

Mikroihly ako perspektíva pre transdermálne terapeutické systémy

Microneedles as a perspective for transdermal therapeutic systems

Tomáš Wolaschka

Došlo 25. februára 2019 / Prijaté 21. marca 2019

Súhrn

Transdermálne terapeutické systémy (TTS) zlepšujú komplianciu pacientov hlavne pre svoju jednoduchú aplikáciu a dlhodobé pôsobenie s nutnosťou výmeny systému každých 12 hodín až niekoľko dní. Výhodou je tiež obídenie *first-pass efektu*, vyhnutie sa gastrointestinálnym nežiadúcim účinkom, stabilné hladiny liečiva v krvi a jednoduché prerušenie liečby odlepením náplasti. Väčšina liečiv však nemá vhodné fyzikálno-chemické vlastnosti na to, aby sa dosiahli terapeutické hladiny pomocou transdermálnej aplikácie, preto je na trhu len obmedzené množstvo liečiv aplikovaných touto cestou. Mikroihly (MI) svojou nebolestivou aplikáciou sa javia perspektívne v zvýšení permeácie liečiva transdermálnou cestou. V tejto prehľadovej práci sú opísané rôzne typy MI (pevné, vrstvené, duté, matricové, hydrogélové), ich veľkosť, tvar, zoskupenie, ale tiež materiály a technológie, ktoré sa využívajú pri výrobe MI. V závere sa práca venuje aktuálnym klinickým štúdiám, v rámci ktorých boli využité MI. Svojimi jedinečnými vlastnosťami majú MI potenciál zvýšiť paletu transdermálne podávaných liečiv, v súčasnosti aplikovaných inou cestou podania. MI tak môžu doslova raziť cestu transdermálnej aplikácii nedostatočne penetrujúcim malým molekulám, ale aj veľkým molekulám ako vakcínam, monoklonálnym protilátkam alebo siRNA.

KLúčové slová: mikroihly • materiály • tvar • transdermálna aplikácia liečiv • transdermálna aplikácia vakcín • klinické štúdie

Summary

Transdermal Therapeutic Systems (TTS) improve patient compliance especially due to its simple application and

long-term action with the need to exchange the system every 12 hours to several days. The advantages also include elimination of *first-pass effect*, avoidance of gastrointestinal adverse effects, stable drug levels in the blood and simple discontinuation of therapy by patch removing. However, most drugs do not have the appropriate physicochemical properties to achieve therapeutic levels by transdermal application, therefore only a limited amount of drugs administered by this route is available on the market. Microneedles (MI) by their painless application appear to increase drug permeation when applied transdermally. In this review work, various types of MI (solid, coated, hollow, matrix, hydrogel forming) their size, shape, grouping, but also materials and technologies used in MI production are described. Finally, the work is focused on current clinical trials in which MI have been tested. MI with their unique properties have potential to increase the range of transdermally administered drugs currently applied by another route of administration. MI can simply pave the way for transdermal delivery to poorly penetrating small molecules as well as large molecules such as vaccines, monoclonal antibodies, or siRNA.

Key words: microneedles • materials • shape • transdermal drug delivery • vaccine delivery • clinical trials

Úvod

Koža so svojou plochou približne 2 m² u dospelých je najväčším orgánom v tele. Koža má rôzne funkcie, ako je ochrana vnútorného prostredia pred vniknutím exogénnych toxických látok a zabezpečenie integrity celého organizmu tak, aby voda a ostatné dôležité endogénne látky z tela nevytekali. Kvôli ochrannej funkcii kože je z farmakologického hľadiska problematický prestup liečiv cez pokožku (epidermu) v dostatočnom množstve. Rohová vrstva kože (stratum corneum) s pomerne malou hrúbkou 10 – 15 μm je najväčšou bariérou pre prestup liečiv cez pokožku. Pod rohovou vrstvou sa nachádzajú ďalšie štyri vrstvy pokožky, bunkového tkaniva bez vascularizácie s celkovou hrúbkou 50 – 100 μm. Nedávno sa zistilo, že bunky epidermy sú spojené tesnými spojmi (zonula occludens, tight junction). Tesné bunkové spoje

PharmDr. Tomáš Wolaschka, PhD. (✉)

Katedra farmaceutickej technológie

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

Komenského 73, 041 81 Košice, SR

e-mail: tomas.wolaschka@uvlf.sk

spolu s bunkovými lipidmi vytvárajú ďalšiu účinnú bariéru v prestupe molekúl cez pokožku¹⁾. Pod pokožkou sa nachádza 4 mm hrubá zamša (corium), ktorá je prostredníctvom papilárnej vrstvy (stratum papillare) zaklieštená do epidermy. Papilárna vrstva pozostáva z tenkých zväzkov kolagénu, elastínových vlákien, fibrocytov a je hrubá 100 – 200 μm . Hlbšie vrstvy zamše obsahujú hrubé zväzky kolagénu a hrubých elastických vlákien. V zamši sa nachádzajú cievne a lymfatické kapiláry, nervové zakončenia, potné a mazové žľazy. Iba liečivá, ktoré prekonajú vzdialenosť 160 – 315 μm z povrchu kože k cievny a lymfatickým kapiláram, prechádzajú rohovou vrstvou, ostatnými časťami epidermy cez pevné medzibunkové spoje a papilárnu vrstvu zamše majú šancu vstúpiť do krvného riečiska a dosiahnuť systémový efekt. Pod zamšou sa nachádza podkožné väzivo (tela subcutis) hrubé niekoľko milimetrov. Obsahuje tukové tkanivo, krvné a lymfatické cievy a nervy²⁾.

Napriek mnohým výhodám systémovej aplikácie liečiv transdermálnou cestou sa táto lieková forma v praxi využíva len u pomerne malého množstva liečiv. Pri liečbe silných bolestí sú nezastupiteľné náplasti s obsahom fentanyl alebo buprenorfínu. Okrem toho sú v Čechách a na Slovensku registrované náplasti s rotigotínom (antiparkinsonikum), rivastigínom (liečba Alzheimerovej demencie), oxybutinínom (urologikum), granisetronom (antiemetikum), pohlavnými hormónmi (testotestron, estradiol, norelgestromín, estrogén, gestodén, etinylestradiol) a voľnopredajné náplasti s nikotínom na liečbu závislosti od tabaku a náplasti s diklofenakom, ktoré sú určené pre lokálne ošetrenie traumatických a reumatických bolestí a zápalov. V zahraničí sú k dispozícii náplasti s nitroglycerínom, skopolamínom, metylfenidátom, selegilínom a klonidínom. Jedným z dôvodov, prečo transdermálne náplasti nepokrývajú širšiu paletu farmakologických skupín, je problematická permeácia liečiv rohovou vrstvou kože. Ako možno zvýšiť permeáciu liečiv kožou? Je otázka, ktorou sa zaoberá súčasný výskum TTS. Jednou z možností je vývoj nových liečiv s fyzikálno-chemickými vlastnosťami vhodnými pre transdermálnu aplikáciu. Z technologického hľadiska je možností viacej. Pridaním pomocných látok tzv. enhancerov, ktoré chemicky zvyšujú permeabilitu kože, čím urýchľujú permeáciu liečiv. Využitím nosičových mikroforiem (napr. mikroemulzií, lipozómov, niozómov). Elektro-mechanické metódy, ktoré zahŕňajú iónofóru, elektroporáciu, mechanickú alebo laserovú mikroabráziu kože, použitie ultrazvuku, vysokorýchlostnej aplikácie liečiva stlačeným plynom³⁾. Ďalším spôsobom je modernizácia liekovej formy pomocou mikrovýrobných technológií.

Mikrovýrobné technológie umožňujú vyrábať miniatúrne zariadenia využívané v medicíne, ktoré dokážu snímať, čerpať, transportovať, miešať, monitorovať a kontrolovať malé objemy tekutín⁴⁾. Výrazný pokrok bol v biomedicíne zaznamenaný najmä u TTS. Tieto TTS môžu pozostávať z mikroihiel (MI), mikropúmp, rezervoárov, prietokového senzora, senzora snímajúceho tlak krvi a elektrického obvodu. Pre transdermálny prívod liečiva sú atraktívne práve MI⁵⁾.

Veľkosť a tvar mikroihiel

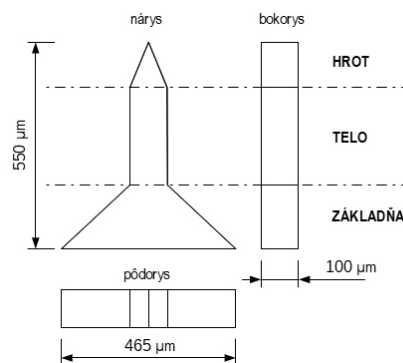
MI sú malé ihly mikroskopickej veľkosti, ktoré po aplikácii do kože porušujú stratum corneum a vytvárajú mikrokanály, ktoré umožňujú permeáciu liečiva. MI sú svojou aplikáciou minimálne invazívne a bolestivé, ak neprenikajú do hlbších častí zamše, kde sú umiestnené nervové zakončenia⁶⁾. Rozmery MI a ich počet vplyva na bolestivosť pri aplikácii. Dĺžka MI má najväčší vplyv na bolestivosť aplikácie. Bolo zistené, že predĺženie MI zo 480 μm na 1450 μm zvýšilo bolestivosť aplikácie 7-násobne. 10-násobné zvýšenie počtu MI viedlo k 2-násobnému zvýšeniu bolestivosti. Uhol hrotu, šírka a hrúbka MI nemali signifikantný vplyv na bolestivosť pri aplikácii⁷⁾.

Tvar a veľkosť MI musí umožňovať ľahké prepichnutie kože, preto logicky možno predpokladať, čím ostrejší hrot – tým ľahšia penetrácia. Zároveň však MI musí byť dostatočne pevná, aby odolala tlaku pri penetrácii a strihovej sile, ktorá sa pri ručnej aplikácii nedá vylúčiť. Pevnosť narastá s hrúbkou MI. Uvedené závisí aj od použitého materiálu. U MI vyrobených z pevných materiálov (kremík, kovy) viedlo zníženie priemeru hrotu k ľahšej penetrácii bez ohľadu na vzdialenosť medzi MI⁸⁾. U polymérnych materiálov však zmenšenie priemeru hrotu viedlo k oslabeniu tela MI a ich ľahšiemu lámaniu, čo môže ovplyvniť ich penetráciu do kože⁹⁾. Hlavné faktory, ktoré ovplyvňujú penetráciu kože a silu zlomu, sú typ materiálu, výška MI, šírka základne, polomer zakrivenia hrotu, tvar MI, celková hrúbka MI a hustota MI¹⁰⁾.

