embargo, en teoría el tratamiento de radiación grado médico puede inducir la degradación y la liberación de compuestos de baja masa molar con propiedades cancerígenas y mutagénicas (8). De ahí que, sea necesario que antes de la aplicación clínica de un biomaterial, se demuestre su alta

biocompatibilidad (9), expresada en no ser tóxico, alergénico, mutagénico, carcinogénico y no poner en peligro la vida del paciente (10), garantizando así su seguridad.

Existen guías para diversos ensayos toxicológicos de obligatorio cumplimiento para evidenciar la seguridad de un compuesto. Específicamente la Organización Internacional de Normalización (ISO) contiene los procedimientos a seguir para la aplicación de ensayos que demuestren la biocompatibilidad de los equipos médicos. En el caso de los dispositivos que se aplican en la piel como las MH se recomiendan la realización de ensayos *in vitro* de citotoxicidad (11) e *in vivo* de irritación y sensibilización dérmica (12), por esta razón los ensayos con animales constituyen un componente inherente para la estimación de la biocompatibilidad de un biomaterial antes de su uso (13). Destacar que en nuestro país se han implantado una serie de metodologías dirigidas a la evaluación biológica preclínica de equipos médicos, basadas en las normas genéricas de la ISO 10993 y en la guía GE-1 del Centro de Control Estatal de Equipos Médicos (14). Por ello el objetivo de este trabajo es determinar el potencial irritante dérmico de la biomembrana de PVP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron membranas de hidrogel contenidas en bandejas de poliéster provistas de tapas del mismo material en bolsas de polietileno selladas, conservadas a temperatura ambiente.

Las membranas de hidrogel se obtuvieron en un irradiador JS-9500 (MDS Nordion, Canadá) ubicado en la Planta PEGAMMA del IVIC (Venezuela), mediante la aplicación de radiaciones ionizantes (gamma) para su síntesis a 25 kGy(15,16).

Se empleó el método establecido para la determinación del potencial irritante de equipos médicos aprobado por la ISO (ISO, 2003). Se utilizaron conejos albinos de Nueva Zelanda, machos, clínicamente sanos y con piel intacta, con un peso aproximado de 2.4-2.5 Kg, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Los animales fueron alojados individualmente en jaulas de acero inoxidable para conejos. La temperatura del local se mantuvo en $22 \pm 3^\circ \text{C}$, la humedad relativa de 30-70 % y un fotoperíodo de 12 x 12 h.

La alimentación consistió en pienso comercial para conejos provenientes del CENPALAB y el suministro de agua fue *ad libitum*. Los animales fueron identifica-

dos mediante presillas de diferentes colores colocadas en la oreja izquierda de cada uno.

Se conformó un grupo de 3 animales por cada período de exposición (4 y 24 h). A pesar de que la norma ISO 10993 - 10 establece un período de 4 horas para clasificar si un producto produce irritación dérmica, se seleccionó un período adicional de exposición de 24 horas debido a que este será el tiempo de aplicación biomédica de esta membrana, con lo cual se garantiza un mayor margen de seguridad.

Se tomaron muestras del hidrogel de 2.5 x 2.5cm. Se empleó como control negativo gasa absorbente, previamente esterilizada, de las mismas dimensiones mencionadas y se aplicaron de forma directa y uniforme encima del área depilada 24 horas antes del ensayo (Figura 1).

