UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN

FARMACIA

TESI DI LAUREA

RECENTI ACQUISIZIONI SULLA TECNOLOGIA DEI MICRONEEDLES TRANSDERMAL PATCHES E LORO APPLICAZIONE IN TERAPIA

RELATORE : PROF. NICOLA REALDON

LAUREANDO: MATILDE BRUSCAGNIN

Anno Accademico 2021-2022

INDICE

1. TRANSDERMAL DRUG DELIVERY SYSTEM (TDDS)
   1.1 La pelle
   1.2 Assorbimento percutaneo e Legge di Fick
   1.3 Fattori che influenzano l'assorbimento percutaneo

2. MICRONEEDLES
   2.1 TIPI DI MICRONEEDLES
      2.1.1 Solid MNs
      2.1.2 Coated MNs
      2.1.3 Dissolving MNs
      2.1.4 Hollow MNs
      2.1.5 Hydrogel-Forming MNs
   2.2 MATERIALI DI FABBRICAZIONE
      2.2.1 Silicio
      2.2.2 Metallo
      2.2.3 Vetro di Silice
      2.2.4 Carboidrati
      2.2.5 Polimeri
   2.3 BENEFICI CLINICI
      2.3.1 Indolore
      2.3.2 Minima invasività
      2.3.3 Facilità di somministrazione
      2.3.4 Stabilità dei farmaci
      2.3.5 Minor rischio di infezione
   2.4 IRRITAZIONE CUTANEA

3. APPLICAZIONI IN TERAPIA

3.1 Trattamento di osteoartrite e Oateoporosi
3.2 Somministrazione di Peptidi
3.3 Contraccezione
3.4 Somministrazione di Vaccini
3.5 Trattamento del Diabete
3.6 Terapia del Dolore

4. APPLICAZIONI IN DERMATOLOGIA

4.1 Melanomi
4.2 Acne
4.3 Cicatrici
4.4 Herpes
4.5 Alopecia
4.6 Dermatite Atopica
4.7 Infezioni della pelle e dei tessuti molli
4.9 Verruche
4.9 Psoriasi
4.10 Cosmetica

5. CONCLUSIONI

BIBLIOIGRAFIA

ABSTRACT

I *microneedles transdermal patches* sono un sistema innovativo ed efficiente che ha rivoluzionato il panorama del *transdermal drug delivery system* (TDDS).

La somministrazione del farmaco avviene grazie all'applicazione di un cerotto a MNs, i quali provocano microlesioni temporanee nella pelle, offrendo un metodo sicuro per la somministrazione di farmaci. Da alcuni decenni a questa parte, questa tecnologia ha attirato l'attenzione di molti scienziati, in quanto sono in grado di migliorare la diffusione di molecole terapeutiche penetrando direttamente nello strato corneo con una notevole riduzione delle reazioni avverse associate alla somministrazione sistemica e miglioramento della compliance dei pazienti. Oltre a questo, i MNs offrono vantaggi unici rispetto all'iniezione e alla somministrazione orale, come l'applicazione indolore, la minima invasività, la facilità di autosomministrazione e l'assenza dell'effetto di primo passaggio. Questa strategia ha aperto nuove strade per la somministrazione di un'ampia gamma di farmaci sia a livello locale che sistemico.

La più grande limitazione nello sviluppo di questa tecnologia è che solo pochi farmaci sono in grado di oltrepassare tutti gli strati della pelle, in quanto lo strato corneo funge da barriera alla penetrazione di molte molecole medicamentose.

Recentemente, i MNs sono diventati una vera e propria pietra miliare nel *transdermal drug delivery system*. Grazie alla loro enorme versatilità, sono stati applicati in molteplici campi, tra i quali meritano di essere citati la somministrazione di insulina, la somministrazione di vaccini, il trattamento dell'artrite reumatoide e la cosmetica.

Recentemente l'emergere dei *microneedles* sta diventando una promettente strategia per il trattamento di patologie cutanee, come: melanomi, cicatrici, herpes, acne, psoriasi ed alopecia, con risultati terapeutici soddisfacenti e un impatto sempre più concreto in questo campo.

1. TRANSDERMAL DRUG DELIVERY SYSTEM

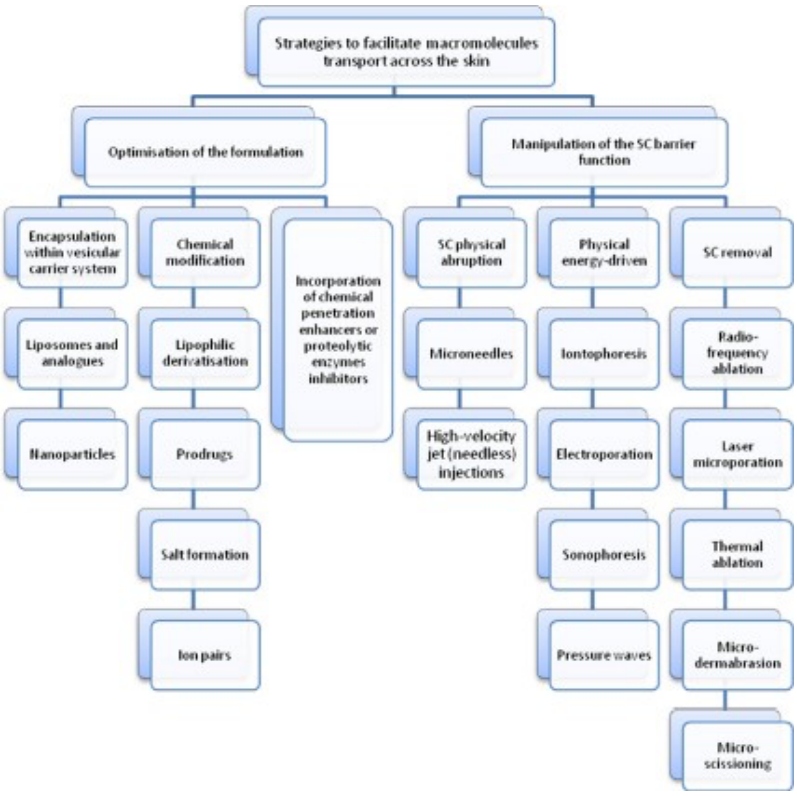
Il *Transdermal Drug Delivery System* (TDDS) è un metodo indolore e non invasivo di somministrazione di farmaci attraverso la pelle per un trattamento locale o sistemico [1]. Il farmaco viene somministrato attraverso l'applicazione di un cerotto transdermico o tramite altri metodi/dispositivi sulla pelle, e deve essere in grado di permeare attraverso gli strati cutanei per poter raggiungere la circolazione sistemica. I cerotti transdermici vengono caricati di notevoli quantità di principio attivo, rispetto alla piccola quantità che raggiunge i livelli ematici e che viene effettivamente assorbita.

Rispetto alle forme convenzionali di somministrazione dei farmaci (orale, iniettiva, ecc.), il TDDS permette di evitare un significativo metabolismo di primo passaggio, consentendo così di somministrare una inferiore dose giornaliera di farmaco con un netto miglioramento dell'efficacia terapeutica. Inoltre, mantiene i livelli ematici di farmaco entro il range terapeutico per prolungati periodi di tempo grazie all'infusione continua di farmaco, estendendo così la durata d'azione del farmaco e riducendone la frequenza di somministrazione [2,3]. Vengono anche ridotti al minimo il dolore e il rischio di infezione e viene favorita un'elevata compliance del paziente.

Tuttavia, il limite maggiore nello sviluppo dei sistemi di somministrazione transdermica è che solo pochi farmaci possono permeare la cute, a causa dell'efficiente funzione di "barriera", propria principalmente dello strato corneo. La bassissima permeabilità dello strato corneo a sostanze idrofile è legata alla matrice extracellulare lipidica costituita da ceramidi, colesterolo e acidi grassi a lunga catena. Le sostanze possono attraversare il corneo per via intercellulare o per via intracellulare (via trans-epidermica) oppure attraverso l'apparato pilosebaceo e le ghiandole eccrine (via trans-follicolare).

Ai fini dell'assorbimento percutaneo l'opportunità di modificare la permeabilità di barriera è di grande interesse, in quanto consente di incrementare l'efficacia terapeutica delle formulazioni dermatologiche. Infatti, solo le molecole più piccole (< 500 Da) con una moderata lipofilia possono penetrare liberamente nella pelle, mentre i farmaci macromolecolari con una biodisponibilità molto scarsa sono solitamente ostacolati dalla barriera cutanea [4]. Per aumentare la diffusione percutanea è possibile utilizzare dei promotori dell'assorbimento, i cosiddetti "enhancers", ovvero agenti inerti in grado di ridurre l'efficienza della barriera dello strato corneo per aumentare l'assorbimento dei farmaci con meccanismi diversi, chimici o fisici.

Figura 1: Varie strategie per migliorare il trasporto di macromolecule attraverso la pelle [5].



1.1 LA PELLE

La comprensione della struttura, della composizione e delle funzioni della pelle, è fondamentale per la progettazione dei cerotti transdermici e di conseguenza per il TDDS. La struttura fisiologica unica della pelle, grazie all'abbondante presenza di vasi sanguigni e vasi linfatici, offre l'opportunità di trasportare agenti terapeutici attraverso la pelle per il trattamento di diverse patologie croniche e, recentemente, sono stati sviluppati cerotti anche per il trattamento locale di alcune patologie cutanee. La pelle è l'organo più grande dell'uomo ed è composta da tre strati, dall'esterno verso l'interno: epidermide, derma e ipoderma (tessuto sottocutaneo), integrati da vari organi accessori (HF, ghiandole sudoripare e ghiandole sebacee).