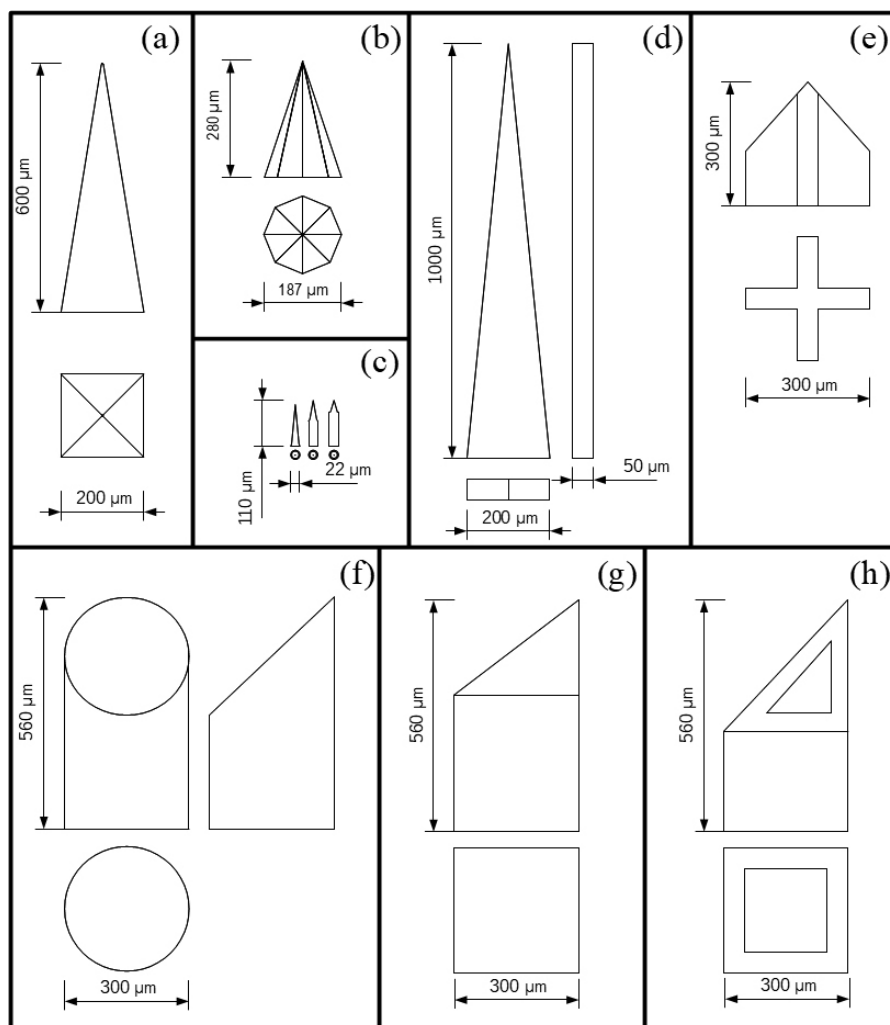
Typické rozmery MI sú:

- dĺžka 150 – 1500 μm
- šírka základne 50 – 250 μm
- šírka hrotu 1 – 25 μm ¹¹⁾

Tvar MI je rôznorodý, častokrát súvisí s použitou technológiou výroby. MI možno rozlíšiť v náryse na základňu, telo a hrot (špic) MI (obr. 1). Základňa je priamo spojená s podkladom, niekedy sa k telu zužuje v prípade kónických tvarov, alebo má rovnaký tvar v prípade valcovitých tvarov. Hrot MI sa nachádza na



Obr. 1. Schematický náčrt MI z rôznych pohľadov spredu (nárys) z boku (bokorys) zvrchu (pôdorys). Bodkočiarkou je rozlíšený hrot, telo a základňa MI (spracované podľa¹²⁾)

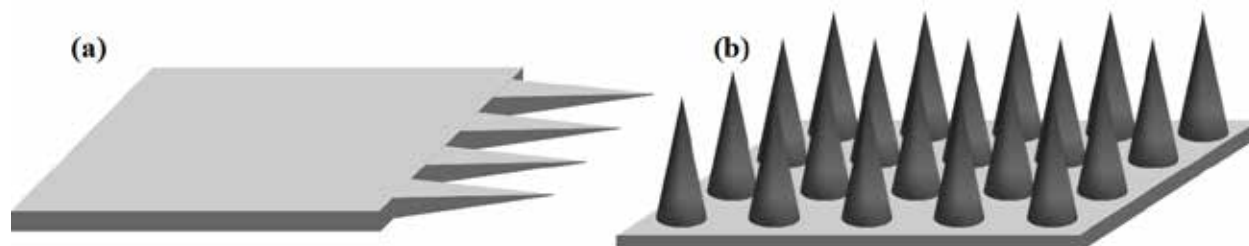


Obr. 2. Schematický náčrt niektorých tvarov MI. Tvary: pyramídálny (a), oktaédrického ihlana (b), valeca s kužeľovitým hrotom (c), klinu (d), keramické MI s prierezom v tvare kríža (e), kruhu (f), plného štvorca (g), dutého štvorca (h) (spracované podľa¹²⁻¹⁷⁾)

konci tela, kde sa postupne MI zužuje najčastejšie do stredu alebo je hrot šikmo rezaný a zužuje sa na jednu stranu MI.

Medzi časté tvary patrí pyramídálny tvar pravidelného kvadratického ihlana (obr. 2a). Takto sú formované pevné kremíkové MI, ktoré je možné použiť samostatne pri aplikáciách, alebo slúžia ako nástroj pre výrobu foriem na mikroodlievanie matricových alebo hydrogélových MI¹³⁾. Kremíkové MI boli tvarované aj do oktaédrického ihlana (obr. 2b), ale aj do

tvaru veľmi malých valčekov (obr. 2c) s priemerom 22 μm s kužeľovitým hrotom^{14, 15)}. Klinovité MI (obr. 2d) boli vyrobené z nehrdzavejúceho plechu laserovým rezaním. Mimo rovinu boli ohnuté manuálne o 90 °. Bokorys klinu s hrúbkou 50 μm odpovedá hrúbke plechu po leštení¹⁶⁾. Obdobný bokorys mali aj polykarbonátové MI (viz obr. 1), ktoré boli vyrobené mikroodlievaním¹²⁾. Zaujímavé tvary boli zvolené pri výrobe pevných a dutých keramických MI s prierezom v tvare kruhu, kríža a plného alebo dutého štvor-



Obr. 3. Schematické znázornenie zoskupenia MI v rovine (a), mimo rovinu (b) (spracované podľa^{20, 21)})

ca (obr. 2e–h). Tieto MI, okrem križa, majú skosený hrot na stranu¹⁷⁾.

Tvar a povrchová úprava MI boli výrazne ovplyvnené aj štúdiom bodavo-cicavých orgánov hmyzu a bolo dokázané, že prítomnosť pílovitých zúbkov a vibrácie podľa živočíšnej predlohy minimalizujú silu potrebnú na vpichnutie do kože. MI sú zvyčajne vyrábané ako zoskupenia MI na podklade. MI môžu byť orientované v rovine (obr. 3a), keď je ich pozdĺžna os k podkladu rovnobežná alebo mimo roviny (obr. 3b), keď je ich pozdĺžna os k podkladu kolmá¹⁸⁾. Z hľadiska priestorového obmedzenia sú MI v rovine tvorené jednou až niekoľkými MI, zatiaľ čo MI mimo roviny sú tvorené niekoľkými desiatkami až stovkami MI. Pri zoskupení viacerých ihli je dôležitá aj vzdialenosť medzi ihlami. Ak by bola príliš krátka MI by pri injektovaní komprimovali tkanivo, čím by si bránili preniknutiu do požadovanej hĺbky. Preto sa odporúča pri 500 µm dlhých MI dodržať vzdialenosť medzi MI 350 µm, prípadne viac¹⁹⁾.

Typy mikroihiel

Zvolený technologický proces a použitý materiál určuje typ MI. V literatúre sa stretávame s piatimi rôznymi typmi MI: pevnými, navrstvenými, dutými, matricovými a vytvárajúcimi hydrogél (tab. 1).

V roku 1995 bola publikovaná práca Hashmi et al.²²⁾, kde využili zoskupenie kremíkových MI na prepichnutie buniek a nematód, čím bol zabezpečený zvýšený príjem molekúl a génová transfekcia. Neskôr sa objavujú práce využívajúce pevné MI na aplikáciu liečiv.

Pevné MI neobsahujú liečivo, slúžia na prepichnutie pokožky. Tým sa vytvorí v rohovej vrstve kože prestupné hydrofilné kanáliky. Následne sa pevné MI odstráni a aplikuje sa lieková forma s liečivom (transdermálna náplasť, krém, gél, pena, roztok), ktoré permeuje uľahčene cez takto vytvorené mikrokanáliky pomocou pasívnej difúzie²³⁾. Aplikčný postup môže byť aj opačný, kedy sa najprv aplikuje lieková forma s liečivom a následne sa prepichne pokožka zoskupením pevných MI²⁴⁾. Hlavnou

Tab. 1. Typy MI, princíp aplikácie liečiva, materiály použité na ich výrobu, základné technologické postupy výroby a aplikované látky

Typ MI	Princíp aplikácie	Materiály	Technológie výroby	Aplikované látky	Odkazy
pevné	MI nebolestivo perforujú pokožku pred/po aplikácii liekovej formy s liečivom, ktoré permeuje difúziou uľahčene cez mikrokanáliky vytvorené pevnými MI.	kremík, zliatiny kovov, polyméry, keramika	leptanie, fotolitografia, mikroopracovanie, mikroodlievanie	kalceínový gél	12, 14, 15, 17, 24
vrstvené	MI po aplikácii uvoľňujú liečivo rozpúšťaním, ktoré je navrstvené na povrchu pevnej MI.	ako pevné, vrstva s liečivom, ktoré je dispergované vo vhodnom polyméri	liečivo nanášané plynovou tryskou, čiastočným ponorením do roztoku s liečivom a sušením	ovalbumín, desmopresín, inaktivovaný vírus chrípky	25–28
duté	Ako injekčné ihly, po prepichnutí pokožky liečivo v tekutom stave preniká cez dutinku MI do pokožky pasívnou difúziou alebo pomocou tlaku, či elektriny.	kremík, zliatiny kovov, sklo, keramika a polyméry	leptanie, fotolitografia, mikroopracovanie, mikroodlievanie	diklofenak, inzulín	17, 29, 30–33
matricové	Po prepichnutí pokožky sú matricové MI rozpustené alebo degradované, pričom sa uvoľňuje liečivo v nich dispergované.	rozpuštné polyméry: PVA, PVP, CMC, dextrán, chondroitínsulfát; cukry; biodegradovateľné polyméry: kyselina polymliečna, polyglykolová, chitosan, PLGA	mikroodlievanie	inaktivovaný vírus chrípky, sulforhodamín B, kalceín, somatotropín	34, 35
hydrogélové	MI po prepichnutí pokožky rýchlo napučávajú a vytvárajú nerozpustný hydrogél, ktorý riadi uvoľňovanie liečiva z náplasti prostredníctvom difúzie.	polyméry: PVMV-PE, chitosan; PVA, dextrán, CMC	mikroodlievanie	inzulín, hovädzí sérový albumín	13, 36, 38

MI – mikroihly, PVA – polyvinylalkohol, PVP – polyvinylpyrolidón, CMC – karboxymetylcelulóza, PLGA – kopolymér kyseliny mliečnej a glykolovej, PVMP-PE – polymér kyseliny polymetylvinyléter-ko-maleinovej siet'ovaný pektínom

nevýhodou pevných MI je relatívne komplikovanejšia aplikácia, ktorá pozostáva z dvoch krokov. Materiály, ktoré sa využívali na výrobu pevných MI, sú hlavne kremík^{14, 15}, kovy¹⁶, keramika¹⁷) a polyméry^{12, 24}).