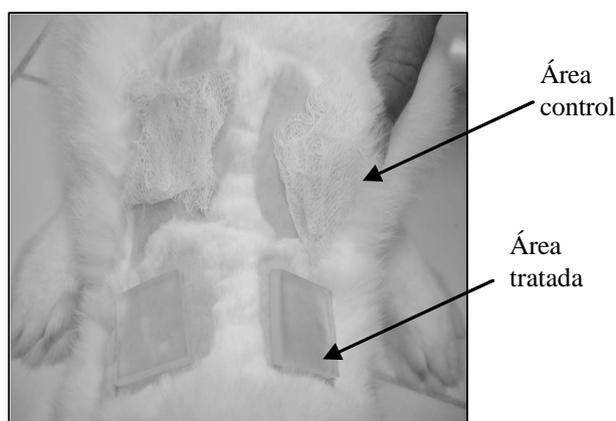


FIGURA 1. Muestra del área tratada (MH) y control (gasa absorbente)./ *Samples of treated area (HM) and control area (absorbent gauze).*

Después de aplicado el producto por un período de 4 y 24 horas se realizaron las observaciones a 1, 24, 48 y 72 horas posteriores al retiro del parche. Se determinó el grado de irritación de acuerdo con el sistema de clasificación de la escala de Draize basado en la aparición de edema y eritema observados en cada sitio de aplicación. Clasificando el hidrogel de acuerdo al Índice de Irritación Primaria y la tabla de clasificación presente en la norma.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el período de exposición de 4 horas no se observaron signos de irritación (Tabla 1, Figura 2); obteniéndose un Índice de Irritación Primario (IIP) igual a cero, clasificándose las MH de PVP como

una sustancia que no presenta un potencial irritante significativo.

TABLA 1. Puntuación de los signos de irritación registrados./ *Mark of the registered irritation signs*

	Sumatoria de Eritema y Edema			Suma total / cada animal
	24 h	48 h	72 h	
Animal 1	1	1	0	2
Animal 2	1	0	0	1
Animal 3	1	1	0	2
Sumatoria total de los 3 animales				5

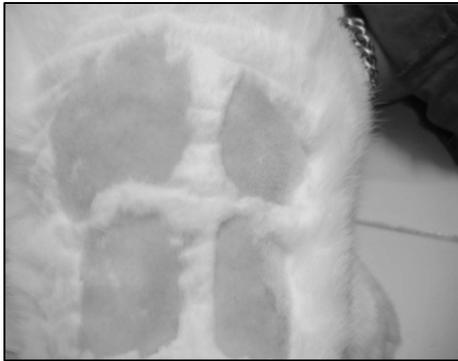


FIGURA 2. Ausencia de signos de irritación después de 24 horas de retirada la membrana de hidrogel en el ensayo de 4 horas de exposición./ *Absence of irritation signs after 24 hours of removing the hydrogel membrane in the test of 4 hours of exposure.*

Estos resultados coinciden con los expuestos por Roguero *et al.* (17) y la RCA (18) tras la evaluación de hidrogeles formados por distintos materiales poliméricos como: Polivinil pirrolidona (PVP) y polietilenglicol (PGE), así como mezclas de PVP y Carboximetilcelulosa (CMC), quitosana, aplicándose diferentes dosis de radiación (5 y 25 kGy), no produciendo irritación dérmica. También se han realizado evaluaciones de la citotoxicidad de PVP demostrándose su bajo potencial tóxico (15,19). Por esta razón se puede expresar que la PVP es un polímero hidrofílico biocompatible con numerosas aplicaciones médicas (20, 21,22).

En el período de exposición de 24 horas las MH mostraron estado de deshidratación. No se observó edema en ningún animal, pero sí un ligero eritema en todos los animales a la 1 y 24 horas (Figura 3), así como en dos animales a las 48 horas de retirado el producto, desapareciendo a las 72 horas (Tabla 1).



FIGURA 3. Presencia de un ligero eritema a las 24 horas de retirada la membrana de hidrogel en el ensayo de 24 horas de exposición./ *Presence of a slight erythema after 24 hours of removing the hydrogel membrane in the test of 24 hours of exposure.*

De acuerdo a las puntuaciones asignadas el IIP = 0.55 clasificándose la membrana de PVP como un irritante leve.