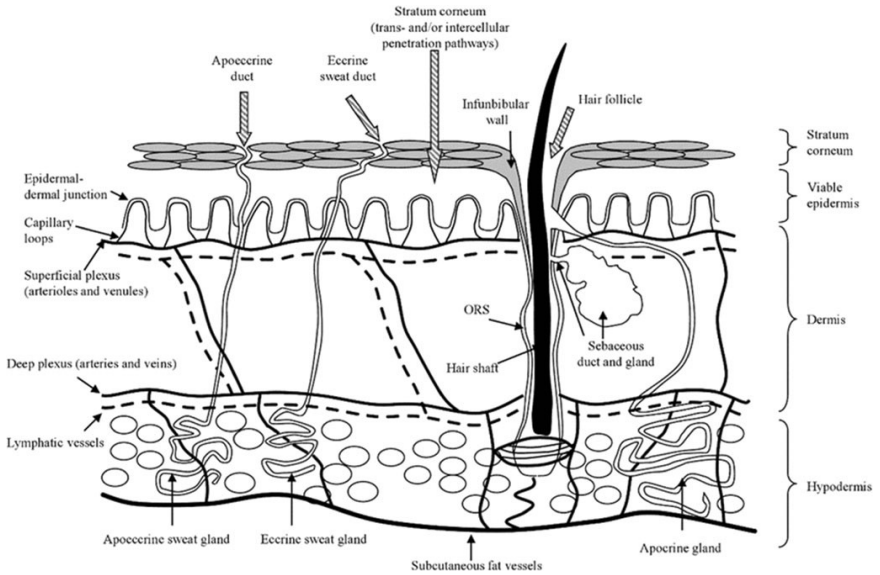
L'epidermide è un epitelio pavimentoso pluristratificato dallo spessore di 0,04 -1,6 mm. Partendo dallo strato più superficiale, si distinguono: strato corneo (SC), strato lucido, strato granuloso, strato spinoso e strato basale o germinativo. In particolare, lo strato corneo è la principale barriera fisica della pelle. È composto da diversi strati di cheratinociti lipidici, anucleati e ricchi di proteine, disposti a "mattoncino" ed immersi in una matrice

extracellulare lipidica organizzata in lamelle a doppio strato. Il compito principale dei lipidi intercellulari è quello di prevenire la perdita d'acqua dai corneociti, oltre alla funzione di coesione per lo strato corneo e di regolamentazione del processo di assorbimento percutaneo.

Lo strato basale, che separa l'epidermide dal derma, è composto da cellule cilindriche disposte a palizzata; in questo strato, i cheratinociti sono in continuo stato di proliferazione e differenziazione e si spostano continuamente verso la superficie per sostituire le cellule eliminate.

Il derma è la parte più spessa della pelle, con uno spessore di circa 0,2 cm. Comprende lo strato papillare, lo strato sub-papillare e lo strato reticolare. Lo strato superiore è il derma papillare, con uno spessore di 100-200 μm, composto da sottili fasci di collagene, fibre di elastina e fibroblasti. Sono presenti anche grandi quantità di acqua, complessi polisaccaridici e polipeptidici e proteine plasmatiche. Al di sotto di questo strato si trova il derma reticolare, costituito da fibre elastiche grossolane e fasci di collagene spessi. Questo strato del derma è ricco di fibre nervose, vasi sanguigni e vasi linfatici. Sotto il derma reticolare si trova il tessuto sottocutaneo (ipoderma), che può avere uno spessore di alcuni millimetri. È composto da tessuto adiposo sciolto che ammortizza la pressione esterna e immagazzina calore. Inoltre, nel derma (o al di sotto di esso) sono distribuite reti capillari fini e abbondanti, reti linfatiche e recettori.

Figura 2: Struttura della pelle [6].



Il superamento della resistenza dello strato corneo e l'aumento della permeabilità attraverso la pelle sono i punti chiave della somministrazione transdermica di farmaci. Affinché il TDDS sia efficace, è necessario che il farmaco caricato all'interno del cerotto transdermico venga assorbito nella circolazione sistemica, dopo aver attraversato gli strati cutanei, ad un livello efficace di velocità costante e di infusione continua durante il periodo di utilizzo.

L'assorbimento cutaneo può avvenire per via trans-follicolare attraverso gli annessi ghiandolari (apparato pilosebaceo e ghiandole eccrine) e per via trans-epidermica. Le ghiandole eccrine hanno un'importanza minima per l'assorbimento, infatti ricoprono meno dello 0,1% della superficie corporea e presentano un rivestimento che è scarsamente permeabile. In ogni caso esse possono rappresentare una via di assorbimento marginale solamente per sostanze altamente idrosolubili. L'apparato pilosebaceo, che include le ghiandole sebacee ed i follicoli piliferi, rappresenta un'utile e rapida via di assorbimento per molecole liposolubili di grandi dimensioni, quali ad esempio gli steroidi. Tuttavia, anche in questo caso, la superficie di assorbimento è relativamente piccola, infatti, solo lo 0,1-0,5% della superficie corporea è occupata da queste strutture.

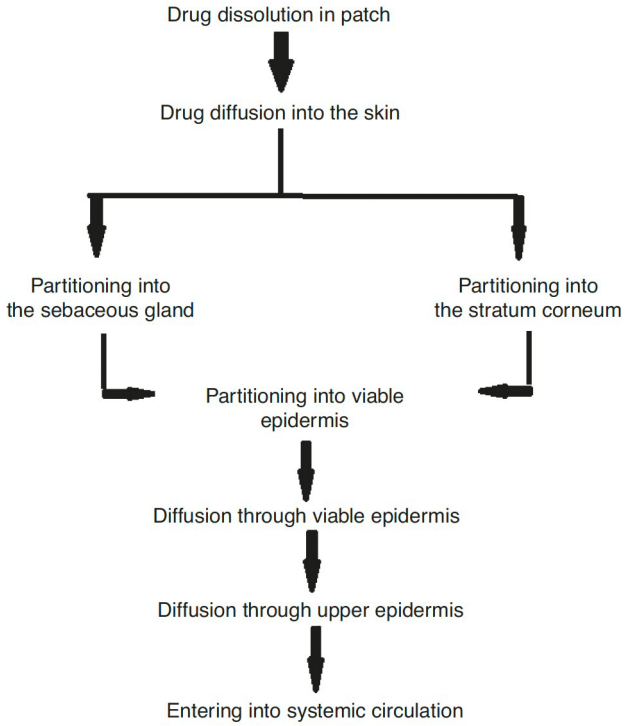
La diffusione attraverso la pelle (via trans-epidermica) richiede la ripartizione del farmaco negli strati cutanei e, in base a questo, i farmaci idrofili passano facilmente attraverso le vie intracellulari, mentre i farmaci lipofili utilizzano normalmente la via intercellulare.

Alla via intercellulare è stato attribuito fino ad ora un ruolo secondario, ma si è visto che essa rappresenta la via di penetrazione preferenziale per i composti polari ad alto peso molecolare (PM>2000 Da). Il vantaggio della via intercellulare rispetto a quella transcellulare consiste nel fatto che la sostanza si troverebbe di fronte a un mezzo omogeneo dal punto di vista della composizione chimica. Oltre a ciò, è praticamente nulla la possibilità che la sostanza venga metabolizzata dal momento che la maggior parte degli enzimi è localizzata all'interno della cellula.

La maggior parte delle sostanze esogene, a seconda delle loro caratteristiche chimico fisiche e soprattutto in base alla solubilità e alle dimensioni molecolari, attraversano la cute penetrando direttamente all'interno dei corneociti. La penetrazione transcellulare diretta consiste nel passaggio della molecola dapprima attraverso la parete cellulare del corneocita, che, proprio per le sue caratteristiche strutturali, è uno degli ostacoli principali, e successivamente nella migrazione delle molecole polari verso le zone acquose del corneocita e delle molecole liofile verso le zone a maggior contenuto lipidico.

È evidente che l'intero processo si basa sul principio di diffusione passiva. Studiando le condizioni che favoriscono il passaggio transcellulare, si è visto che un basso peso molecolare (PM<2000 Da) ed una sufficiente solubilità nei lipidi e nell'acqua garantiscono l'assorbimento delle sostanze applicate sulla cute [7].

Figura 3: Assorbimento dei farmaci attraverso la pelle [8].



1.2 ASSORBIMENTO PERCUTANEO E LEGGE DI FICK

Per chiarire i meccanismi di trasporto e le funzioni di barriera della cute, quest'ultima può essere considerata come una membrana, o un insieme di membrane per il cui studio sono applicabili principi matematici. Il trasporto attraverso lo strato corneo è un processo di diffusione passiva governato dalla legge di diffusione di Fick:

Figura 4: Formula Legge di Fick

$$\frac{dq}{dt} = \frac{R \cdot Ds \cdot A \cdot Cv}{h}$$

dove:

Cv = concentrazione del principio attivo nel veicolo;

R = coefficiente di ripartizione del principio attivo tra veicolo e barriera;

Ds = coefficiente di diffusione del principio attivo attraverso l'epidermide;

A = superficie interessata all'assorbimento;

h = spessore attraversato.

Da questa legge si evince che il trasporto attraverso lo strato corneo è direttamente proporzionale alla solubilità ed alla diffusibilità della sostanza applicata. La solubilità relativa di un soluto è espressa dal coefficiente di ripartizione corneo/veicolo e si riferisce al rapporto tra la solubilità della sostanza nel corneo rispetto a quella nel veicolo. Questo parametro indica, quindi, l'affinità del farmaco per lo strato corneo e la sua capacità di separarsi dal veicolo. La diffusibilità è la capacità di un soluto di attraversare la barriera ed è influenzata da vari fattori, compresa la tortuosità del percorso intercellulare.

Come espresso dalla legge di Fick, la velocità di assorbimento (flusso) è direttamente proporzionale alla concentrazione del farmaco disciolto nel veicolo ed alla superficie di applicazione, mentre è inversamente proporzionale allo spessore dello strato corneo. Pur essendo calcolabili tutti i parametri, per la complessità della barriera cornea, la legge di Fick ha solamente valore orientativo in quanto non tiene conto di molti fattori sia biologici, sia biofarmaceutici sia chimico-fisici che influenzano l'assorbimento percutaneo.

1.3 PRINCIPALI FATTORI CHE INFLUENZANO ASSORBIMENTO PERCUTANEO

Affinché una molecola possa attraversare lo strato corneo, questa deve avere caratteristiche chimico-fisiche desiderabili e compatibili con le proprietà della barriera cutanea.

Molti fattori fisio-chimici e fisiologici giocano un ruolo fondamentale nel fenomeno dell'infusione di farmaci attraverso la cute; infatti, il coefficiente di idratazione cutanea, la sede anatomica, età e condizione cutanea sono responsabili dell'assorbimento del farmaco. A causa di un minor grado di idratazione, la pelle invecchiata assorbe meno e più lentamente di quella giovane [9,10].

Il metabolismo locale e la diminuzione del flusso sanguigno hanno un impatto negativo sulla perfusione dei farmaci attraverso la pelle; di conseguenza, si verificano alcune perturbazioni nello strato corneo e nei tessuti al di sotto di esso che permettono di aumentare o diminuire la permeazione del farmaco [10,11].