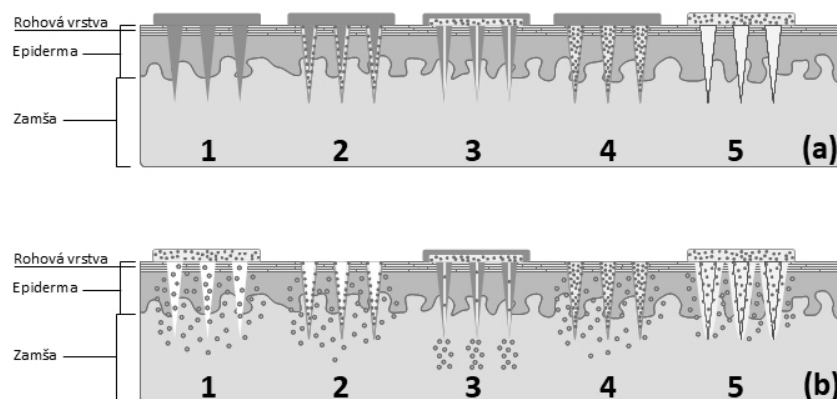
Vrstvené MI sa pripravujú navrstvením liečiva na pevné MI. Po prepichnutí pokožky vrstvenými MI ostáva navrstvená časť s liečivom v pokožke, kde sa postupne rozpušťa. Tento typ MI umožňuje jednokrokový aplikačný proces. Hlavnou nevýhodou je však obmedzený priestor na povrchu pevných MI na navrstvenie liečiva a tým aj obmedzené množstvo aplikovaného liečiva. Vrstvené MI sú preto predurčené na podávanie veľmi účinných liečiv, doteraz boli použité na rýchle podanie rôznych peptidov, proteínov a vakcín do pokožky. Keďže vrstvené MI sa vyrábajú z pevných MI, materiály použité na ich výrobu sú totožné – kremík²⁵, kovy^{26, 27}) a polyméry²⁸). Vrstvu liečiva možno nanášať plynovou tryskou, ktorá rozprašuje roztok liečiva v prúde plynu, napr. dusíka pri rôznych uhloch (20 °, 70 °) za stálej rotácie zoskupenia MI, tak aby navrstvenie bolo rovnomerné. Pomocou tejto metódy dochádza k rýchlemu vysušeniu liečiva na povrchu MI²⁵). Ďalší spôsob spočíva v namáčaní MI do roztoku liečiva a následnom vysušení²⁶). Do roztokov boli pridávané látky, ktoré zlepšujú zmáčanie (polysorbát), alebo zvyšujú viskozitu (metylcelulóza)^{25, 26}).

Duté MI sú analogické s tradičnými injekčnými ihlami. Po prepichnutí pokožky sa liečivo injektuje cez dutinky MI do pokožky. K permeácii liečiva dochádza buď pasívnou difúziou, alebo aktívne pomocou tlaku či elektriny. Základnou výhodou tohto systému je schopnosť aplikácie väčšieho množstva liečiva ako pri aplikácii pevných, vrstvených či matricových MI. Nevýhodou je možnosť upchania ihiel tkanivom počas aplikácie, čo je možné pravdepodobne eliminovať umiestnením otvoru ihly na bok hrotu. Ďalšou nevýhodou je odpor zhusťeného tkaniva pokožky voči toku, ktoré sa komprimuje počas injektovania, čo je možné eliminovať čiastočným povytiahnutím dutých MI po inzercii. Tým sa uvoľní

komprimované tkanivo okolo ihiel a uľahčí prúdenie injektovaného roztoku liečiva. Na výrobu dutých MI boli použité materiály ako kremík²⁹), kovy³⁰), sklo³¹), polyméry³²) a keramika³³).

Matricové MI sa vyrábajú mikroodlivaním zmesi biokompatibilného rozpustného polyméru alebo cukru a liečiva. Po aplikácii matricových MI do pokožky dochádza k postupnému rozpúšťaniu matrice v styku s intersticiálnou tekutinou a uvoľňovaniu liečiva. Uvoľňovanie liečiva je tak riadené rýchlosťou rozpúšťania matrice, ktoré je možné modifikovať zložením matrice alebo modifikáciou MI počas výrobného procesu. Hlavnou výhodou matricových MI je ich biokompatibilita, nízka cena polymérnych materiálov a relatívne ľahká výroba pomocou mikroodlívania pri izbovej teplote, a teda nekomplikovaná následná hromadná výroba vo farmaceutickom priemysle. Na ich výrobu boli použité rozpustné polyméry ako polyvinylalkohol (PVA), polyvinylpyrolidón (PVP), dextrans, karboxymetylcelulóza (CMC), chondroitínsulfát a cukry³⁴). Aj keď ide o rozpustné a biokompatibilné materiály, ich zvyšky v pokožke najmä pri dlhobodej aplikácii môžu vyvolať podráždenie pokožky. Alternatívou sú biodegradovateľné materiály ako kyselina polymliečna, chitosan, kyselina polyglykolová alebo kopolymér kyseliny mliečnej a glykolovej (PLGA), ktoré sa po aplikácii do pokožky hydrolyzujú na menšie molekuly, čím sa uvoľňuje liečivo. Každopádne na ich výrobu sú potrebné zväčša vyššie teploty, ktoré môžu degradovať inkorporované termolabilné biomolekuly³⁵).

MI vytvárajúce hydrogél sú jedným z nových typov MI. Sú tvorené MI bez liečiva zo sieťovaného polyméru, ktoré sú pripevnené k náplasti s liečivom. Po inzercii do pokožky sa MI rýchlo hydratujú intersticiálnou tekutinou, napučiajú a vytvárajú hydrogél, cez ktorý prechádza liečivo z náplasti prostredníctvom difúzie. Na ich výrobu boli použité polyméry kyseliny polymetylvinyléter-ko-maleinovej (PMVM) sieťovanej esterifikáciou pektínom³⁶) alebo polyetylenglykolom³⁷),



Obr. 4. Schematické znázornenie jednotlivých typov zoskupení MI a mechanizmu prieniku liečiva do zamše: aplikácia jednotlivých typov MI (a), permeácia liečiva cez prepichnutú pokožku (b)

1 – pevné MI, 2 – vrstvené MI, 3 – duté MI, 4 – matricová MI, 5 – hydrogélové MI (spracované podľa⁴¹)

chitosan¹³⁾, PVA, dextrans a CMC³⁸⁾. Zosieťovaním polymérov tvoriacich MI sa tie stávajú nerozpustné, preto po aplikácii ostávajú neporušené a nezanechávajú žiadne rezíduá v pokožke. Zároveň sa hydratáciou stávajú natoľko zmäkčené, že ich nie možné opätovne použiť. Limitujúcim však ostáva pomerne pomalý prestup liečiva cez gélovú vrstvu napučaného polyméru a veľké množstvo liečiva, ktoré v tejto vrstve ostáva po aplikácii.

Liečivo môže byť zoskupením MI podané pomocou viacerých spôsobov zobrazených na obrázku 4:

1. prepichnutím kože pomocou usporiadania pevných MI pred alebo po aplikácii TTS (náplast', gél, sprej) na ošetrované miesto
2. navrstvením liečiva na MI a ich vpichnutím do kože s následným rozpustením liečiva z vytvoreného filmu
3. injikovaním liečiva pomocou dutých MI
4. zapuzdrením liečiva do biodegradovateľných alebo rozpustných matricových MI a ich vpichnutím do kože na dosiahnutie riadeného účinku ich rozpadom alebo rozpustením³⁹⁾
5. prepichnutím kože pomocou polymérnych MI, ktoré rýchlo hydratujú, zväčšujú svoj objem, vytvárajú nerozpustných hydrogél, ktorý umožňuje pomalý prestup liečiva⁴⁰⁾

Materiály využívané na výrobu mikroihiel

Jedným z prvých materiálov použitých na výrobu MI bol **kremík**, ktorý bol použitý koncom 20. storočia. Súvislosť možno nájsť s rozvojom priemyselných precíznych mikroelektronických zariadení a úspešným používaním kremíka pri výrobe mikroelektromechanických systémov. V roku 1998 vyrobili Henry et al. zoskupenie pevných kremíkových MI s dĺžkou približne 150 μm , leptaním reaktívnymi iónmi zmesi plynov fluoridu sírového (SF_6) a kyslíka (O_2). MI ľahko prenikali pokožkou a zvýšili biologickú dostupnosť kalceínu 4-násobne²¹⁾. Hlavnou výhodou kremíka je variabilita výrobného procesu, ktorá umožňuje kremík formovať do rôznych tvarov s mikroskopickými rozmermi. Pripravené MI z kremíka boli dostatočne pevné na to, aby prepikli pokožku. Z kremíka boli pripravené pevné¹⁴⁾, duté²⁹⁾, ale aj vrstvené MI²⁵⁾. Nevýhodou kremíka je jeho vysoká cena, zložitý viacstupňový spracovanie a z toho vyplývajúci dlhší výrobný čas. Kremík je tvrdý, ale zároveň krehký materiál, MI sa môžu v pokožke zlomiť a spôsobiť jej podráždenie²¹⁾. Kremíkové MI v ďalších štúdiách často slúžili ako predforma na výrobu dutých foriem z polydimetylsiloxánu, ktoré sa odlievali pri výrobe matricových a hydrogélových MI³⁶⁾.

Borokremičité sklo bolo použité na výrobu dutých MI. Sklo je fyziologicky inertný materiál, umožňuje vizualizáciu toku kvapalín. Na výrobu MI bola použitá laboratórna technika ťahania skla ako pri výrobe pipiet. Hrot bol skosený brúsením, následne krátko zahriaty aby sa vyhladil povrch. Sklo je dostatočne tvrdý materiál, MI z neho vyrobené prenikali pokožkou do hĺbky 150 – 700 μm . Základnou nevýhodou skla je však jeho krehkosť, čo môže viesť k obdobným problémom s úločkami, ktoré

ostávajú v pokožke ako pri kremíkových MI. Ručná výroba sklenených MI je časovo náročná, takéto MI sa používajú skôr pre laboratórne účely. Využitie sklenených MI na transdermálnu aplikáciu liečiv je preto málo pravdepodobné³¹⁾.

Keramika bola použitá ako ďalší materiál na výrobu MI. Obdobne ako sklo je tento materiál tvrdý ale krehký. Výhodou keramiky je chemická inertnosť. Jedným z materiálov použitých na výrobu MI bol oxid hlinitý (Al_2O_3), ktorý sa odlieval do vopred vyrobených foriem a následne sa vypálil. Takýmto spôsobom boli vyrobené pevné a duté MI s dĺžkou 540 μm rôznych tvarov so základňou v tvare kruhu, štvorca, kríža. Počas manuálneho vpichu MI do silikónovej gummy, kedy nebola kontrolovaná strihová sila, dochádzalo k ich zlomeniu¹⁷⁾. Cai et al. vyrobili ihlanovité keramické MI zo sadry ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) a hydrogénfosforečnanu vápenatého dihydrátu ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) s liečivom zolpidemom. Liečivo bolo pridané do biokeramickej pasty pred odliatím a vytvrdnutím⁴²⁾. Na výrobu MI bol použitý aj hybridný anorganicko-organický polymérny materiál s názvom Ormocer[®]. Tento materiál spája pozitívne vlastnosti anorganických látok (pevnosť, tepelná a chemická stabilita) a organických látok (tuhosť, jednoduché spracovanie a funkcionalizácia pomocou naviazania funkčných skupín)³³⁾.

Kovy sú dostatočne tvrdým, ale aj pevným materiálom, ktorý sa používa v rôznych oblastiach medicíny. Samotné injekčné ihly aplikované intravenózne či intradermálne sú z nehrdzavejúcej ocele, implantáty a protézy sa vyrábajú z titánu. Na výrobu prvých MI z nehrdzavejúcej ocele boli použité komerčné intradermálne ihly 30G, ktoré boli vložené do termoplastického plátu s vyhlbenými dierami v rasti 4 × 4. Ihly boli vložené tak, aby z plátu pretŕčali v požadovanej dĺžke, následne boli zrezané na druhej strane plátu a zaliate lepidlom⁴³⁾. V súčasnosti sa používajú na výrobu MI z kovu techniky mikroopracovania, ako laserové vyrezanie z veľmi tenkého plechu²⁷⁾, fotochemické leptanie²⁶⁾ alebo galvanické pokovovanie formy požadovaného tvaru³⁰⁾. Na ich výrobu boli použité kovy ako nikel, zliatina nikel-železo³⁰⁾, titán²⁶⁾, paládium, zliatina paládium-kobalt⁴⁴⁾ ale aj zlato.