En este ensayo la MH estuvo en contacto con la piel por un tiempo prolongado (24 h), apreciándose su deshidratación. Como los hidrogeles están constituidos por aproximadamente un 80 % de agua, estos tienen la propiedad de hidratarse/deshidratarse (23), la temperatura corporal (37°C) constituye un factor influyente en la misma dependiendo del tiempo de su exposición. La MH cuando se deshidrata se vuelve una materia dura y abrasiva favoreciendo de esta forma la irritación de la piel producto de los mismos movimientos del animal. Este efecto no debe observarse en la clínica pues se garantiza de forma periódica la humectación de las MH cuando su aplicación es prolongada. Sin embargo, este resultado permitió demostrar el bajo potencial irritante de esta membrana, lo que evidencia que las membranas de PVP elaboradas aplicando radiaciones ionizantes no producen irritación dérmica, por lo que su uso presenta un margen de seguridad adecuado en cuanto a la prueba toxicológica evaluada.

REFERENCIAS

1. Rojas M, Vallejo B, Perilla J. Los biopolímeros como materiales para el desarrollo de productos en aplicaciones farmacéuticas y de uso biomédico. *Ing Investig*. 2008;28(1):57-71.
2. Rosiak JM. Study of wound dressing structure and hydration/ dehydration properties. *Radiat Phys Chem*. 1998;2(1-6): 319-322.
3. Benedí J. Apósitos. *Farmacia Profesional*. 2006;20(6):52-56.
4. Lizarbe MA. Sustitutivos de tejidos de los biomateriales a la ingeniería tisular. *Rev R Acad Cienc Exact Fís Nat. VII Programa de Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica*. 2007;101(1):227-249.
5. Singh B, Vashishtha M. Development of novel hydrogels by modification of sterculia gum through radiation cross-linking polymerization for use in drug delivery. *Nucl Instr Meth. In Phys Res*. 2008;266(9):2009-2020.
6. Rezanejade G, Pourjavadi A, Sheikh N, Sadegh M. Grafting of acrylamide onto kappa-carrageenan via gamma-irradiation: Optimization and swelling behavior. *Radiat Phys Chem*. 2008;77(2):131-137.
7. Razim D, Katusin B. The effects of irradiation on controlled drug delivery/controlled drug release systems. *Radiat Phys Chem*. 2008;77(3):288-344.
8. Williams DF. Definitions in biomaterials. In: *Progress in biomedical engineering, Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials*. March 3-5, 1986, Chester, England.
9. Kejlová K, Labský J, Jírová D, Bendová H. Hydrophilic polymers-biocompatibility testing in vitro. *Toxicol in Vitro*. 2005;19(7):957-962.
10. Sabino M. Modificación de superficies de biomateriales poliméricos y estudios de biocompatibilidad. *Rev Iberoam Polim*. 2008;9(3):206-210.
11. Chiellini F. Perspectives on: In Vitro Evaluation of Biomedical Polymers. *J Bioact Comp Polym*. 2006;21(3):257-271.
12. Hage R, Ota S, Cruz A, Benévolo A. Caracterização físico-química e biocompatibilidade in vitro de membranas de hidrogel S/F. Disponible en: <http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/2008/eventos/13479.pdf>. Consultado el 12 noviembre del 2008.
13. International Organization for Standardization. *Biological Evaluation of Medical Devices. Part 10. Tests for irritation and sensitization. ISO 10993*. 2003.
14. Ríos M, Ballenilla T, Cepero J, Rodríguez V, Delgado R, Ríos MA, Carnesoltas D. Red Funcional de Implantología. Su papel en el sistema de evaluación biológica preclínica de biomateriales y equipos médicos implantables en Cuba. *Memorias del II Congreso Latinoamericano de Ingeniería Biomédica. Sociedad Cubana de Bioingeniería*. 2001. Cuba. Artículo 00173.
15. Oliveira M, Amato V, Parra D, Lugão A. Glucantime drug delivery comparison between crosslinked membranes irradiations versus esterification. *International Nuclear Atlantic Conference - INAC. Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 27 to October 2, 2009 ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENERGIA NUCLEAR – ABEN* Disponible en : <http://pintassilgo2.ipen.br/biblioteca/2009/inac/15213.pdf>. Consultado el 10 noviembre del 2009.
16. Wang M, Xu L, Hu H, Zhai M, Peng J, Nho Y, et al. Radiation synthesis of PVP/CMC hydrogels as wound dressing. *Nucl Instr and Meth. In Phys Res*. 2007;265(1):385-389.
17. Rogero S, Malmonge S, Lugão A, Ikeda T, Miyamaru L, Cruz A. Biocompatibility Study of Polymeric Biomaterials. *Artif Organs*. 2003;27(5):424-427.
18. RCA Annual Report. 2007. Disponible en: <http://www.rcaro.org/page/meetings/jaryo/30nrm/RCA%20Annual%20Report%20%202007%20-%20Part%20I.doc> consultado el 10 de Noviembre del 2009.
19. Jiménez J, González N, Fernández M, Elvira C, López, A, San Román J. Estudio de la biocompatibilidad in vitro de polímeros metacrílicos derivados de pirrolidona-ina.