Tuttavia, è possibile regolare la solubilità del farmaco e di conseguenza migliorarne la permeazione agendo con alcune modifiche strutturali, attraverso la salificazione, esterificazione e metilazione delle porzioni idrofile del farmaco, [12].

In questo contesto di permeabilità, le dimensioni della molecola di farmaco intervengono con un ruolo preponderante. I farmaci a basso peso molecolare sotto i 500 Da sono ritenuti preferibilmente adatti alla diffusione passiva, anche se, esistono alcune eccezioni [13] che consentono, per le proprietà intrinseche del farmaco, a molecole con peso molecolare superiore ai 500 Da, di permeare comunque efficacemente attraverso la pelle per diffusione passiva. Tuttavia, il farmaco non può raggiungere un livello di concentrazione molto elevato nel plasma e la somministrazione periodica o pulsatile non è possibile nel TDDS.

I recenti sviluppi nella somministrazione di farmaci per via transdermica hanno quindi accentuato la necessità di strategie per superare le proprietà di barriera dello strato corneo, al fine di facilitare la permeazione rapida ed efficace di una più ampia gamma di molecole, compresi i farmaci macromolecolari e i materiali genetici [14,15]. A tal proposito, i metodi utilizzati per poter migliorare l'assorbimento del farmaco attraverso lo strato corneo sono: l'ottimizzazione della formulazione o la manipolazione della funzione di barriera dello strato corneo, ottenute con uno dei due approcci principali: metodi chimici (passivi) o fisici (attivi).

Il miglioramento della diffusione percutanea con metodi chimici consiste nell'integrazione dei cosiddetti *"enhancers"* nel veicolo. Gli *enhancers* sono in grado di modificare reversibilmente le caratteristiche di barriera della cute agendo in più modi: incrementando la permeabilità della sostanza all'interno della barriera per interazione con la cheratina intracellulare, i desmosomi, i lipidi inter-corneocitari; aumentando la solubilità

nel veicolo; migliorando il coefficiente di ripartizione oppure modificando la polarità del farmaco [16].

Sebbene numerose sostanze siano state identificate come promotori di assorbimento, le conoscenze attuali sulla loro relazione struttura-attività sono limitate. In generale gli *enhancers* possono essere divisi in due grandi gruppi: a) solventi polari con basso peso molecolare come etanolo, propilenglicole, dimetilsolfossido; b) tensioattivi contenenti una testa polare ed un dominio idrofobico come glicerile monolaurato, etile oleato, isopropil miristato. I tensioattivi rimuovono il film idrolipidico e alterando l'organizzazione lipidica dello strato corneo, rendendo così la pelle più vulnerabile perché ha perso la sua impermeabilizzazione.

I metodi attivi/fisici sono metodi strumentali sperimentati per incrementare la penetrazione di sostanze attive per ottenere un effetto loco-regionale, cioè sistemi con l'obiettivo di aiutare il farmaco a raggiungere l'area da trattare in concentrazione adeguata e senza dispersione in circolo. Comprendono vari approci tra cui microneedles (MN), elettroporazione, sonoforesi, iontoforesi e ionoforesi [17], sistemi che forniscono energia esterna come forza motrice per la somministrazione di farmaci attraverso la pelle o creano una rottura dello strato corneo prima o dopo l'applicazione del farmaco [18,19].

2. MICRONEEDLES

Recentemente, i *microneedles transdermal patches* sono diventati una nuova generazione di sistemi di somministrazione topica, rivoluzionando il panorama del TDDS [20], studiati da diversi ricercatori per la somministrazione di farmaci per via transdermica e per superare i limiti degli approcci convenzionali.

Considerando i problemi dell'ago ipodermico e i vantaggi del cerotto transdermico, è stato sviluppato un sistema di rilascio del farmaco tramite *microneedles*, descritto come un ibrido tra aghi ipodermici e cerotti transdermici [21], e caricati di una quantità di farmaco sufficiente a dare la risposta terapeutica richiesta. Come tecnologia farmaceutica emergente, i *microneedles transdermal patches* presentano notevoli vantaggi: facilità di applicazione e rimozione, minima invasività e assenza di dolore.

Il dispositivo è costituito da una serie di file di aghi sottilissimi di dimensioni micrometriche disposti ordinatamente sulla base del cerotto e la loro lunghezza varia solitamente da 25 μm a 2000 μm [22], i quali vanno a creare decine o centinaia di minuscoli fori di spillo su una piccola area cutanea [23]. Il MN "distrugge" lo strato corneo e penetra temporaneamente nell'epidermide per immagazzinare il farmaco o rilasciarlo direttamente nel derma, ottenendo effetti terapeutici locali o sistemici attraverso la rete vascolare del derma. I MNs hanno una forte forza meccanica per perforare la barriera dello strato corneo creando una serie di micro-canali temporanei nella pelle, che possono aumentare significativamente la permeazione transdermica del farmaco.

I MNs sono solitamente progettati per penetrare nell'epidermide, evitando il contatto con i vasi sanguigni e le fibre nervose che risiedono principalmente nello strato dermico profondo; pertanto, possono offrire un metodo minimamente invasivo e indolore, evitando anche un possibile sanguinamento dal sito di applicazione. In particolare, i *microneedles transdermal patches* sono formulati in dimensioni variabili a seconda del tipo di *microneedle* e del materiale utilizzato. Poiché l'epidermide ha uno spessore fino a 1500 μm, la lunghezza dell'ago fino a 1500 μm è sufficiente per rilasciare il farmaco nell'epidermide. Aghi di lunghezza maggiore e di diametro più spesso possono penetrare in profondità nel derma, danneggiare i nervi e causare dolore. In genere sono lunghi 150-1500 micron, larghi 50-250 micron e hanno uno spessore della punta di 1-25 micron. Le punte dei *microneedles* possono essere cilindriche, triangolari, appuntite, pentagonali, ottagonali e sono disponibili in molte altre forme.

Nel 1971, Gerstel e Place hanno proposto per la prima volta il concetto di utilizzo dei MN come dispositivi di somministrazione di farmaci in un brevetto, descrivendo l'invenzione come *"puncturing projections"* [24].

Tuttavia, le prime discussioni e le prime analisi dei MNs sono emerse nel 1998, quando Henry et al. hanno dimostrato l'uso di *silicon MNs* per facilitare con successo il trasporto di un farmaco-modello, la calceina, attraverso la pelle.

Nel 2004 sono stati compiuti i progressi più significativi, quando Mark Prausnitz ha proposto che gli aghi dei *microneedles* possono essere utilizzati per migliorare la veicolazione non solo di molecole con basso peso molecolare, ma anche di macromolecole come peptidi, proteine e oligonucleotidi [25].

Da allora si è assistito ad un aumento esponenziale delle pubblicazioni riguardanti i *microneedles* per applicazioni farmaceutiche.

Nonostante questi progressi, i sistemi di somministrazione di farmaci basati su questi microaghi non hanno ancora avuto un impatto significativo in ambito clinico, poiché la maggior parte dei dispositivi è ancora in fase di studi sperimentali preclinici e clinici. Tuttavia, sulla base degli attuali progressi nella ricerca su questi dispositivi e dell'aumento del numero di prodotti cosmetici a base di *microneedles* commercializzati, non è irragionevole prevedere nel prossimo futuro l'emergere di questi sistemi terapeutici anche per la gestione di malattie acute o croniche [26-31].

Essendo sicuri e compatibili come la tradizionale somministrazione transdermica ed efficienti come l'iniezione ipodermica, i MNs possono veicolare direttamente gli agenti terapeutici nelle microlesioni topiche con una maggiore biodisponibilità del farmaco e ridotti effetti avversi associati all'esposizione sistemica, il che è molto vantaggioso per il trattamento delle patologie cutanee [32].

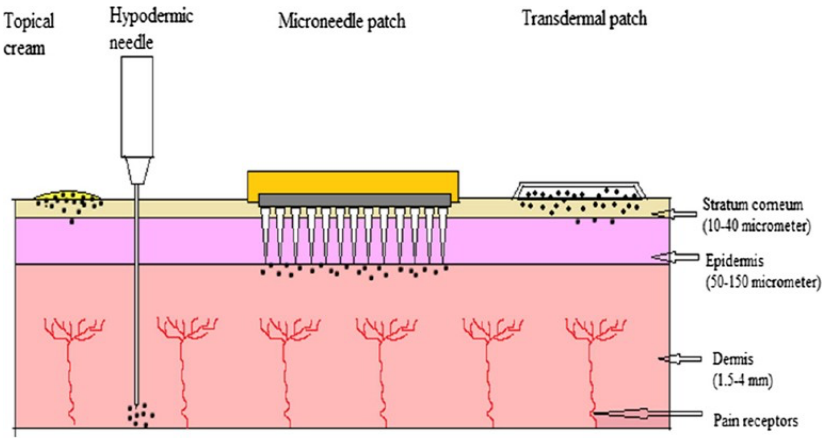
La somministrazione di farmaci mediante i *microneedles transdermal patches* consente alle molecole di farmaco di attraversare lo strato corneo, permettendo così ad un maggior numero di molecole di farmaco di entrare nella pelle. Le caratteristiche principali di questa tecnologia sono una più rapida insorgenza dell'azione terapeutica, una migliore compliance del paziente, la possibilità di autosomministrazione, una migliore permeabilità ed efficacia del farmaco [33,34]. Danno inoltre risultati altamente riproducibili con una minima variabilità interpersonale nella biodisponibilità.

Pur avendo molti vantaggi, presentano, però, alcune limitazioni: esiste, infatti, la possibilità di irritazione o allergia locale per le pelli più sensibili. Poiché le dimensioni dell'ago sono molto ridotte ed estremamente sottili, è possibile che si verifichi la rottura delle punte dei microaghi che, se rimangono all'interno della pelle, possono causare problemi. Queste limitazioni sono molto rare e possono essere superate con una selezione avanzata dei materiali utilizzati per la fabbricazione dei micro-aghi [35-38].

Tabella 1: Discussione comparativa dei vari sistemi di somministrazione transdermica dei farmaci [39].

	Topical cream	Transdermal patch	Hypodermic needle	Microneedle
Description	Emulsion/ emulgel/ cream/ ointments	Adhesive patch to be placed on the skin	Fine, hollow tube having a sharp tip with small opening at the end	Micron size needles are aligned on the surface of a small patch
Onset of action	Slow	Slow	Faster	Faster
Pain	Painless	Painless	Painful	Painless
Bioavailability	Poor	Insufficient	Sufficient	Sufficient
Patient compliance	Less	Better	Less	Better
Self-administration	Possible	Possible	Not possible	Possible
Mechanism of drug delivery	Permeation through skin pores.	Drug has to cross stratum corneum barrier, thus poor diffusion of large molecules	Drug placed directly in the dermis	Bypass stratum corneum and drug placed directly into epidermis or dermis hence enhanced permeability

Figura 5: Il trasporto dei farmaci attraverso i vari sistemi transdermici [40].