Z **cukrov** sa najčastejšie používala na výrobu MI maltóza¹⁹⁾. Okrem nej to boli manitol, trehalóza, sacharóza, xylitol a galaktóza^{45, 46)}. Vyrobené boli odlievaním taveniny do kremíkových alebo oceľových foriem. Liečivo sa pridáva do taveniny pred odlievaním. Uvoľňovanie liečiva z cukorných MI riadi rýchlosť rozpúšťania cukrov v koži. Cukry sú lacné a bezpečné, avšak mechanické vlastnosti neboli dostatočne presvedčivé. Kombinácia s inými látkami, napr. s CMC, však môže zlepšiť niektoré vlastnosti týchto MI⁴⁷⁾. Príprava MI pri zvýšenej teplote môže spôsobovať degradáciu termolabilných látok. Okrem mikroodlievania bola použitá aj litografická tlač na výrobu maltózových MI s inkorporovanými hydrofilnými liečivami 2-glukozit kyselinou askorbovou a niacinamidom⁴⁸⁾.

Polymérne látky vo výrobe MI majú niekoľko výhod a predstavujú alternatívu v spôsobe aplikácie. Na ich výrobu sa používa najčastejšie mikroodlievanie roztoku

polyméru do formy, čo je pomerne lacný a jednoduchý proces, kde techniky mikroopravovania sa používajú najmä pri výrobe formy. Polyméry používané na výrobu MI môžeme rozdeliť na **biodegradovateľné, rozpustné a zosieťované**.

MI z biodegradovateľných polymérov umožňujú riadené uvoľňovanie od niekoľkých hodín po niekoľko mesiacov ich postupným odbúraním na netoxické zlúčeniny, ktoré sú z tela eliminované prirodzenými metabolickými procesmi. Vďaka týmto vlastnostiam sú biodegradovateľné polyméry vhodné na výrobu MI určených na dlhodobý prívod liečiva. Biodegradovateľné polyméry použité na výrobu MI boli prírodného alebo syntetického pôvodu. Prírodné biodegradovateľné polyméry sú hodváb⁴⁹⁾ a chitín⁵⁰⁾. Z chitínu bolo vyrobené zoskupenie MI s výškou 750 μm a priemerom základne 300 μm . MI vykazovali pevnosť v zlome viac ako 0,2 N, pričom na prepichnutie ľudskej pokožky je požadovaná pevnosť v zlome viac ako 0,1 N. Boli použité ako alternatíva tuberkulínového kožného testu⁵⁰⁾. Na výrobu MI z hodvábu boli použité kokóny *Bombyx mori* priadky morušovej, z ktorých sa po spracovaní získal vodný roztok hodvábného proteínu fibroínu, do ktorého bol pridaný ovalbumín. Samotné MI pozostávali zo základne z polyakrylovej kyseliny, ktorá sa v koži rýchlo rozpúšťala a hodvábných fibroínových špičiek. Obe obsahovali ovalbumín, ktorý sa rýchlo uvoľňoval zo základne a hodvábné špičky zabezpečovali postupné pomalé uvoľňovanie ovalbumínu v priebehu 1 – 2 týždňov⁴⁹⁾.

Syntetické biodegradovateľné polyméry sú kyselina poly(mliečna-ko-glykolová)⁵¹⁾, kyselina polyglykolová⁵²⁾, kyselina polymliečna⁵³⁾ z ktorých boli vyrobené zoskupenia MI s dĺžkou 380 – 750 μm a priemerom v základni 100 – 182 μm , ktorých kinetika uvoľňovania liečiva bola niekoľko hodín až mesiacov v závislosti od použitých polymérov a prípadnej predchádzajúcej enkapsulácii liečiva s ďalšími polymérmi.

MI z rozpustných polymérov poskytujú rýchle uvoľnenie do niekoľkých minút. Tieto polyméry sú rozpustné vo vode a MI z nich vyrobené sa môžu rýchlo a kompletne rozpustiť v koži bez zanechania biologickej nebezpečného odpadu. Rýchle rozpustenie ihiel je sprevádzané prudkým uvoľnením zapuzdreného obsahu, a preto sú vhodné pre okamžité uvoľňovanie liečiva⁵⁴⁾. Väčšina rozpustných polymérov, ktoré boli použité na výrobu MI, sú polysacharidy, ktoré obsahujú veľké množstvo hydrofilných skupín, prípadne sú aj rozvetvené, čo urýchľuje ich rozpúšťanie vo vodnom prostredí. Z polysacharidov boli použité na výrobu MI CMC⁴⁷⁾, hydroxypropylcelulóza, hydroxypropylmetylcelulóza⁵⁵⁾, chondroitín sulfát sodný⁵⁶⁾, alginát sodný⁵⁷⁾, dextrans⁵⁶⁾, amylopektín⁵⁸⁾, maltóza, kyselina hyalurónová⁵⁹⁾. MI boli dostatočne pevné aby prepichli pokožku, kde sa rýchlo rozpúšťali a uvoľňovali modelové liečivá ako monoklonálny IgG, donepezil, desmopresín. Okrem polysacharidov boli použité na výrobu rozpustných MI látky ako gelatín⁶⁰⁾, poly- γ -glutámová kyselina⁶¹⁾, PVP^{62–64)}, polyvinylalkohol 96, PMVE/MA⁶⁵⁾.

MI zo sieťovaných polymérov po prepichnutí kože v nej napučávajú, po vytiahnutí zostávajú intaktné a sú základom pre tzv. hydrogélové MI. Na výrobu gélových MI bol použitý polymér kyseliny polymetylvinyléter-ko-maleinovej sieťovaný pektínom³⁶⁾ alebo polyetylén-glykolom³⁷⁾. MI boli dostatočne tvrdé, aby prenikali pokožkou, a tuhé, aby sa nelámali. Hroty ihiel v pokožke napučali a vytvárali priechody pre trvalú difúziu liečiva z náplasti do dermálnej mikrocirkulácie. Tieto materiály sú biokompatibilné, nedráždivé a nezanechávajú žiadne reziduá v pokožke⁴⁰⁾. Ďalšie hydrogélové MI boli vyrobené zo zmesi PVA, dextransu a CMC mikroodlievaním pri zníženom tlaku s následnou lyofilizáciou, tieto MI boli 800 μm dlhé a priemer základne bol 300 μm ³⁸⁾.

Rýchlosť uvoľňovania liečiva nezávisí len od typu polyméru, ktorý bol pri výrobe použitý, ale aj od samotného výrobného procesu. Liečivo je pri výrobnom procese zapuzdrené do štruktúrneho materiálu ihiel, opornej plochy alebo do oboch častí a difunduje v priebehu rozpustenia alebo odbúrania zoskupenia MI do kože⁶⁶⁾.

Napriek mnohým výhodám polymérov je ich použitie spojené s určitými obmedzeniami. V prípade že sa pri výrobe používa zvýšená teplota na roztopenie polyméru, môže pri inkorporácii liečiv, hlavne bielkovinovej povahy, dochádzať k denaturácii ich primárnej a sekundárnej štruktúry. Problémom je aj znižovanie mechanickej pevnosti MI, zvyšovaním podielu liečiva v štruktúrnej matici MI. Pri podiele liečiva 10 % nemali MI dostatočnú pevnosť. Ďalšou limitáciou je odhadované maximálne množstvo liečiva do 1 mg, ktoré je možné do zoskupenia MI inkorporovať. Preto je pravdepodobné, že táto aplikácia bude vyhradená pre liečivá veľmi silno účinné, ako je erythropoetín pri anémii s dávkou 100 μg na deň, interferón α -2A pri hepatitíde, interferón β -1A pri skleróze multiplex s dávkami 33 μg a 132 μg na týždeň⁵¹⁾.

Technológie výroby mikroihiel

Na výrobu MI sa využívajú rôzne mikro, resp. nano-elektromechanické technológie, ktoré umožňujú vyrobiť MI. Najčastejšie používanými technikami sú priama fotolitografia, leptanie, mikroodlievanie alebo mikroopravovanie. Metóda **priamej fotolitografie** je založená na rôznej fotochemickej reakcii polymérov vplyvom UV žiarenia. Vplyvom žiarenia dochádza u pozitívne reagujúcich polymérov k rozštiepeniu hlavného alebo bočných reťazcov, čím sa stávajú viac rozpustné vo vyvíjacom roztoku, naopak u negatívne reagujúcich dochádza k zosieťovaniu polyméru, ktorý sa stáva menej rozpustný vo vyvíjacom roztoku. Vzor sa vytvára ožiarovaním pozitívne reagujúcich polymérov cez fotošablónu a následným odstránením rozpustnejších častí vyvíjacím roztokom⁶⁶⁾.

Leptanie je proces, pri ktorom je spracovávaný materiál odstraňovaný leptadlom. Rozlišujeme mokré leptanie, ktoré využíva silné kyseliny a žieraviny na leptanie. Pri mokrom leptaní sa využívajú šablóny z nereagujúceho materiálu, napr. chrómu. Mokrym leptaním bolo vyrobené zoskupenie pevných MI z kremíka s výškou 280 μm . Hlavnou nevýhodou tejto metódy bol malý pomer strán

3 : 2, čo limitovalo výšku a hustou vyrobených MI¹⁴). Suché leptanie využíva plazmu rôznych plynov na opravovanie materiálu. Časti, ktoré nemajú byť rozleptané, sa pred expozíciou plynov musia ošetriť ochranným filmom. Táto technika bola využitá na opracovanie dutých kremíkových MI rôzneho tvaru a výšky (30 – 140 µm). Hrúbka steny bola 70 – 110 nm a priemer kanála 2 – 5 µm. Ihly boli spojené so striekačkou pomocou ktorej sa aplikovala dávka liečiva⁶⁷).

Technológia **mikroodlievaním** je založená na odlievaní hlavnej formy z dostatočne tvrdého materiálu (polydimetylsiloxánu, titánu) vhodným substrátom. Substrátom môže byť prepolymér, ktorý následne vo forme polymerizuje, roztavený polymér, ktorý vo forme po ochladení tuhne, tekutý polymér s vytvrdzujúcim činidlom, ktoré vo forme chemicky reagujú za vzniku tuhého produktu. Vzhľadom na malé rozmery formy prebieha odlievanie často v špecifických podmienkach: pod vplyvom vákua, odstredivej sily centrifúgy, pomocou atomizovaného spreja. Tieto podmienky sa zabezpečujú s cieľom dokonalého vyplnenia formy a zabráneniu vzniku vzduchových bublín⁶⁸).

Polymérny poloprodukt je možné aj **prístrojovo mikroopravovať** pomocou mikroforézy alebo laserovej ablácie. Koniec vrtáka mikroforézy má dĺžku 400 µm a šírku 200 µm. Laserové mikroopravovanie sa používa pri veľmi detailných vzoroch, ktoré sa navrhnu napr. v programe AutoCAD⁶⁶).

Okrem spomenutých boli na výrobu MI použité aj iné technológie ako laserové rezanie plechu^{16, 27}), galvanické pokovovanie³⁰), polymerizácia UV senzitivného materiálu femtosekundovým laserom³³), ťahanie skla ako pri výrobe mikropipiet³¹), litografická tlač⁶⁹).