Biomecánica: Órgano de la Sociedad Ibérica de Biomecánica y Biomateriales. Revistas i Congressos UPC. 2007;15(1).

20. Barman S, Schramm H, Warner V. Biocompatible protein-based particles and methods there of cross-reference to related application. United States Patent 7432069. PATENTSCOPE®.2007.
21. Guowei D, Adriane K, Chenc X, Jie Ch, Yinfeng L. PVP magnetic nanospheres: Biocompatibility, in vitro and in vivo bleomycin release. Int J Pharm. 2007; 328:78-85.

22. D'Errico G, De Lellis M, Mangiapia G, Tedeschi A, Ortona O, Fusco S, Borzacchiello A, Ambrosio L. Structural and Mechanical Properties of UV-Photo-Cross-Linked Poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) Hydrogels Biomacromolecules. 2008; 9:231-240.

23. Lugao A.B, Machado LDB, Miranda LF, Álvarez MR, Rosiak J. Study of wound dressing structure and hydration/ dehydration properties. Radiat Phys Chem. 1998;52(1-6):319-322.

(Recibido 13-11-2009; Aceptado 7-1-2010)

¿QUIENES

**PUBLICAN EN
NUESTRA REVISTA?**

**DESDE EL
EXTRANJERO**

•LABORATORIO MANEJO REPRODUCCION ANIMAL UNAM-MEXICO

•DEPARTAMENTO PRODUCCION AGRICOLA Y ANIMAL UNAM-MEXICO

•FACULTAD de MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNIVERSIDAD SAO PABLO BRASIL

•DEPARTAMENTO CIENCIAS BIOLÓGICAS CENTRO DE INVESTIGACION Y ESTUDIOS AVANZADOS
CINVESTAV MEXICO DF

•SETOR DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNIVERSIDADES FEDERAL DE PARANA
CURITIVA BRASIL

•UNIVERSIDAD VERACRUZANA XALAPA VERACRUZ

IDE CUBA

- CENPALAB
- LABIOFAM
- UNAH
- UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CUBA
- UNIVERSIDAD DE CIENFUEGOS
- CIGB
- CIGB CAMAGUEY
- FACULTAD DE BIOLOGIA UH
- ESTACION PASTOS Y FORRAJE "INDIO HATUEY"
- INSTITUTO MEDICINA VETERINARIA CUBA
- INSTITUTO MEDICINA VETERINARIA GUANTANAMO
- CENTRO DESARROLLO MONTAÑA EL SALVADOR
GUANTANAMO
- EMPRESA GENETICA AVICOLA Y PIE DE CRIA
- INSTITUTO CUBANO DE INVESTIGACIONES AZUCARERAS
- CENSA