L'applicazione di una crema topica diffonde solo sulla superficie della pelle; è stato riportato che solo il 10-20% del farmaco totale caricato nella crema riesce a permeare attraverso la pelle.

Nel caso di un tradizionale cerotto transdermico, il farmaco deve passare la barriera dello strato corneo e quindi presenta una minore biodisponibilità. L'aggiunta di un *enahncer* nel cerotto transdermico può migliorare la permeazione del farmaco, ma in misura molto limitata.

L'ago ipodermico penetra in profondità nel derma, dove sono presenti i recettori del dolore, rilasciando il 90-100% del farmaco caricato, ma è molto doloroso e determina una scarsa compliance del paziente.

Il *microneedle transdermal patch*, invece, bypassa la barriera dello strato corneo e rilascia il farmaco direttamente nell'epidermide o nello strato superiore del derma, liberando il 100% del farmaco caricato senza dolore.

2.1 TIPI DI MICRONEEDLES

Negli ultimi vent'anni, nel campo della biomedicina, sono stati sviluppati diversi tipi di MNs, i quali, in generale, possono essere classificati in base a diversi parametri: il metodo di applicazione, il materiale di composizione, il design della geometria e il processo di produzione [41, 42]

Attualmente, i MN sono classificati nelle seguenti cinque categorie: *solid MNs, coated MNs, hollow MNs, dissolving MNs*, e *hydrogel-forming MNs* [43]. Ogni tipo di MN possiede un proprio modo di veicolare il farmaco nell'epidermide. Alcuni sono utilizzati solo per creare microlesioni nello strato corneo, altri sono pre-rivestiti con la soluzione di farmaco sulla loro superficie, altri sono dissolvibili e altri ancora sono pre-riempiti con la soluzione di farmaco [44-46].

Figura 7: Visione schematica dei differenti approcci per il trasporto dei farmaci attraverso i vari tipi di MNs [47].

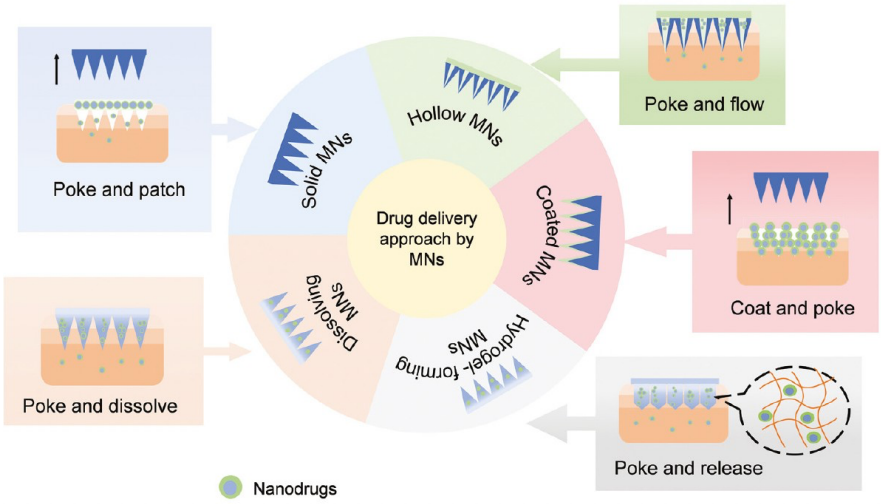


Tabella 2: Sommario dei differenti tipi di MNs [48].

Type	Advantages	Disadvantages	Fabrication techniques	Commercially available MNs
Solid MNs	High mechanical strength	Two-step administration	Drawing lithography Wet etching Dry etching 3D printing	Dermapen Dermaroller DermaFrac Liteclear®
Coated MNs	One-step process	Limited amount of drug; breaking off of coating	Masked dip coating Thin film dip coating Inkjet printing Immersion coating Spray coating Layer-by-layer coating 3D printing	MacroFLUX™ Nanopatch 3M coated microstructured transdermal system
Dissolving MNs	One-step process; controlled drug release; low cost	Lower mechanical strength; strong hygroscopicity; poor drug loading; matrix detention	Micromolding Photopolymerization Photolithography Droplet-born air blowing Drawing lithography 3D printing	MicroCor VaxMAT® MicroHyala
Hollow MNs	Improved patient compliance; ability to use large dosage and molecules	High cost; critical fabrication process; pinhole blocking phenomenon; retained fluid	Laser lithographic Etching Micromolding 3D printing	MicronJet Soluvia Fluzone 3M MTS FLUARIX
Hydrogel forming MNs	Higher drug capacity; accurate dosing	Lower mechanical strength	Micromolding Lithography 3D printing	

2.1.1 SOLID MNs

I *solid MNs*, come dice il nome stesso, sono solidi e robusti. In generale, questo tipo di MN richiede un'applicazione graduale secondo la modalità di somministrazione *"poke and patch"* [49]. I *solid MNs* sono caratterizzati da una forte resistenza meccanica e possono facilmente penetrare la barriera dello strato corneo; il farmaco viene applicato sulla punta dei micro-aghi, i quali gradualmente penetrano nella pelle, creando microcanali che permettono la diffusione passiva del principio attivo. Il farmaco viene così assorbito dai capillari e produce un effetto sistemico, ma possono essere utilizzati anche per un effetto locale [50].

Tuttavia, la durata di apertura dei canali ad opera dei *microneedles* è un fattore limitante per questo approccio di somministrazione del farmaco ed è attribuita alla natura rigenerativa della pelle: infatti, la durata di apertura dei microcanali con l'approccio *"poke and patch"* varia da 15 minuti fino a diverse ore e questo può portare ad una riduzione della quantità di farmaco che può essere somministrata.

I *solid MNs* sono preparati con un'ampia gamma di materiali, tra cui: agenti inorganici, metalli e polimeri.

Essendo il primo tipo di MN ad essere utilizzato, questi possono essere prodotti utilizzando progetti e processi di fabbricazione consolidati e sono diventati uno dei tipi di MN più attualmente in uso.

Nonostante questo, l'utilizzo dei *solid MNs* in metallo o in silicio può essere ancora problematico, in quanto la loro biocompatibilità è dubbia e conservano comunque la possibilità di rottura una volta penetrati nella cute. Inoltre, i micro-canali prodotti dai *solid MNs* possono facilmente causare somministrazione di dosi imprecise di farmaco [51].

Attualmente sono disponibili in commercio i Dermaroller® (DR), i quali sono stati progettati sulla base dei *solid MNs* e trovano ampia applicazione sia in campo cosmetico che medico.

2.1.2 COATED MNs

I *coated MNs* sono un tipo particolare di MN, in quanto vengono utilizzati come veicoli per trasportare e depositare i farmaci, semplificando significativamente il processo di rilascio dei farmaci rispetto a quello ottenuto con i *solid MNs* [52]. Sono simili ai *solid MNs* in termini di materiali utilizzati per la produzione dell'ago e nei metodi di fabbricazione, ma in questo caso i micro-aghi vengono rivestiti con la soluzione o la dispersione di farmaco a formare un film sottile mediante: rivestimento ad immersione, rivestimento a stampa a getto d'inchiostro, rivestimento ad immersione e il rivestimento a spruzzo [53-58].

La quantità di farmaco che può essere caricata sui *coated MNs transdermal patches* è determinata principalmente dallo spessore del rivestimento e dalla struttura geometrica degli aghi (come la loro dimensione, densità e forma). In ogni caso, i *coated MNs* non possono essere utilizzati per somministrare grandi dosi di farmaco a causa del limitato spessore della struttura degli aghi [59,60]. Dopo aver applicato il *coated MNs transdermal patch* sulla pelle, lo strato di rivestimento si stacca dagli aghi e rilascia successivamente il farmaco.

Rispetto ai solid MNs, questo tipo di MN ha il vantaggio di poter essere semplicemente applicato in un unico step per il completo rilascio del farmaco e sono in grado di prolungare la *shelf-life*; di contro hanno la propensione a sfaldarsi e staccarsi dalla superficie cutanea durante l'inserimento [61,62]. I *coated MNs* devono soddisfare le seguenti condizioni:

(1) la distribuzione del farmaco nel rivestimento e lo spessore del rivestimento devono essere omogenei;

(2) il rivestimento deve essere saldamente attaccato ai micro-aghi e presentare *non-shedding* e *non-cracking properties*;

(3) la superficie del supporto non deve essere contaminata da altri farmaci [63].

Attualmente, i *coated MNs* hanno un'ampia gamma di applicazioni nella somministrazione transdermica di NPs e farmaci macromolecolari.

2.1.3 DISSOLVING MNs

I *dissolving MNs* sono fabbricati incapsulando il farmaco nella matrice polimerica della punta dell'ago con un'elevata capacità di carico. L'applicazione dei *dissolving MNs transdermal patches* sulla pelle richiede un solo step, a differenza dei solid MNs o dei *hollow MNs*, e subito dopo avviene la dissoluzione con rilascio del farmaco.

È possibile controllare la cinetica di rilascio del farmaco dai *dissolving MNs transdermal patches* scegliendo diversi materiali polimerici [64]; il polimero viene a degradarsi all'interno della pelle e controlla il rilascio del farmaco. La biocompatibilità e la dissoluzione del polimero all'interno della pelle rendono la scelta di questo tipo di MN ottimale per terapie a lungo termine e con un'elevata compliance del paziente [65].

Tuttavia, la stabilità fisica, la resistenza meccanica, la distribuzione del farmaco sulla punta dell'ago in questo specifico sistema sono fattori da tenere in considerazione durante la loro applicazione e conservazione [66,67]. Ad oggi, nonostante un ampio utilizzo dei *dissolving MNs* per svariati utilizzi, sussistono una serie di problemi che devono ancora essere risolti:

(1) i *dissolving MNs* sono generalmente igroscopici e quindi devono sempre rispettare determinati requisiti per quanto riguarda l'ambiente utilizzato per la conservazione, il trasporto e la shelf-life;

(2) hanno inevitabilmente una bassa resistenza meccanica a causa dell'uso di materiali polimerici, i MNs possono non essere inseriti completamente, con conseguente spreco di farmaco; inoltre, sempre a causa della loro bassa resistenza meccanica possono non essere in grado di perforare la pelle, causando la rottura o la flessione dell'ago quanto sotto pressione;

(3) nel processo di produzione possono subire una fase di riscaldamento che può portare alla degradazione del principio attivo; per evitare questo limite, la maggior parte di questi MNs, attualmente, vengono realizzati con miscele di polimeri acquosi piuttosto che con polimeri termosensibili.