Použitie mikroihiel v klinickej praxi

Mikroperforácia kože pomocou MI sa využíva z rôznych dôvodov. Akupunktúru môžeme považovať ako prvé použitie kovových MI za účelom navodenia liečebného účinku stimuláciou nervových zakončení. Pre kozmetické účely je na trhu zariadenie Dermalroller® (Dermalroller GmbH, Wofenbüttel, Nemecko) so 192 MI upevnenými na rotujúcom valčeku. Dĺžka MI je 0,5 – 3 mm a priemer 70 µm. Valcovaním po pokožke MI prenikajú až za papilárnu vrstvu kože v závislosti od vyvinutého tlaku. Okem Dermalrolleru® sú na trhu aj iné kozmetické zariadenia na báze MI ako Dermapen®, Dermastamp®, DermaFrac®, BeautyMouse®. Účelom týchto zariadení je stimulácia hojenia kože, odstraňovanie jaziev, pigmentácie a vrások a zároveň zvýšiť vstrebávanie kozmetických prípravkov do kože prepichnutím epidermy. Takáto aplikácia sa nazýva aj ako kolagénová indukčná terapia. Mikrorepichnutia kože do hĺbky 0,5 – 2 mm spôsobujú minimálne krvácanie, ale indukujú prirodzené opravné mechanizmy kože spojené so zápalom, proliferáciou a remodeláciou kože. Mikroperforácie kože spojené s aplikáciou 35% kyseliny glykolovej bolo spojené s lepším hojením jaziev po akné a lepšou výslednou textúrou kože⁷⁰). Rovnako dermálna aplikácia kyseliny trichlóroctovej samotnej⁷¹

alebo s plazmou bohatou na krvné doštičky v kombinácii s mikrorepichovaním kože viedla k výrazne lepšiemu hojeniu jaziev rôznych stupňov bez závažných nežiadúcich účinkov⁷²). Okrem ošetrenia jaziev sa takáto kombinácia MI s účinnou látkou použila pri terapii alopecie. Kombinácia MI-minoxidil zvýšila počet vlasov 4-násobne oproti samotnej topickej aplikácii roztoku minoxidilu⁷³). Obdobne bol zaznamenaný viac ako 10% nárast hustoty vlasov pri aplikácii roztoku rastových faktorov na vlasy s následnou aplikáciou MI oproti aplikácii slaneho roztoku na vlasy s následnou aplikáciou MI⁷⁴).

Vo februári 2019 vyhľadanim na stránke www.clinicaltrials.gov (U.S. National Library of Medicine) pomocou kľúčového slova „microneedle“ nachádzame 85 klinických štúdií. Prvá štúdia z roku 2007 hodnotila účinnosť a bezpečnosť aplikácie lokálnej anestézie použitím zariadenia MicronJet™ s MI pred zavedením intravenózneho katétra⁷⁵). Väčšina štúdií je zameraná na aplikáciu MI pri dermálnych indikáciách ako aktinická keratóza, hyperhydróza, melazma, vrásky, jazvy, starnutie kože, vitiligo, alopecia a pigmentácia kože. V nasledujúcich riadkoch sa budeme venovať štúdiám, ktoré mali publikované výsledky (tab. 2).

Aktinická keratóza je dysplastická lézia, ktorá sa považuje za premaligný prejav skvamocelulárneho karcinómu. Rizikovými faktormi sú chronická expozícia slnečnému žiareniu, svetlá pokožka, imunosupresia a vyšší vek. Jedným z liečebných postupov je použitie fotodynamyckej liečby (FDL), ktorá je určená pre malé až stredné aktinické keratózy pokožky tváre a hlavy. V rámci FDL sa aplikuje na lézie 20% dermálny roztok kyseliny aminolevulovej (ALK) s následným osvetlením modrým svetlom s intenzitou 10 J/cm² po dobu 1000 sekúnd. Dysplastické bunky primárne absorbujú ALK, ktorú metabolizujú na protoporfyrín IX, endogénnu látku s fotosenzibilnými vlastnosťami. Modré svetlo aktivuje protoporfyrín IX, v prítomnosti kyslíka vznikajú reaktívne formy kyslíka, ktoré spúšťajú cytotoxickú kaskádu vedúcu k usmrteniu dysplastických buniek s minimálnym poškodením zdravých buniek. ALK je hydrofilná molekula, ktorá veľmi pomaly preniká cez jednotlivé vrstvy kože, s čím je spojená dlhá 1-hodinová inkubačná doba. Použitím MI bolo možné skrátiť inkubačnú dobu na 20 minút, zároveň bola pozorovaná mierne znížená bolestivosť počas osvetľovania modrým svetlom^{76, 77}). K obdobnému skráteniu času od aplikácie liečiva po jeho lokálny účinok viedla predperforácia kože pomocou valčeku s pevnými MI a aplikácia lidokainu. Uvedená kombinácia MI-lidokain skrátila čas navodenia účinku lidokainu na 30 – 10 minút, pričom samotný lidokainový krém 4% navodzoval lokálnu anestézu až 60 minút po aplikácii⁷⁸).

Značná časť klinických štúdií bola venovaná intradermálnej aplikácií vakcín proti chrípke, ale aj proti detskej obrne. Väčšina vakcín sa aplikuje intramuskulárne prípadne subkutánne. Takáto aplikácia je bolestivá a vakcína sa dostáva do tkanív pod kožou, kde nie sú tak bohato zastúpené antigén prezentujúce bunky. Pomocou MI je možné antigény obsiahnuté vo vakcíne vpraviť do pokožky alebo zamše, ktoré sú bohato zásobené bun-

Tab. 2. Klinické štúdie s výrazom „microneedle“, ktoré majú výsledky na stránke www.clinicaltrials.gov

Číslo štúdie	Názov štúdie	Typ mikroihiel	Indikácia <i>liečivo</i>	Fáza klinického testovania <i>počet, pohlavie, priemerný vek</i>	Výsledok	Citácia
NCT02596750	účinnosť predaplikácie MI na topickú anestéziu	valček so zoskupením 200 MI dlhých 200 µm, z chirurgickej nehrdzavejúcej ocele (MTS-Roller MR2, Clinical Resolution Laboratories, Inc.)	bolesť <i>lidokain</i>	neuveďené <i>21 M 29 ročných</i>	Lidokainový krém 4% navodzuje lokálnu anestéziu 60 minút po aplikácii. Predpríprava miesta aplikácie pomocou valčeku s MI a následná aplikácia lidokainového krému 4% skrátila čas navodenia lokálnej anestézie na 10 – 30 minút.	78
NCT00837512	aplikácia inzulínu MI pri diabete typu 1	samostatná dutá ihla z bórosilikátového skla, dĺžka 900 µm, priemer otvoru 60 – 80 µm (Cartika Medical; Maple Grove, MN, USA)	DM1 <i>inzulín Lispro</i>	II., III. <i>6 M, 6 Ž 11 – 18 rokov</i>	Aplikácia MI oproti štandardnej subkutánnej ihle viedla k zníženej bolestivosti vpichu; k zvýšenej bolestivosti injektovania roztoku inzulínu; k rýchlejšiemu nástupu účinku; skoršiemu odzneniu účinku.	87 88
NCT02594644	urýchlenie terapie FDL použitím MI	valček so zoskupením 200 MI dlhých 200 µm, z chirurgickej nehrdzavejúcej ocele (MTS-Roller MR2, Clinical Resolution Laboratories, Inc.)	aktinická keratóza <i>ALK a následná FDL</i>	neuveďené <i>32 M 64,1 rokov</i>	Predpríprava ošetrovaného miesta pomocou valčeku s MI a následná aplikácia ALK na 20 minút znížila prejavy aktinickej keratózy obdobne ako 1-hodinová aplikácia ALK konvenčným postupom.	76
NCT01812837	použitie MI pri FDL	zoskupenie 351 pyramidových pevných MI z polyméru dlhé 200 µm (Microchannel Skin System by 3M Company)	aktinická keratóza <i>ALK a následná FDL</i>	neuveďené <i>48 M 67,7 rokov</i>	Zariadenia s MI skracujú inkubačnú periódu potrebnú na FDL s rovnakou účinnosťou ako štandardná 1-hodinová inkubačná doba.	77
NCT02632110	predpríprava mikroihlových lézií pred aplikáciou ALK a FDL	neuveďené	aktinická keratóza <i>ALK a následná FDL</i>	II. <i>108 M, 29 Ž 65 rokov</i>	Výsledky nie sú zhodnotené.	
NCT02745392	bezpečnosť a účinnosť subkutánneho systému so zolmitriptánom na liečbu migrény (Zotrip)	zoskupenie pevných titánových MI potiahnutých liečivom o ploche 3 cm ² , obsahuje 1987 MI s dĺžkou 340 µm; aplikácia pomocou opakovateľne použiteľného aplikátora (systém ADAM)	migréna <i>zolmitriptán</i>	IIb, III. <i>41 M, 280 Ž 41,3 rokov</i>	Intrakutánna aplikácia zolmitriptánu pomocou MI bola efektívna a dobre tolerovateľná pri liečbe migrény s alebo bez aury. Nežiadúce účinky boli mierne až stredne závažnej intenzity, súviseli s miestom aplikácie a odzneli v priebehu 48 hodín.	92 91

Tab. 1. pokračování

NCT01848366	využitie zariadenia BIOWAVE na liečbu hyperaktívneho mechúra	dermálna náplast' s MI, ktoré sú zoskupením elektród	hyperaktívny mechúr <i>elektrostimulácia tibiálneho nervu</i>	neuvedené 8 Ž 56,6 rokov	Vzhľadom na malú skupinu pacientov sú výsledky tejto predbežnej štúdie obmedzené a nie je ich možné zovšeobecniť.	
NCT01674621	transdermálna aplikácia abaloparátidu postmenopauzálnym ženám s osteoporózou	zoskupenie 316 MI penetrujúcich 250 µm hlboko (firma 3M) potiahnutých dávkou 50, 100, 150 µg abaloparátidu	osteoporóza <i>abaloparátid</i>	II. 231 Ž 66,2 rokov	150 µg abaloparátidu aplikovaného pomocou náplasti s MI zvýšilo kostnú hustotu chrčtice o 2,9% a bedra o 1,5% oproti placebo.	90
NCT01737710	chrípková vakcína vo vzťahu k atopickej dermatitíde	duťá MI z nehrdzavejúcej ocele	prevencia chrípky <i>štiepený vírus chrípky</i>	neuvedené 145 M 191 Ž 36,3 rokov	Pozorovaný znížený titer IgG ₁ protilátok proti chrípke u ľudí s atopickou dermatitídou, ktorí mali kožu kolonizovanú <i>S. aureus</i> .	93
NCT01686503	intradermálny vs. intamuskulárny booster polio vakcíny u HIV infikovaných pacientov (IDIPV)	zoskupenie trojstranných dutých pyramidálnych ihliel dĺžky 600 µm MicronJet600 (NanoPass)	prevencia detskej obrny <i>inaktivovaná očkovacia látka</i>	II. 106 M, 125 Ž 45,5 rokov	Intradermálna aplikácia 40% dávky vakcíny viedla k porovnateľnému vzostupu protilátok ako 100% dávka vakcíny podaná intramuskulárne.	85

ALK – kyselina aminolevulová, FDL – fotodynamická liečba, DM1 – diabetes mellitus 1. typu, M – mužov, Ž – ženy

kami imunitného systému schopnými prezentovať antigén, dentritovými bunkami. V klinických štúdiách hodnotiacich použitie MI na očkovanie proti chrípke boli použité aplikačné zariadenia BD Soluvia™ (BD Bioscience) a MicronJet™ (Nanopass technologies) s kovovými dutými MI⁷⁹). Randomizované klinické štúdie potvrdili porovnateľnú imunogenitu intradermálne aplikovanej vakcíny (BD Soluvia™) s nižšou dávkou hemaglutinínu 9 µg oproti intramuskulárne aplikovanej vakcíne s dávkou 15 µg hemaglutinínu u zdravých dospelých dobrovoľníkov⁸⁰). U starších pacientov (60 – 85 ročných) sa porovnávala aplikácia rovnakej dávky hemaglutinínu, pričom intradermálna aplikácia pomocou MI bola spojená s vyšším titrom protilátok ako aplikácia intramuskulárna⁸¹). U imunokompromitovaných pacientov s transplantáciou obličky viedla intradermálna aplikácia chrípkovej vakcíny k vyššej imunitnej odpovedi proti všetkým vakcinačným kmeňom ako konvenčná intramuskulárna aplikácia⁸²). Intradermálne vakcíny boli dobre tolerovateľné bez klinicky významných nežiadúcich účinkov. Chrípková vakcína s BD Soluvia™ bola na trhu dostupná pod rôznymi názvami: Intanza®, IDFlu® a Fluzone Intradermal®. V roku 2018 však boli spoločnosťou Sanofi Pasteur stiahnuté z európskeho trhu vakcíny Intanza®⁸³) a IDFlu®⁸⁴). Dôvodom môže byť zvýšená kožná iritácia oproti intramuskulárnym vakcínam, ale aj paradoxný fakt, že nebolestivá aplikácia intradermálnych vakcín privádzala zdravotníckych pracovníkov a pacientov po aplikácii do neistoty, či

vakcína bola skutočne a správne aplikovaná. Každopádne oficiálne vyjadrenie k dispozícii nie je.

MI boli použité aj v rámci II fázy klinického testovania inaktivovanej vakcíny proti detskej obrne (polio-vakcína), na skupine 231 dospelých s HIV infekciou⁸⁵). Polio-vakcína je účinným prostriedkom na dosiahnutie celosvetovej eradikácie detskej obrny, avšak rozvojové krajiny ako Afghánistan, Pakistan, Nigéria s nedostatočnými prostriedkami sú miestami s pokračujúcim endemickým výskytom divokého poliovírusu⁸⁶). Snahy o zníženie nákladov znížením dávky polio-vakcíny na 20% pri zachovanej intramuskulárnej aplikácii však nevedli k uspokojivým výsledkom. V rámci uvedenej štúdie bola odpoveď na intradermálnu aplikáciu 40 % štandardnej dávky polio-vakcíny porovnateľná so štandardnou dávkou intramuskulárne aplikovanej polio-vakcíny, okrem toho bol titer protilátok porovnateľný, resp. nesignifikantne vyšší. Na mikroinjektovanie bolo použité zariadenie MicronJet600 (NanoPass), ktoré je zoskupením trojstranných dutých pyramidálnych ihliel dĺžky 600 µm⁸⁵). Pri ďalšej klinickej štúdii vo fáze III, ktorá používa MicronJet600 na vakcináciu proti detskej obrne u 6 – 14 týždňových detí, môžeme očakávať zverejnenie výsledkov (NCT01813604).

Liečba diabetických pacientov s diabetom typu I a pokročilým diabetom typu II sa nezaobíde bez subkutánnej aplikácie inzulínu či už pomocou striekačky, inzulínového pera, tryskových aplikátorov (Insujet) alebo inzulínových púmp. Okrem toho si musí diabetický pacient

pomocou glukomeru pravidelne kontrolovať hladinu cukru v krvi, ktorá sa získa prepichnutím bruška prsta sterilnou lancetou. Výskum v tejto oblasti sa zamerával na bezbolestivú aplikáciu inzulínu a monitorovanie cukru v krvi. V súčasnosti je na stránke www.clinicaltrials.gov 10 štúdií, ktoré používali MI u diabetických pacientov, avšak len jedna malá štúdia s uverejnenými výsledkami (NCT00837512). V rámci nej bolo použité zariadenie so samostatnou dutou MI z bórosilikátového skla, dĺžkou 900 µm, priemerom otvoru 60 – 80 µm (Cartika Medical; Maple Grove, MN, USA). Na jednej strane bol samotný vpich pomocou MI menej bolestivý, avšak následné injektovanie roztoku inzulínu lispro bolo bolestivejšie. Aplikácia inzulínu lispro viedla k rýchlejšiemu nástupu účinku a skoršiemu odzneniu účinku^{87, 88}. MI náplasti boli využité aj v štúdiu na meranie hladiny inzulínu v krvi (NCT02682056). V ďalšej štúdiu (NCT02459938) so 16 účastníkmi bola porovnávaná aplikácia glukagónových náplastí s MI oproti štandardnej injekcii glukagónu. Na stránke výrobcu nachádzame vyjadrenie, že obidva spôsoby aplikácie viedli k rýchlemu nástupu účinku a porovnateľnému času glukózovej odpovede⁸⁹.

Abaloparatid je analóg proteínu podobnému parathormónu (PTHrP), ktorý zvyšuje kostnú hustotu a pevnosť kostí so zachovaním normálnej kvality kostí na zvieracích osteoporotických modeloch. V II. fáze klinického testovania (NCT01674621) na 231 ženách s osteoporózou bol abaloparatid aplikovaný vo forme náplasti so zoskupenými 316 vrstvenými MI. Takto aplikovaný abaloparatid v dávke 150 µg zvyšoval kostnú densitu chrbtice o 2,9 % a bedra o 1,5 % oproti placebo⁹⁰.

Zolmitriptán zo skupiny triptánov sa používa na liečbu migrény. Od roku 1992, kedy sú triptány na trhu, boli k dispozícii v rôznych liekových formách – perorálnych tabliet, orodispergovateľných tabliet, nosových sprejov, nosových práškov, rektálnych čapíkov a formy aplikované subkutánne bez ihly alebo s ihlou. V randomizovanej dvojito zaslepanej paralelnej štúdiu kontrolovanej placebo (NCT02745392) bola hodnotená intradermálna aplikácia zolmitriptánu voči placebo. Celý systém (Adhesive Dermal-Applied Microarray – ADAM) pozostával z jednorazových náplastí tvorených vrstvou zoskupených 1987 titánových MI s dĺžkou 340 µm potiahnutých zolmitriptánom alebo nepotiahnutých (placebo) s rozmerom 3 cm² a adhezívnej vrstvy nalepenej na zadnú stranu s rozmerom 5 cm². Náplasti boli aplikované pomocou opakovateľne použiteľného zariadenia⁹¹. Štúdia preukázala na dávke závislú účinnosť ADAM zolmitriptánu. Pri najvyššej dávke 3,8 mg zolmitriptánu pomocou ADAM nemalo bolesti po 2 hodinách takmer 42 % pacientov oproti 10 % pri placebe. Po 24 hodinách sa počet pacientov bez bolesti zvýšil na 70 % u pacientov s aplikovaným ADAM zolmitriptánom oproti necelým 40 % pri aplikácii placeba⁹².

Záver

Od roku 1981, kedy spoločnosť ALZA Corp. Uviedla na trh prvé transdermálne náplasti so skopolamínom na prevenciu kinetóz (Transderm-Scop) a transdermálne

náplasti s nitroglycerínom na prevenciu angíny pectoris spojenjej s ochorením koronárnych ciev uplynulo takmer 40 rokov⁹⁴). Počas tohto obdobia sa transdermálne náplasti stali praktickou a osvedčenou liekovou formou, ktorá má svoje prednosti najmä z pohľadu dlhodobého, riadeného a kontrolovaného uvoľňovania liečiva, ktorého prívod je možné prerušiť v akomkoľvek čase počas aplikácie. Napriek tomu diapazón liečiv, ktorý je podávaný transdermálnou cestou, je pomerne úzky. To súvisí jednak s obmedzením liečiv, ktorých dávka je tak veľká, že prakticky neumožňuje pripraviť liekovú formu s dlhodobým pôsobením. Ďalšou príčinou je fyzikálno-chemická vlastnosť liečiv, ktoré permeujú cez pokožku veľmi pomaly. Na zvýšenie permeácie boli použité rôzne postupy, spomenuté v úvode, ktoré sú zamerané buď na modifikáciu liečiva, alebo modifikáciu kože. MI modifikujú kožu, sú schopné prepichnúť epidermu a tak vytvoriť mikrokanály, ktorými môže akékoľvek liečivo ľahšie prestupovať do zamše, kde sa nachádzajú krvné a lymfatické cievy. Zároveň ak ich dĺžka je optimálna okolo 300 µm, nezasahujú nervové zakončenia, čím sa ich aplikácia stáva nebolestivou.

Z klinického hľadiska môžeme rozlíšiť použitie MI na urýchlenú aplikáciu liečiva transdermálnou cestou. Môže tak nahradiť topickú aplikáciu bežnými dermálnymi liekovými formami alebo injekčnú aplikáciu liečiv. Aplikované liečivo prostredníctvom MI pôsobí lokálne (lidokain, ALK), alebo systémovo (inzulín, zolmitriptán, abaloparatid, vakcíny proti chrípke, detskej obrne). Matricové a hydrogélové MI majú potenciál na aplikáciu liečiva s predĺženým uvoľňovaním liečiva. Takto aplikované liečivo môže nahradiť perorálne liekové formy s predĺženým uvoľňovaním liečiva. Súčasnú klinickú štúdiu sa však aplikácii MI s predĺženým uvoľňovaním nevenujú. Je otázne, ako by dlhodobá perforácia kože MI pôsobila na pokožku z pohľadu jej iritácie a rizika zvýšenej kontaminácie kože. Predĺžiť pôsobenie liečiva je na druhej strane možné jeho formuláciou do mikroforiem, bez toho aby sa výrazne predlžovala doba aplikácie⁹⁵.

Doteraz zverejnené klinické štúdie nepreukázali zásadné problémy z pohľadu iritácie kože. Pri aplikácii chrípkových vakcín bola pozorovaná zvýšená kožná reakcia, ktorá však súvisí skôr s farmakologickým pôsobením na antigénprezentujúce bunky, čím sa vyvolá zápal. V prípade, že materiály, ktoré budú použité na výrobu MI nebudú mať vplyv na iritáciu kože, bude prípadná iritácia kože pravdepodobne súvisieť s pôsobením liečiva.

Z výrobného hľadiska je otázne, ako budú tieto systémy klasifikované, ako intradermálne alebo transdermálne systémy? Rovnako sú otázne požiadavky na výrobu, budú sa posudzovať ako injekčné lieky, alebo ako transdermálne náplasti?

Vývoj MI pokročil míľovými krokmi od roku 1976, kedy bol popísaný prvý systém s MI⁹⁶). K dispozícii sú MI rôznych typov, veľkostí, tvarov, vyrábané z rôznych materiálov a rôznymi technológiami. Vo väčšom rozsahu boli MI využívané pri aplikácii chrípkových vakcín, ktoré však boli z trhu stiahnuté v roku 2018. Na druhej strane sa celosvetovo používajú rolery s MI na kozme-

tické perforácie kože s prípadnou aplikáciou podporných látok. Zvyšujúci sa počet klinických štúdií, v ktorých boli použité MI na transdermálnu aplikáciu liečiv naznačuje, že v tomto smere môžeme očakávať zvyšujúci sa počet liekov uvádzaných na trh využívajúcich technológiu MI.

Stret záujmov: žiadny.