(4) i MNs presentano tipicamente una scarsa quantità di farmaco caricato e l'aumento della concentrazione di farmaco è inutile in quanto, con l'aumento della concentrazione di farmaco, può aumentare lo spessore della superficie dei MNs, il che aumenterebbe la difficoltà di perforare la pelle con i MNs [68];

(5) i MNs hanno bisogno di tempo per dissolversi, fatto che può rendere più difficoltoso il rilscio del farmaco o, addirittura, che il farmaco non venga rilasciato in tempo.

L'ultrasuonoterapia induce la dissoluzione dei MN attraverso la vibrazione della pressione acustica; pertanto, la combinazione di *dissolving MNs transdermal patches* con l'ultrasuonoterapia o altre tecniche potrebbe costituire un'efficace soluzione per una rapida somministrazione transdermica e per facilitare lo sviluppo di dispositivi MNs [69].

2.1.4 HOLLOW MNs

I *hollow MNs* presentano dei fori sulle punte dei micro-aghi e hanno uno spazio vuoto al loro interno che viene riempito con la soluzione o la dispersione di farmaco e sono un'ottima alternativa ai *dissolving MNs* e *coated MNs* quando è necessario somministrare una significativa quantità di farmaco. Una volta applicati sulla pelle, i *hollow MNs transdermal patches* rilasciano il farmaco secondo il metodo *"poke and flow",* depositando il farmaco direttamente nello strato superiore del derma. Viene utilizzato soprattutto per composti ad alto peso molecolare come proteine, vaccini e oligonucleotidi.

Questi micro-aghi sono in grado di rilasciare una dose elevata di farmaco, in quanto una maggiore quantità di farmaco può alloggiare nello spazio vuoto all'interno dell'ago. In questo caso è essenziale mantenere una velocità di flusso costante. L'aumento del foro del MN può aumentare la velocità di flusso, ma, allo stesso tempo comporta una riduzione della resistenza e dell'affilatura del MN. La loro struttura è molto diversa da quella degli altri *MNs transdermal patches*, ma molto più similare a quella dell'iniezione ipodermica tradizionale.

Tuttavia, questo approccio limita la scelta terapeutica ad una formulazione liquida e può portare ad un maggior rischio di perdita di farmaco, che può contribuire a creare problemi per quanto riguarda la somministrazione della dose necessaria. Inoltre, la presenza di un foro cavo nella progettazione riduce la resistenza meccanica dei *hollow MNs*, con conseguente aumento del rischio di frattura al momento dell'inserimento nella pelle e rilascio di una dose imprecisa di farmaco.

Questo sistema ha avuto un enorme successo in termini di commercializzazione: ad esempio, l'azienda 3M ha introdotto un *hollow MNs transdermal patches* (hMTS) per fornire una rapida somministrazione intradermica di 300-1500 μL di formulazioni liquide di sali e proteine di piccole molecole [70].

2.1.5 HYDROGEL-FORMING MNs

I *hydrogel-forming MNs* sono un recente sviluppo per superare i limiti associati ad altre classi di MNs e sfruttano le proprietà degli idrogeli, cioè reti tridimensionali rigonfie d'acqua preparate da polimeri, proteine o idrocolloidi [71]. Per realizzare questo tipo di MNs si utilizzano polimeri *super-swelling*, con struttura idrofila che li rende capaci di assorbire una grande quantità di acqua nella loro rete polimerica tridimensionale.

Basandosi sul principio del *"poke and release",* questi polimeri si gonfiano quando vengono inseriti nella pelle, richiamando il fluido interstiziale circostante per generare una rete di condotti di idrogeli in cui il farmaco può fluire dallo strato di supporto alla pelle.
Inoltre, è posssibile introdurre nella struttura del cerotto transdermico un serbatoio, il quale viene posto al di sotto dello strato di supporto e consente di caricare una maggiore quantità di farmaco rispetto ai *coated* e *dissolving MNs.*

Tuttavia, a causa della natura idrofila del condotto in idrogel, questo tipo di MNs potrebbe non essere adatto alla somministrazione di farmaci idrofobici.
Un importante vantaggio dei *hydrogel-forming MNs transdermal patches* è che, una volta applicati sulla pelle, possono resistere all'occlusione dei pori cutanei e possono essere completamente rimossi dalla pelle senza lasciare residui. Inoltre, il tasso di rilascio del farmaco può essere controllato regolando la densità di reticolazione delle fibre di idrogel [72,73].Questi MNs vengono utilizzati solo per "interrompere" la barriera cutanea, ma, una volta inseriti, si rigonfiano, comportandosi come una membrana che controlla la velocità di rilascio del farmaco. La facile sterilizzazione e la rimozione intatta dalla pelle sono le proprietà uniche di questi MNs [74].

La scelta oculata di un sistema di MNs adattato alla natura della condizione patologica e alle proprietà chimico-fisiche del farmaco è fondamentale per la progettazione di un sistema efficace per la somministrazione della dose necessaria.

2.2 MATERIALI DI FABBRICAZIONE DEI MNs E SUE PROPRIETÀ

2.2.1 SILICIO

Il primo MN è stato realizzato in silicio negli anni '90. I micro-aghi di silicio possono essere fabbricati con precisione e grazie alla natura flessibile del materiale è possibile produrre aghi di diverse dimensioni e forme.

Il costo del silicio e il suo complesso processo di fabbricazione che richiede molto tempo ne limitano l'uso nei micro-aghi. Inoltre, vi sono alcuni problemi di biocompatibilità: poiché il silicio è fragile, alcune parti possono rompersi e rimanere nella pelle, causando irritazione e in casi più gravi, tossicità [75].

2.2.2 METALLO

I principali metalli utilizzati sono l'acciaio inossidabile e il titanio. Si utilizzano anche leghe di palladio, nichel e palladio-cobalto. Hanno buone proprietà meccaniche e una buona biocompatibilità. I metalli sono sufficientemente resistenti da evitare la rottura, quindi più adatti rispetto al silicio per la produzione di MNs. Il primo metallo utilizzato per la produzione di MN è stato l'acciaio inossidabile. Il titanio è una buona alternativa all'acciaio inossidabile [76].

2.2.3 VETRO DI SILICE

È possibile produrre geometrie diverse su piccola scala utilizzando il vetro. Il vetro di silice è fisiologicamente inerte ma fragile di natura [77]. Il vetro borosilicato, composto da silice e triossido di boro, è più elastico. Sono per lo più fabbricati manualmente e quindi meno efficienti in termini di tempi di produzione [78]. I MNs in vetro non sono attualmente utilizzati a livello commerciale, ma solo per scopi sperimentali.

2.2.4 CARBOIDRATI

Il maltosio è uno degli zuccheri più comunemente utilizzati [79]. Possono essere utilizzati anche altri zuccheri, come mannitolo, trealosio, saccarosio, xilitolo e galattosio, polisaccaridi [80]. Gli impasti di carboidrati vengono modellati utilizzando sagome di silicio o di metallo. La miscela di carboidrati caricata con farmaci viene colata negli stampi per ottenere MNs [81]. La dissoluzione temporale del carboidrato regola il rilascio del farmaco all'interno della pelle. I carboidrati sono economici e sicuri per la salute umana, ma la degradazione ad alte temperature rende difficile il processo di fabbricazione.

2.2.5 POLIMERI

Un'ampia varietà di polimeri, tra cui: poli-metil-metacrilato [82], acido polilattico (PLA) [83], poli-acido lattico-co-glicolico (PLGA) [84], acido poli-glicolico (PGA), poli-carbonato [85], il copolimero ciclo-olefine, poli-vinil-pirrolidone (PVP) [86], poli-alcol-vinilico (PVA), polistirene (PS) [87], poli-metil-vinil etere [88].

I MNs fabbricati con questi polimeri hanno una resistenza inferiore rispetto ad altri materiali, ma sono più resistenti del vetro e della ceramica.

2.3 BENEFICI CLINICI DEI MICRONEEDLES TRANSDERMAL PATCHES

2.3.1 INDOLORE

Il dolore associato agli aghi ipodermici può causare un forte disagio nei pazienti, in particolare nella popolazione pediatrica e in coloro che soffrono di agofobia [89,90]. Uno dei vantaggi più noti dei *microneedles* è l'inserimento indolore del dispositivo rispetto agli aghi ipodermici. Questo vantaggio è attribuito alla sporgenza di dimensioni microniche degli aghi che perforano lo strato corneo senza raggiungere i meccanorecettori e i nocicettori che risiedono nel derma.

È stato riscontrato che il dolore associato ai *microneedles* è proporzionale alla lunghezza dei micro-aghi, in cui i *microneedle*s più lunghi hanno una maggiore tendenza a raggiungere e stimolare i nocicettori localizzati nell'epidermide [91]. Tuttavia, è stato riportato che alcuni micro-aghi mantengono una percezione inesistente del dolore, anche se la penetrazione giunge fino al derma superficiale [92]. Questa osservazione può essere attribuita alle piccole dimensioni della punta dell'ago utilizzato, che riduce la probabilità di incontrare e stimolare le terminazioni nervose.

Uno dei primi studi che ha evidenziato l'inserimento indolore dei micro-aghi è stato condotto da Kaushik et al. Nel loro studio, hanno confrontato la soglia del dolore dopo l'inserimento di aghi ipodermici da 26 gauge e, in seguito, utilizzando micro-aghi (400 microaghi in un'area di 3x3 mm con un ago di altezza pari a 150 μm). Nonostante la piccola dimensione del campione del loro studio (n = 12), il dolore nell'inserimento associato al *microneedle* era statisticamente inferiore rispetto all'ago ipodermico. Da allora sono stati pubblicati numerosi rapporti di studi clinici che confermano ulteriormente l'assenza di dolore dopo applicazione di *MNs transdermal patches* [91, 93-95].

2.3.2 MINIMA INVASIVITÀ E DIMENSIONI RIDOTTE DELLA LESIONE

Rispetto agli aghi ipodermici, le applicazioni di micro-aghi sono associate ad un minor danno al sito di iniezione e a dimensioni ridotte della lesione e con una rapida ed elevata capacità rigenerativa [96].