Literatúra

1. **Kirschner N., Houdek P., Fromm M., Moll I., Brandner J. M.** Tight junctions form a barrier in human epidermis. *Eur. J. Cell Biol.* 2010; 89(11), 839–842. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2010.07.010>
2. **Andrews S. N., Jeong E., Prausnitz M. R.** Transdermal delivery of molecules is limited by full epidermis, not just stratum corneum. *Pharm. Res.* 2013; 30(4), 1099–1109. <https://doi.org/10.1007/s11095-012-0946-7>
3. **Gaur P. K., Mishra S., Purohit S., Dave K.** Transdermal Drug Delivery System: A Review RANSDERMAL DRUG DELIVERY SYSTEM: A REVIEW. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 2009; 2(1), 14–20.
4. **Nisar A., Afzulpurkar N., Mahaisavariya B., Tuantranont A.** MEMS-based micropumps in drug delivery and biomedical applications. *Sensors Actuators, B Chem.* 2008; 130(2), 917–942. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2007.10.064>
5. **Ashraf M. W., Tayyaba S., Afzulpurkar N.** Micro Electromechanical Systems (MEMS) based microfluidic devices for biomedical applications. *Int. J. Mol. Sci.* 2011; 12(6), 3648–3704. <https://doi.org/10.3390/ijms12063648>
6. **Ita K.** Transdermal delivery of drugs with microneedles – potential and challenges. *Pharmaceutics.* 2015; 7(3), 90–105. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2015.05.001>
7. **Gill H. S., Denson D. D., Burris B. A., Prausnitz M. R.** Effect of microneedle design on pain in human volunteers. *Clin. J. Pain.* 2008; 24(7), 585–594. <https://doi.org/10.1097/AJP.0b013e31816778f9>
8. **Khanna P., Luongo K., Strom J. A., Bhansali S.** Sharpening of hollow silicon microneedles to reduce skin penetration force. *J. Micromechanics Microengineering.* 2010; 20(4), 45011. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/20/4/045011>
9. **Gittard S. D., Chen B., Xu H., Ovsianikov A., Chichkov B. N., Monteiro-Riviere N. A., et al.** The effects of geometry on skin penetration and failure of polymer microneedles. *J. Adhes. Sci. Technol.* 2013; 27(3), 227–243. <https://doi.org/10.1080/01694243.2012.705101>
10. **Davis S. P., Prausnitz M. R., Allen M. G.** Fabrication and characterization of laser micromachined hollow microneedles. *TRANSDUCERS 2003 – 12th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, Digest of Technical Papers, vol. 2. IEEE* 2003; 1435–1438.
11. **Arora A., Prausnitz M. R., Mitragotri S.** Micro-scale devices for transdermal drug delivery. *Int. J. Pharm.* 2008; 364(2), 227–236. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.08.032>
12. **Han M., Hyun D. H., Park H. H., Lee S. S., Kim C. H., Kim C.** A novel fabrication process for out-of-plane microneedle sheets of biocompatible polymer. *J. Micromechanics Microengineering* 2007; 17(6), 1184–1191. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/17/6/012>
13. **Chen M. C., Ling M. H., Lai K. Y., Pramudityo E.** Chitosan microneedle patches for sustained transdermal delivery of macromolecules. *Biomacromolecules* 2012; 13(12), 4022–4031. <https://doi.org/10.1021/bm301293d>
14. **Wilke N., Mulcahy A., Ye S. R., Morrissey A.** Process optimization and characterization of silicon microneedles fabricated by wet etch technology. *Microelectronics J.* 2005; 36(7), 650–656. <https://doi.org/10.1016/j.mejo.2005.04.044>
15. **Jenkins D., Corrie S., Flaim C., Kendall M.** High density and high aspect ratio solid micro-nanoprojection arrays for targeted skin vaccine delivery and specific antibody extraction. *RSC Adv.* 2012; 2(8), 3490–3495. <https://doi.org/10.1039/c2ra20153d>
16. **Martanto W., Davis S. P., Holiday N. R., Wang J., Gill H. S., Prausnitz M. R.** Transdermal delivery of insulin using microneedles in vivo. *Pharm. Res.* 2004; 21(6), 947–952. <https://doi.org/10.1023/B:PHAM.0000029282.44140.2e>
17. **Bystrova S., Lutttge R.** Micromolding for ceramic microneedle arrays. *Microelectron. Eng.* 2011; 88(8), 1681–1684. <https://doi.org/10.1016/j.mee.2010.12.067>
18. **Ma G., Wu C.** Microneedle, bio-microneedle and bio-inspired microneedle: A review. *J. Control. Release* 2017; 251, 11–23.
19. **Miyano T., Tobinaga Y., Kanno T., Matsuzaki Y., Takeda H., Wakui M., et al.** Sugar Micro Needles as Transdermic Drug Delivery System. *Biomed. Microdevices* 2005; 7(3), 185–188. <https://doi.org/10.1007/s10544-005-3024-7>
20. **Paik S. J., Byun S., Lim J. M., Park Y., Lee A., Chung S., et al.** In-plane single-crystal-silicon microneedles for minimally invasive microfluid systems. *Sensors Actuators, A Phys.* 2004; 114(2–3), 276–284. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2003.12.029>
21. **Sebastien H., Mcallister D. V., ALLEN M. G., Prausnitz M. R.** Microfabricated Microneedles: A Novel Approach to Transdermal Drug Delivery. vol. 87. Elsevier 1998; 1–3.
22. **S H., P L., G H., M R., R G., W T.** Genetic transformation of nematodes using arrays of micromechanical piercing structures. *Biotechniques* 1995; 19, 766–770.
23. **Larrañeta E., Lutton R. E. M., Woolfson A. D., Donnelly R. F.** Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: Materials science, manufacture and commercial development. *Mater. Sci. Eng. R Reports* 2016; 104, 1–32.
24. **Oh J. H., Park H. H., Do K. Y., Han M., Hyun D. H., Kim C. G., et al.** Influence of the delivery systems using a microneedle array on the permeation of a hydrophilic molecule, calcein. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2008; 69(3), 1040–1045. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.02.009>
25. **Ng H. I., Fernando G. J. P., Kendall M. A. F.** Induction of potent CD8⁺ T cell responses through the delivery of subunit protein vaccines to skin antigen-presenting cells using densely packed microprojection arrays. *J. Control. Release* 2012; 162(3), 477–484. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.07.024>
26. **Cormier M., Johnson B., Ameri M., Nyam K., Libiran L., Zhang D. D., et al.** Transdermal delivery of desmopressin using a coated microneedle array patch system. *J. Control. Release* 2004; 97(3), 503–511. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.04.003>
27. **Kim Y. C., Quan F. S., Compans R. W., Kang S. M., Prausnitz M. R.** Formulation and coating of microneedles with inactivated influenza virus to improve vaccine stability and immunogenicity. *J. Control. Release* 2010; 142(2), 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.10.013>

28. Han M., Kim D. K., Kang S. H., Yoon H. R., Kim B. Y., Lee S. S., et al. Improvement in antigen-delivery using fabrication of a grooves-embedded microneedle array. *Sensors Actuators, B Chem.* 2009; 137(1), 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.11.017>
29. Gardeniens H. J. G. E., Luttge R., Berenschot E. J. W., de Boer M. J., Yeshurun S. Y., Hefetz M., et al. Silicon micromachined hollow microneedles for transdermal liquid transport. *J. Microelectromechanical Syst.* 2003; 12(6), 855–862. <https://doi.org/10.1109/JMEMS.2003.820293>
30. Davis S. P., Martanto W., Allen M. G., Prausnitz M. R. Hollow metal microneedles for insulin delivery to diabetic rats. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 2005; 52(5), 909–915. <https://doi.org/10.1109/TBME.2005.845240>
31. Wang P. M., Cornwell M., Hill J., Prausnitz M. R. Precise microinjection into skin using hollow microneedles. *J. Invest. Dermatol.* 2006; 126(5), 1080–1087. <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700150>
32. Bodhale D. W., Nisar A., Afzulpurkar N. Structural and microfluidic analysis of hollow side-open polymeric microneedles for transdermal drug delivery applications. *Microfluid. Nanofluidics.* 2010; 8(3), 373–392. <https://doi.org/10.1007/s10404-009-0467-9>
33. Ovsianikov A., Chichkov B., Mente P., Monteiro-Riviere N. A., Doraiswamy A., Narayan R. J. Two photon polymerization of polymer-ceramic hybrid materials for transdermal drug delivery. *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* 2007; 4(1), 22–29. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7402.2007.02115.x>
34. Garland M. J., Migalska K., Mahmood T. M. T., Singh T. R. R., Woolfson A. D., Donnelly R. F. Microneedle arrays as medical devices for enhanced transdermal drug delivery. *Expert Rev. Med. Devices* 2011; 8(4), 459–482. <https://doi.org/10.1586/erd.11.20>
35. Hong X., Wei L., Wu F., Wu Z., Chen L., Liu Z., et al. Dissolving and biodegradable microneedle technologies for transdermal sustained delivery of drug and vaccine. *Drug Des. Devel. Ther.* 2013; 7, 945–952.
36. Demir Y. K., Metin A. Ü., Şatıroğlu B., Solmaz M. E., Kayser V., Mäder K. Poly (methyl vinyl ether-co-maleic acid) – Pectin based hydrogel-forming systems: Gel, film, and microneedles. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2017; 117, 182–194.
37. Donnelly R. F., Singh T. R. R., Garland M. J., Migalska K., Majithiya R., McCrudden C. M., et al. Hydrogel-forming microneedle arrays for enhanced transdermal drug delivery. *Adv. Funct. Mater.* 2012; 22(23), 4879–4890. <https://doi.org/10.1002/adfm.201200864>
38. Yang S., Feng Y., Zhang L., Chen N., Yuan W., Jin T. A scalable fabrication process of polymer microneedles. *Int. J. Nanomedicine* 2012; 7, 1415–1422.
39. Gratieri T., Alberti I., Lapteva M., Kalia Y. N. Next generation intra- and transdermal therapeutic systems: Using non- and minimally-invasive technologies to increase drug delivery into and across the skin. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013; 50(5), 609–622. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.03.019>
40. Hong X., Wu Z., Chen L., Wu F., Wei L., Yuan W. Hydrogel Microneedle Arrays for Transdermal Drug Delivery. *Nano-Micro Lett.* 2014; 6, 191–199.
41. Kim Y. C., Park J. H., Prausnitz M. R. Microneedles for drug and vaccine delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(14), 1547–1568. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.04.005>
42. Cai B., Xia W., Bredenberg S., Engqvist H. Self-setting bio-ceramic microscopic protrusions for transdermal drug delivery. *J. Mater. Chem. B.* 2014; 2(36), 5992–5998. <https://doi.org/10.1039/c4tb00764f>
43. Verbaan F. J., Bal S. M., van den Berg D. J., Groenink W. H. H., Verpoorten H., Lüttge R., et al. Assembled microneedle arrays enhance the transport of compounds varying over a large range of molecular weight across human dermatomed skin. *J. Control. Release* 2007; 117(2), 238–245. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.11.009>
44. Chandrasekaran S., Brazzle J. D., Frazier A. B. Surface micromachined metallic microneedles. *J. Microelectromechanical Syst.* 2003; 12(3), 281–288. <https://doi.org/10.1109/JMEMS.2003.809951>
45. Martin C. J., Allender C. J., Brain K. R., Morrissey A., Birchall J. C. Low temperature fabrication of biodegradable sugar glass microneedles for transdermal drug delivery applications. *J. Control. Release* 2012; 158(1), 93–101. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2011.10.024>
46. Donnelly R. F., Morrow D. I. J., Singh T. R. R., Migalska K., McCarron P. A., O'Mahony C., et al. Processing difficulties and instability of carbohydrate microneedle arrays. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2009; 35(10), 1242–1254. <https://doi.org/10.1080/03639040902882280>
47. Loizidou E. Z., Williams N. A., Barrow D. A., Eaton M. J., McCrory J., Evans S. L., et al. Structural characterisation and transdermal delivery studies on sugar microneedles: Experimental and finite element modelling analyses. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2015; 89, 224–231.
48. Lee K., Lee C. Y., Jung H. Dissolving microneedles for transdermal drug administration prepared by stepwise controlled drawing of maltose. *Biomaterials* 2011; 32(11), 3134–3140. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2011.01.014>
49. Demuth P. C., Min Y., Irvine D. J., Hammond P. T. Implantable silk composite microneedles for programmable vaccine release kinetics and enhanced immunogenicity in transcutaneous immunization. *Adv. Healthc. Mater.* 2014; 3(1), 47–58. <https://doi.org/10.1002/adhm.201300139>
50. Jin J., Reese V., Coler R., Carter D., Rolandi M. Chitin Microneedles for an Easy-to-Use Tuberculosis Skin Test. *Adv. Healthc. Mater.* 2014; 3(3), 349–353. <https://doi.org/10.1002/adhm.201300185>
51. Park J. H., Allen M. G., Prausnitz M. R. Polymer microneedles for controlled-release drug delivery. *Pharm. Res.* 2006; 23(5), 1008–1019. <https://doi.org/10.1007/s11095-006-0028-9>
52. Zhang J., Wang Y., Jin J. Y., Degan S., Hall R. P., Boehm R. D., et al. Use of Drawing Lithography-Fabricated Polyglycolic Acid Microneedles for Transdermal Delivery of Itraconazole to a Human Basal Cell Carcinoma Model Regenerated on Mice. *JOM.* 2016; 68(4), 1128–1133. <https://doi.org/10.1007/s11837-016-1841-1>
53. Cha K. J., Kim T., Park S. J., Kim D. S. Simple and cost-effective fabrication of solid biodegradable polymer microneedle arrays with adjustable aspect ratio for transdermal drug delivery using acupuncture microneedles. *J. Micromechanics Microengineering.* 2014; 24(11), 115015. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/24/11/115015>
54. Wang M., Hu L., Xu C. Recent advances in the design of polymeric microneedles for transdermal drug delivery and biosensing.