Uno studio clinico condotto da Haq et al. ha confrontato la puntura cutanea indotta da *microneedles* e una puntura indotta da aghi ipodermici. In questo studio, i ricercatori hanno riscontrato che la lesione e il micro-canale indotti dai *microneedles* di silicio rivestiti di platino mostravano un trauma cutaneo minimo ed una rigenerazione cutanea molto rapida (8-24 h) rispetto a quello indotto da aghi ipodermici [94].

Tuttavia, una volta che lo strato corneo viene penetrato dai *microneedles*, il rischio di infezione aumenta indipendentemente dalla presenza di circolazione sanguigna [97]. Grazie al meccanismo di autodifesa della pelle, molti studi riportano che l'uso di *microneedle*s attenua il potenziale rischio di infezione. Pertanto, è chiaro che la natura minimamente invasiva della somministrazione di farmaci ad opera dei *microneedle*s è un altro vantaggio del dispositivo.

2.3.3 FACILITÀ DI SOMMINISTRAZIONE

Un altro vantaggio dei *microneedles transdermal patches* è la facilità di applicazione del cerotto che esclude così la necessità di un operatore sanitario qualificato per la somministrazione del farmaco [98].

Un esempio in cui i *microneedles* offrono facilità di applicazione è la somministrazione di antigene purificato della tubercolosi (TB) per il test di Mantoux. Convenzionalmente, il test prevede l'iniezione intradermica dell'antigene nell'avambraccio utilizzando un ago ipodermico con un angolo di 5-15° rispetto alla superficie della pelle. L'inserimento di un ago al di fuori di questo intervallo comporta il fallimento del test di Mantoux [99,100].

Jin e collaboratori hanno sviluppato un test per la tubercolosi basato su micro-aghi, facile da somministrare e simile all'applicazione di un cerotto transdermico [101]. La facilità di somministrazione con questo approccio riduce gli errori di somministrazione e offre ai pazienti la possibilità di auto-somministrazione del test. Inoltre, è noto che l'ago ipodermico convenzionale deve essere maneggiato e smaltito con cura per evitare la trasmissione di agenti patogeni a trasmissione ematica. Nonostante la prudenza, le lesioni da puntura di ago sono ancora diffuse: oltre 30 milioni di operatori sanitari sono esposti al rischio di tali lesioni a livello globale, che possono portare alla trasmissione di infezioni come l'HIV, l'epatite B e C [102].

2.3.4 STABILITÀ DEI FARMACI

Un altro vantaggio riportato dai sistemi di rilascio di farmaci per via cutanea è la maggiore stabilità di piccole molecole di farmaci quando inserite in sistemi costituiti da *microneedles* [103,104]. L'aggiunta nella formulazione di agenti che aumentano la viscosità dei micro-aghi, infatti, impedisce ulteriormente la mobilità molecolare. Ciò attenua la probabilità di cristallizzazione e di separazione di fase nelle formulazioni di micronuclei, migliorando la stabilità dei farmaci durante la conservazione [105,106].

Questo vantaggio elimina la necessità di una catena del freddo e di sistemi di trasporto specializzati. Ciò è di grande importanza soprattutto nei Paesi in via di sviluppo, dove le strutture per la conservazione a freddo sono scarse e comportano il rischio di problemi di stabilità per alcuni farmaci. La maggiore stabilità della formulazione può ridurre in modo sostanziale i costi logistici e il prezzo complessivo di mercato dei prodotti a micro-aghi.

2.3.5 MINOR RISCHIO DI INFEZIONE

La lesione creata nello strato corneo dovuta all'inserimento di micro-aghi può comportare un rischio di invasione microbica che potrebbe causare un'infezione locale o addirittura sistemica. Spinti da questo tema, Donnelly et al. hanno condotto uno studio sulla permeazione dei microrganismi attraverso la membrana Silescol® ed attraverso la pelle di maiale, nel tentativo di chiarire la capacità dei microrganismi di insediarsi attraverso i micro-canali indotti dai *microneedles* rispetto all'iniezione con un tradizionale ago ipodermico. Il gruppo ha constatato che la puntura del *microneedle* determinava una minore penetrazione microbica nell'epidermide rispetto alla puntura dell'ago ipodermico [107].

Più recentemente, Vicente-Perez et al. hanno valutato l'effetto dell'applicazione ripetuta di *microneedles* sulle proprietà della barriera cutanea. Nel loro studio, hanno valutato gli effetti dell'applicazione ripetuta di microneedles su un modello di topo senza peli. Il gruppo ha scoperto, attraverso il monitoraggio della funzione di barriera cutanea e dei biomarcatori sierici di infezione, che né l'integrità della pelle né i marcatori infiammatori erano alterati nel modello murino in seguito all'applicazione ripetuta di microneedles [108].

Questo risultato dimostra che l'applicazione cronica dei *microneedles* presenta un buon profilo di sicurezza per quanto riguarda la funzione di barriera cutanea e il rischio di infezione.

Tuttavia, si può sostenere che la propensione all'insorgenza di un'infezione attraverso la penetrazione microbica nei microcanali indotti dai microneedles è ulteriormente ridotta grazie alle proprietà antimicrobiche della pelle. È noto che la pelle produce peptidi

antimicrobici come le catelicidine [109] e le β-defensine [110,111] che fungono da scudo chimico all'interno della cute. Questi composti orchestrano i componenti del sistema immunitario innato e adattativo contro le infezioni. Inoltre, il rischio di infezione potrebbe essere ulteriormente mitigato dalla fabbricazione e dall'applicazione asettica dei *microneedles* [112].

Hook et al. hanno dimostrato, attraverso l'utilizzo di micro-aghi polimerici resistenti alla colonizzazione e alla crescita batterica una riduzione dell'attacco batterico sia in vitro che in vivo [113]. Gli autori hanno suggerito che questi polimeri potrebbero essere utilizzati anche in altri dispositivi medici per ridurre la probabilità di infezioni iatrogene o secondarie. L'uso di questi polimeri nella fabbricazione e nel rivestimento dei *microneedles* può contribuire a ridurre l'adesione e la penetrazione batterica nella pelle durante l'applicazione dei *microneedles transdermal patches*. Inoltre, il gruppo di polimeri scoperto da Hook et al. non è battericida. L'applicazione di un polimero non battericida durante l'inserimento del micro-ago evita lo sviluppo di batteri resistenti agli antimicrobici.

2.4 IRRITAZIONE CUTANEA

Sebbene la probabilità di effetti avversi associati ai *microneedles* sia bassa, l'uso dei *microneedles* può causare irritazione cutanea. Tale reazione localizzata si manifesta spesso sotto forma di lieve eritema o edema. È stato dimostrato che il fattore principale che determina la probabilità di sviluppare un'irritazione cutanea è il materiale utilizzato per la fabbricazione dei *microneedles* [114]. Solo in rare occasioni si sono verificati eventi avversi gravi in seguito all'uso di *microneedles*; questi eventi sono stati attribuiti a un uso inappropriato del dispositivo.

Un altro fattore da considerare nello sviluppo di irritazione locale può essere attribuito al farmaco o agli eccipienti utilizzati nella formulazione. A causa delle dimensioni limitate dei micro-aghi, in particolare nei *dissolving* e *coated MNs*, è possibile somministrare solo una quantità limitata di farmaco per micro-ago. L'utilizzo di una quantità più concentrata di farmaco può rappresentare una soluzione per aggirare questo limite, ma, tuttavia, la somministrazione di un farmaco concentrato nella pelle può aumentare la probabilità di irritazione cutanea. Anche se la puntura del *microneedle* può provocare una certa irritazione locale, questi effetti sono di solito transitori [108, 115-117].

- APPLICAZIONI IN TERAPIA

L'ampia ricerca nello sviluppo di MNs ha esteso l'applicazione di questi sistemi innovativi a molti campi, dall'immuno-biologia al trattamento di patologie croniche, fino all'applicazione dermatologica e cosmetica.

Sebbene i MNs siano stati proposti per la prima volta negli anni '70, la tecnologia per la realizzazione di aghi di dimensioni micrometriche non è stata ampiamente utilizzata fino a pochi decenni fa. Inizialmente limitate alla somministrazione di proteine, DNA e nell'ingegneria cellulare di laboratorio [118,119], poi, con il progredire della sperimentazione hanno attirato un'ampia attenzione nel campo della medicina per la loro versatilità e non-invasività di applicazione.

3.1 TRATTAMENTO DELL'OSTEOARTRITE E DELL'OSTEOPOROSI

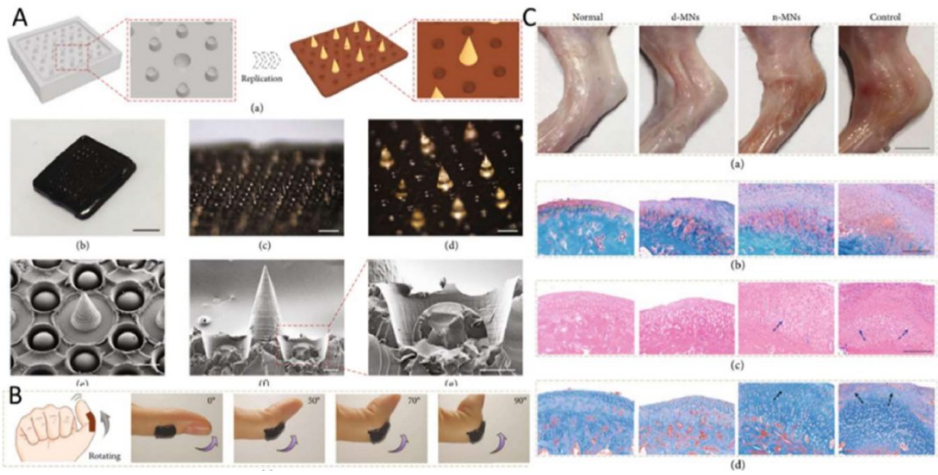
L'osteoartrite (OA) è una patologia cronica e degenerativa delle articolazioni, che colpisce più di 250 milioni di persone in tutto il mondo [120]. È la forma più comune di artrite ed è una delle principali cause di disabilità. Il sintomo principale dell'artrite è il dolore, accompagnato, nelle fasi più avanzate del processo degenerativo, da deformità e rigidità articolari più o meno invalidanti.

L'OA, essendo una malattia cronica, richiede l'utilizzo di farmaci per un trattamento di lungo durata. Inoltre, proprio per la sua elevata incidenza sulla popolazione e per i sintomi ad essa associati, risulta necessario avere trattamenti specifici e non invasivi, con elevata flessibilità e per un lungo periodo [121]. Tuttavia, i metodi attualmente utilizzati per il trattamento dell'OA sono ancora limitati e mancano di metodi efficaci e risolutivi del processo degenerativo della malattia.

La somministrazione percutanea di MNs, in quanto via di somministrazione non invasiva, è un'alternativa interessante ed innovativa alla somministrazione parenterale. L'uso dei MNs offre diversi vantaggi potenziali per il trattamento dell'OA, tra cui evitare il metabolismo epatico, la riduzione delle gravi reazioni avverse dei farmaci orali al tratto gastrointestinale, l'ottenimento di un rilascio di farmaco a lungo termine e la facilità di interrompere la somministrazione del farmaco in caso di tossicità.

È stato riscontrato che i MNs caricati con glucocorticoidi sono stati utilizzati per trattare l'osteoartrite del ginocchio nei ratti, e lo studio ha rivelato che il grado di gonfiore e infiammazione nelle articolazioni dei ratti è stato notevolmente ridotto (come mostrato in Figura 8) [122].

Figura 8: MNs caricati con glucocorticoidi utilizzati per trattare l'osteoartrite del ginocchio nei ratti [122].



In un'altra indagine, Amodwala et al. hanno dimostrato l'utilità di PVA e PVP a basso peso molecolare (rapporto 9:1 w/w) nella somministrazione di meloxicam, con una buona resistenza all'ago e un buon profilo di dissoluzione. Il micro-ago utilizzato è stato in grado di rilasciare quasi il 100% di meloxicam in 60 minuti con una cinetica di dissoluzione controllata. Ciò ha dimostrato una maggiore deposizione del farmaco all'interno della pelle con un flusso transdermico migliore, rispetto alla soluzione di farmaco semplice. Questo *microneedle transdermal patch* ha presentato vantaggi di un farmaco a rilascio rapido (91,72% entro 30 minuti), un'efficace somministrazione cutanea (79,18%), nessuna irritazione cutanea evidente, una buona biodisponibilità (122,3%), forti effetti antinfiammatori e analgesici.

Un altro ricercatore è intervenuto per la fabbricazione di MNs a base di acido ialuronico con alendronato per l'osteoporosi. L'alendronato ha una scarsa biodisponibilità orale a causa della sua idrofilia e dell'elevata polarità e spesso porta a reazioni avverse in seguito alla somministrazione orale. Pertanto, è risultato necessario indagare su un approccio alternativo per veicolare l'alendronato. Secondo lo studio, tre quarti dei MNs sviluppati si sono dissolti in 30 minuti, facilitando un assorbimento del farmaco paragonabile a quello dell'iniezione SC. Le misurazioni della TEWL hanno suggerito una rapida guarigione delle perforazioni cutanee entro 24 ore. Gli studi sulla sicurezza hanno evidenziato che l'irritazione cutanea si è risolta entro 15 giorni dopo 24 ore continuative di applicazione del cerotto [123].

Un altro studio, condotto da Naito et al., ha portato alla veicolazione dell'ormone paratiroideo umano (PTH) mediante *dissolving MNs HA* per il trattamento dell'osteoporosi. La formulazione era sicura grazie alla natura biocompatibile dell'HA, fondamentale per veicolare il PTH alle ossa attraverso la pelle. I micro-aghi ottenuti con questa tecnica hanno mostrato una resistenza meccanica sufficiente a penetrare nella pelle anche dopo aver caricato la dose clinica di PTH. Si è osservato che il PTH è stabile nei MNs rispetto alla sua controparte in soluzione per somministrazione SC. Questi MN potevano formare pori profondi 150 μm per raggiungere lo strato del derma. Lo studio ha dimostrato un aumento della rigenerazione ossea se somministrato due volte alla settimana [124].

La somministrazione transdermica di farmaci attraverso l'utilizzo di MNs ha portato a risolvere i problemi legati all'utilizzo orale di alcuni farmaci e alla scarsa compliance dei pazienti. Tuttavia, attualmente, pochi MNs sono stati segnalati per il trattamento dell'osteoartrite e dell'osteoporosi, e molti sono ancora in via di sperimentazione.

3.2 SOMMINISTRAZIONE DI PEPTIDI

I peptidi vengono degradati enzimaticamente quando somministrati per via orale. La somministrazione transdermica evita questo problema, ma una quantità minore di peptidi è in grado di attraversare la pelle. La somministrazione di peptidi attraverso i *microneedles* può aiutare a superare la scarsa permeazione cutanea dei peptidi.

È stato studiato l'uso di *microneedle transdermal patches* per la somministrazione di ciclosporina A, ed ha dimostrato che questo approccio risulta essere sicuro e più efficiente rispetto ad altre vie. La ciclosporina A è un peptide ciclico insolubile in acqua e ad alto peso molecolare, utilizzato per il trattamento di varie patologie cutanee. Sono stati preparati *dissolving MNs* contenenti ciclosporina A con micro-aghi di dimensioni di 600 μm di lunghezza e 250 μm di larghezza. I *microneedles* fabbricati con il 10% di ciclosporina A sono stati applicati sulla pelle di maiale per 60 minuti ed hanno mostrato una dissoluzione di circa il 65% del *microneedle* con un efficacie rilascio di farmaco [125].

3.3 CONTRACCEZIONE

L'applicazione della tecnologia dei *microneedle transdermal patches* si è recentemente estesa al campo della contraccezione.

Per aumentare la contraccezione a lungo termine, è stato sviluppato un cerotto a lunga durata d'azione, di facile applicazione e indolore. Il cerotto è stato formulato come un

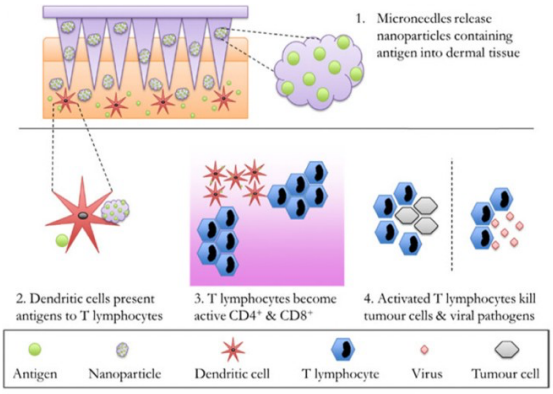
dissolving MNs costituito da un polimero biodegradabile PLGA caricato con l'ormone contraccettivo levonorgestrel. È stato dimostrato che il cerotto è in grado di rilasicare levonorgestrel per una durata di circa 1 mese e con una singola applicazione, a seguito di lenta degradazione del polimero nel corpo, promuovendo un'efficacie contraccezione a lunga durata d'azione [126].

3.4 SOMMINISTRAZIONE DI VACCINI

Un vaccino è una preparazione biologica che fornisce un'immunità acquisita nei confronti di una particolare malattia. È costituito da microrganismi uccisi o vivi attenuati, oppure dalle loro tossine o da loro antigeni. Una volta somministrati, i vaccini simulano il primo contatto con l'agente infettivo evocando una risposta immunologica (immunità umorale e cellulare), simile a quella causata dall'infezione naturale, senza però causare la malattia e le sue complicanze. Il principio alla base di questo meccanismo è la memoria immunologica, cioè la capacità del sistema immunitario di ricordare quali microrganismi estranei sono già entrati in contatto con il nostro organismo in passato, e rispondere velocemente. Di solito, l'immunizzazione convenzionale viene effettuata principalmente mediante iniezioni sottocutanee, intradermiche, intramuscolari ed endovenose.

L'immunizzazione transdermica è un percorso alternativo ed innovativo che prevede l'applicazione locale, attraverso l'utilizzo di un cerotto transdermico, di antigeni e/o adiuvanti sulla superficie della pelle per indurre immunoreazioni sistemiche, fornendo una nuova idea di immunizzazione.

Figura 9: Rappresentazione schematica della penetrazione dei MNs attraverso gli starti cutanei rilasciando nanoparticelle che contengono antigeni [127].



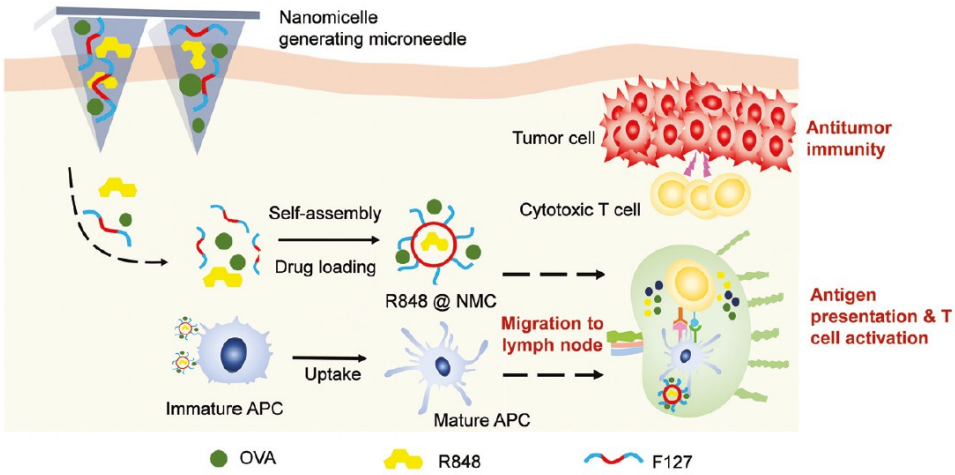
Offre inoltre un metodo indolore, non invasivo e conveniente per la gestione e la trasmissione dei reagenti, senza richiedere una catena del freddo per la conservazione e il trasporto e riducendo i rifiuti medici. Inoltre, può ridurre i danni e la diffusione di malattie infettive trasmesse dal sangue nei Paesi in via di sviluppo o nelle aree rurali prive di buone condizioni mediche e di gestione [128-129].

Nel 2015 è stato fatto un tentativo di sviluppare un *microneedle transdermal patch* che può essere utilizzato per la somministrazione del vaccino antinfluenzale [130]. L'utilizzo di *hollow microneedle* permette di caricare i micro-aghi con una dose minore rispetto alla dose necessaria per l'iniezione intramuscolare.

Ogai e colleghi hanno studiato recentemente la somministrazione di vaccino contro la rabbia utilizzando *hollow microneedles* in acido poliglicolico per migliorare l'efficacia della vaccinazione per via intradermica. Dopo la vaccinazione, la conta anticorpale è risultata significativamente più alta a seguito della vaccinazione intradermica con *microneedles* rispetto all'iniezione sottocutanea al 15° giorno.