- Lab Chip. 2017; 17(8), 1373–1387. <https://doi.org/10.1039/C7LC00016B>
55. **Kim J. Y., Han M. R., Kim Y. H., Shin S. W., Nam S. Y., Park J. H.** Tip-loaded dissolving microneedles for transdermal delivery of donepezil hydrochloride for treatment of Alzheimer's disease. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2016; 105, 148–55.
 56. **Vandeweerdt C., Myers J., Coulter M., Yalcin A., Corvin J.** Positives and negatives of online dating according to women 50+. *J. Women Aging.* 2016; 28(3), 259–270. <https://doi.org/10.1007/s11095-010-0097-7>
 57. **Demir Y. K., Akan Z., Kerimoglu O.** Characterization of polymeric microneedle arrays for transdermal drug delivery. *PLoS One* 2013; 8(10), e77289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077289>
 58. **Lee J. W., Park J. H., Prausnitz M. R.** Dissolving microneedles for transdermal drug delivery. *Biomaterials* 2008; 29(13), 2113–2124. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2012.0208>
 59. **Mönkäre J., Reza Nejadnik M., Baccouche K., Romeijn S., Jiskoot W., Bouwstra J. A.** IgG-loaded hyaluronan-based dissolving microneedles for intradermal protein delivery. *J. Control. Release* 2015; 218, 53–62.
 60. **Lee I. C., Lin W. M., Shu J. C., Tsai S. W., Chen C. H., Tsai M. T.** Formulation of two-layer dissolving polymeric microneedle patches for insulin transdermal delivery in diabetic mice. *J. Biomed. Mater. Res. – Part A.* 2017; 105(1), 84–93. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35869>
 61. **Chen M. C., Ling M. H., Kusuma S. J.** Poly- γ -glutamic acid microneedles with a supporting structure design as a potential tool for transdermal delivery of insulin. *Acta Biomater.* 2015; 24, 106–116.
 62. **Sullivan S. P., Murthy N., Prausnitz M. R.** Minimally invasive protein delivery with rapidly dissolving polymer microneedles. *Adv. Mater.* 2008; 20(5), 933–938. <https://doi.org/10.1002/adma.200701205>
 63. **Lee I. C., He J. S., Tsai M. T., Lin K. C.** Fabrication of a novel partially dissolving polymer microneedle patch for transdermal drug delivery. *J. Mater. Chem. B.* 2015; 3(2), 276–285. <https://doi.org/10.1039/c4tb01555j>
 64. **Quinn H. L., Bonham L., Hughes C. M., Donnelly R. F.** Design of a dissolving microneedle platform for transdermal delivery of a fixed-dose combination of cardiovascular drugs. *J. Pharm. Sci.* 2015; 104(10), 3490–3500. <https://doi.org/10.1002/jps.24563>
 65. **McCrudden M. T. C., Alkilani A. Z., McCrudden C. M., McAllister E., McCarthy H. O., Woolfson A. D., et al.** Design and physicochemical characterisation of novel dissolving polymeric microneedle arrays for transdermal delivery of high dose, low molecular weight drugs. *J. Control. Release* 2014; 180(1), 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.02.007>
 66. **Ochoa M., Mousoulis C., Ziaie B.** Polymeric microdevices for transdermal and subcutaneous drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(14), 1603–1616.
 67. **Rodríguez A., Molinero D., Valera E., Trifonov T., Marsal L. F., Pallarès J., et al.** Fabrication of silicon oxide microneedles from macroporous silicon. *Sensors Actuators, B Chem.* 2005; 109(1), 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.03.015>
 68. **McGrath M. G., Vucen S., Vrdoljak A., Kelly A., O'Mahony C., Crean A. M., et al.** Production of dissolvable microneedles using an atomised spray process: Effect of microneedle composition on skin penetration. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2014; 86(2), 200–211. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.04.023>
 69. **Lee K., Jung H.** Drawing lithography for microneedles: A review of fundamentals and biomedical applications. *Biomaterials.* 2012; 33(30), 7309–7326. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMATERIALS.2012.06.065>
 70. **Sharad J.** Combination of microneedling and glycolic acid peels for the treatment of acne scars in dark skin. *J. Cosmet. Dermatol.* 2011; 10(4), 317–23. <https://doi.org/10.1111/j.1473-2165.2011.00583.x>
 71. **Garg S., Baveja S.** Combination therapy in the management of atrophic acne scars. *J. Cutan. Aesthet. Surg.* 2014; 7(1), 18. <https://doi.org/10.4103/0974-2077.129964>
 72. **Nofal E., Helmy A., Nofal A., Alakad R., Nasr M.** Platelet-rich plasma versus CROSS technique with 100% trichloroacetic acid versus combined skin needling and platelet rich plasma in the treatment of atrophic acne scars: A comparative study. *Dermatologic Surg.* 2014; 40(8), 864–873. <https://doi.org/10.1111/dsu.0000000000000091>
 73. **Dhurat R., Sukesh M., Avhad G., Dandale A., Pal A., Pund P.** A randomized evaluator blinded study of effect of microneedling in androgenetic alopecia: A pilot study. *Int. J. Trichology.* 2013; 5(1), 6. <https://doi.org/10.4103/0974-7753.114700>
 74. **Lee Y. B., Eun Y. S., Lee J. H., Cheon M. S., Park Y. G., Cho B. K., et al.** Effects of topical application of growth factors followed by microneedle therapy in women with female pattern hair loss: A pilot study. *J. Dermatol.* 2013; 40, 81–83.
 75. **Nanopass.** A Study to Assess the Safety and Efficacy of a Microneedle Device for Local Anesthesia – Full Text View – ClinicalTrials.gov. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00539084?term=microneedle&rank=5>. Accessed January 23, 2019.
 76. **Petukhova T. A., Hassoun L. A., Foolad N., Barath M., Sivamani R. K.** Effect of expedited microneedle-assisted photodynamic therapy for field treatment of actinic keratoses: A randomized clinical trial. *JAMA Dermatology* 2017; 153(7), 637–643. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2017.0849>
 77. **Lev-Tov H., Larsen L., Zackria R., Chahal H., Eisen D. B., Sivamani R. K.** Microneedle-assisted incubation during amino-laevulinic acid photodynamic therapy of actinic keratoses: a randomized controlled evaluator-blind trial. *Br. J. Dermatol.* 2017; 176(2), 543–545. <https://doi.org/10.1111/bjd.15116>
 78. **Miteva M., Lima M., Tosti A.** Effect of microneedle pretreatment on topical anesthesia: A randomized clinical trial association of dermatology consultation with accuracy of cutaneous disorder diagnoses in hospitalized patients: A multicenter analysis limited information exists on th. *JAMA Dermatology.* 2016; 152(4), 476–477. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2015.5545>
 79. **Bhatnagar S., Dave K., Venuganti V. V. K.** Microneedles in the clinic. *J. Control. Release.* 2017; 260, 164–182.
 80. **Leroux-Roels I., Vets E., Freese R., Seiberling M., Weber F., Salamand C., et al.** Seasonal influenza vaccine delivered by intradermal microinjection: A randomised controlled safety and immunogenicity trial in adults. *Vaccine* 2008; 26(51), 6614–6619. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.09.078>
 81. **Arnou R., Icardi G., De Decker M., Ambrozaitis A., Kazek M. P., Weber F., et al.** Intradermal influenza vaccine for older adults: A randomized controlled multicenter phase III study. *Vaccine.* 2009; 27(52), 7304–7312. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.10.033>
 82. **Morelon E., Noble C. P., Daoud S., Cahen R., Goujon-Henry C., Weber F., et al.** Immunogenicity and safety of intrader-

- mal influenza vaccination in renal transplant patients who were non-responders to conventional influenza vaccination. *Vaccine* 2010; 28(42), 6885–6890. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.08.015>
83. **European Medicines Agency.** Intanza Withdrawal of the marketing authorisation in the European Union. Available at: https://www.ema.europa.eu/documents/public-statement/public-statement-intanza-withdrawal-marketing-authorisation-european-union_en.pdf. Accessed January 30, 2019.
 84. **European Medicines Agency.** IDflu Withdrawal of the marketing authorisation in the European Union. Available at: https://www.ema.europa.eu/documents/public-statement/public-statement-idflu-withdrawal-marketing-authorisation-european-union_en.pdf. Accessed January 30, 2019.
 85. **Troy S. B., Kouivskaia D., Siik J., Kochba E., Beydoun H., Mirochnitchenko O., et al.** Comparison of the immunogenicity of various booster doses of inactivated polio vaccine delivered intradermally versus intramuscularly to HIV-infected adults. *J. Infect. Dis.* 2015; 211(12), 1969–1976. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu841>
 86. **Seventieth World Health Assembly.** Poliomyelitis. Report by the Secretariat. WHO 2017; 1–18.
 87. **Norman J. J., Brown M. R., Raviele N. A., Prausnitz M. R., Felner E. I.** Faster pharmacokinetics and increased patient acceptance of intradermal insulin delivery using a single hollow microneedle in children and adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr. Diabetes.* 2013; 14(6), 459–465. <https://doi.org/10.1111/pedi.12031>
 88. **Gupta J., Felner E. I., Prausnitz M. R.** Rapid pharmacokinetics of intradermal insulin administered using microneedles in type 1 diabetes subjects. *Diabetes Technol. Ther.* 2011; 13(4), 451–456. <https://doi.org/10.1089/dia.2010.0204>
 89. **Glucagon Z. P., Represents P.** Zosano Pharma Announces Positive Phase 2 Results for Its ZP Glucagon Patch Program for Treatment of Severe Hypoglycemia 2016.
 90. **Yates J., Miller P. D., Bolognese M. A., Woodson G., Valter L., Clarkin M., et al.** A transdermal patch delivering the PTHrP1-34 analog, abaloparatide (BA058), dose-dependently increases spine and hip BMD compared to placebo. *Endocr. Rev.* 2014; 35.
 91. **Kellerman D. J., Ameri M., Tepper S. J.** Rapid systemic delivery of zolmitriptan using an adhesive dermally applied microarray. *Pain Manag.* 2017; 7(6), 559–567. <https://doi.org/10.2217/pmt-2017-0036>
 92. **Spierings E. L. H., Brandes J. L., Kudrow D. B., Weintraub J., Schmidt P. C., Kellerman D. J., et al.** Randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, multi-center study of the safety and efficacy of ADAM zolmitriptan for the acute treatment of migraine. *Cephalgia* 2018; 38(2), 215–224. <https://doi.org/10.1177/0333102417737765>
 93. **Leung D. Y. M., Jepson B., Beck L. A., Hanifin J. M., Schneider L. C., Paller A. S., et al.** A clinical trial of intradermal and intramuscular seasonal influenza vaccination in patients with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2017; 139(5), 1575–1582. e8. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.12.952>
 94. **Saroha K., Yadav B., Sharma B.** Transdermal patch: A discrete dosage form. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 2011; 3(3), 98–108.
 95. **Donnelly R. F., Larrañeta E.** Microarray patches: potentially useful delivery systems for long-acting nanosuspensions. *Drug Discov. Today* 2018; 23(5), 1026–1033. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2017.10.013>
 96. **Gerstel M., VA Place – US Patent 3 964,482., 1976 undefined.** Drug delivery device. Google Patents. n.d.