Nel 2018 Kim et al. hanno sviluppato un *dissolving MNs* a base di copolimeri anfifilici in grado di generare micelle nanometriche al momento della loro dissoluzione dopo somministrazione transdermica, aumentando il carico e il trasporto del farmaco; i risultati hanno dimostrato che con questo approccio è stato possibile indurre un livello significativo di risposta immunitaria antigene-specifica (Fig. 10) [131].

Figura 10: [131].



Soprattutto, i risultati indicano che l'utilizzo di MNs combinati con NPs è promettente e i vaccini legati ai MNs sono attualmente in varie fasi di sperimentazione clinica.

3.5 TRATTAMENTO DEL DIABETE

Il diabete mellito è una malattia metabolica cronica caratterizzata da un elevato accumulo di glucosio nel sangue, determinato da scarsa o insufficiente risposta all'insulina. Attualmente è uno dei problemi sanitari più significativi a livello globale.

L'insulina è un ormone naturale secreto dalle isole pancreatiche nel pancreas per abbassare i livelli elevati di zucchero nel sangue. Le iniezioni di insulina a lungo termine sono spesso necessarie per i diabetici, sia di tipo 1 (che non sono in grado di produrre insulina da soli) sia di tipo 2 (che hanno ridotta sensibilità all'insulina). Tuttavia, è difficile controllare la glicemia con l'insulina. Quando la dose è sbagliata, può esserci il rischio di ipoglicemia, che nei casi più gravi può portare a convulsioni, coma e persino alla morte. Di conseguenza, i diabetici devono monitorare costantemente i livelli di zucchero nel sangue durante l'assunzione di insulina [132]. Le nanovescicole integrate in *microneedle treansdermal patches* per la somministrazione transdermica di insulina possono essere di grande importanza per il trattamento del diabete insulino-dipendente [133].

Ad esempio, Zhu et al. hanno sviluppato *dissolving MNs* a base di exenatide (EXT) per il trattamento del diabete mellito utilizzando acido ialuronico a bassissimo peso molecolare come materiale per la matrice, utilizzato per la sua elevata viscosità e bassa capacità di ritenzione idrica. L'utilizzo di HA ha contribuito a migliorare di 160 volte il tasso di dissoluzione e a ridurre il tempo di essiccazione. L'HA ha mostrato un'elevata capacità di assorbire acqua portando al rammollimento dei MNs una volta inseriti in ambiente umido, come possono essere gli strati sottocutanei. Questi *microneedle transdermal patches* vengono confezionati con imballaggi resistenti all'acqua, in modo da mantenere intatta la loro capacità di inserimento [134].

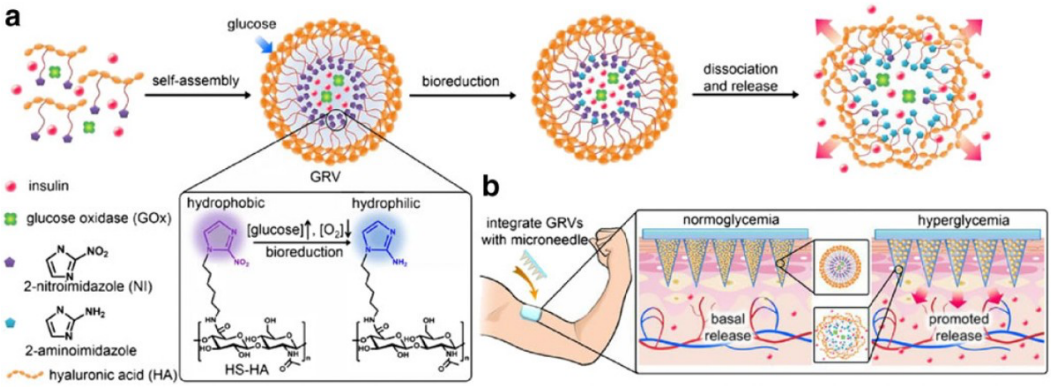
Nel 2015, il gruppo di ricerca di Zhen Gu ha presentato per la prima volta il concetto e il prototipo di "*Smart Insulin Patch"* con polimeri duali sensibili all'ipossia e all'H2O2 e reattivi al glucosio (d-GRPs) contenenti glucosio ossidasi (GOx), fenilboronico (PBA) e proteina legante il glucosio (GBP). L'idea di base è quella di combinare un preparato che risponde alla glicemia per rilasciare insulina con micro-aghi costituiti da un materiale polimerico (HA). È stato dimostrato che l'uso di MNs di dimensioni inferiori a 1 mm può ridurre il dolore causato dall'iniezione e migliorare la qualità di vita dei pazienti [135], senza causare infiammazioni cutanee anche durante l'uso a lungo termine.

Inoltre, nel 2017, Li et al hanno fabbricato *solid microneedles* e hanno studiato l'effetto sui livelli di glucosio nel sangue di topi diabetici dopo somministrazione di insulina. I risultati hanno dimostrato la riduzione del livello di glucosio nel sangue del 29% dal livello

iniziale a 5 ore, confermando la migliore permeabilità dell'insulina alla pelle grazie all'uso di *microneedles*.

Ye e collaboratori hanno, invece, studiato *microneedles* integrati con capsule di cellule β pancreatiche che rilevano i livelli di glucosio nel sangue e secernono insulina. Ma il cerotto non ha funzionato in modo efficace, in quanto non è stato dimostrata secrezione di insulina dalle capsule delle β-cellule tali da poter diminuire i livelli di glucosio ematici [136].

Figura 11: Rappresentazione schematica della formazione e del trasporto di insulina [137]



3.6 TERAPIA DEL DOLORE

Il dolore neuropatico è solitamente difficile da trattare e i trattamenti attualmente disponibili non sono in grado di fornire un sollievo sufficiente dal dolore e presentano alcuni effetti collaterali. Per il trattamento del dolore neuropatico sono stati studiati alcuni *dissolving microneedles.*

Per primi, alcuni ricercatori hanno studiato *microneedles* polimerici caricati con meloxicam. Gli studi di permeazione in vitro hanno mostrato un rilascio di farmaco del 100% in circa 60 minuti. La deposizione del farmaco è risultata del 63,37% e si è osservato un flusso transdermico nettamente migliore. La permeazione è aumentata di 2,58 volte rispetto alla soluzione libera di farmaco [138].

Altri ricercatori, invece, hanno veicolato un peptide antagonista selettivo del gene della calcitonina (CGRP) e hanno mostrato un'elevata specificità nei confronti dei recettori. Il cerotto analgesico a micro-aghi non ha mostrato irritazioni cutanee né effetti collaterali. Circa il 75% dei *microneedles* si è dissolto entro 20 minuti dall'applicazione [139].

L'efficace somministrazione di terapie attraverso questi sistemi innovativi ha aperto enormi opportunità alle industrie per la gestione del dolore.

- APPLICAZIONE DEI MICRONEEDLES IN DETRMATOLOGIA

L'invenzione di sistemi di rilascio di farmaci tramite *microneedle*s rappresenta una via interessante per il trattamento di patologie dermatologiche. Sebbene negli anni siano stati compiuti notevoli progressi nell'ambito dell'applicazione transdermica di *microneedles* per la somministrazione sistemica di farmaci attraverso la pelle, è solo di recente che si registra un crescente interesse per l'utilizzo di *microneedles* per il trattamento di patologie dermatologiche [140].

Esiste ad oggi un numero considerevole di prove su come le condizioni dermatologiche possano portare a problemi psicologici e ad una ridotta qualità della vita [141]. L'utilizzo di *microneedles transdermal patches* per la gestione e il trattamento delle patologie cutanee è di grande valore terapeutico e commerciale, in quanto i *microneedles* offrono un'opportunità unica per la somministrazione specifica e precisa di farmaci nella regione dermica prescelta, perforando lo strato corneo e creando centinaia di microcanali reversibili con un danno tissutale minimo, in quanto i dispositivi penetrano solo nell'epidermide non innervata [142]. Inoltre, vengono ridotti al minimo gli effetti collaterali sistemici indesiderati e migliorano la compliance del paziente.

Da un punto di vista industriale, l'alta prevalenza di patologie dermatologiche suggerisce che esiste un ampio mercato e una rilevante domanda per questo sistema innovativo di somministrazione di farmaci.

In questo capitolo viene esaminato l'emergere di MN versatili per la somministrazione transdermica di vari farmaci, concentrandosi in particolare sull'applicazione di MN per il trattamento di diverse malattie della pelle, tra cui cancro della pelle, cicatrici, psoriasi, herpes, acne e alopecia.

4.1 TRATTAMENTO DI MELANOMI

Il cancro della pelle è la neoplasia più comune nell'uomo.

I fattori di rischio che predispongono un individuo ai tumori della pelle includono la genetica [143], l'esposizione alla luce solare [144], l'immunosoppressione [145], l'infezione da papilloma virus umano [146], la terapia con farmaci fotosensibilizzanti [147] e il fumo di tabacco [148].

La somministrazione topica è stata applicata come potenziale via per la terapia superficiale del cancro.

I MNs sono stati impiegati per veicolare farmaci antitumorali in chemioterapia, nonché agenti per la terapia fotodinamica (PDT) e la terapia fototermica (PTT), in siti tumorali cutanei in modo minimamente invasivo e con una migliore efficacia terapeutica. Sia i trattamenti tradizionali (chemioterapia, radioterapia e fototerapia) che quelli più recenti (immunoterapia) per i tumori superficiali presentano ancora diverse limitazioni, in quanto si sono verificate gravi reazioni avverse causate dalla distribuzione non specifica degli agenti terapeutici e un elevato rischio di recidiva del tumore [149,150].Come strategia di trattamento tradizionale, la chemioterapia post-operatoria è stata ampiamente utilizzata per la maggior parte dei pazienti oncologici.

Attualmente, gli agenti chemioterapici utilizzati per il trattamento dei tumori superficiali, tra cui doxorubicina, docetaxel, cisplatino e oxaliplatino, sono generalmente somministrati per via endovenosa [151,152]. Tuttavia, la maggior parte di questi farmaci è soggetta a resistenza e causa una serie di reazioni avverse, come la soppressione del midollo osseo, neurotossicità e nefrotossicità. La comparsa dei MNs fornisce un approccio conveniente e non-invasivo per la somministrazione topica di farmaci per il trattamento dei tumori superficiali. In generale, i MNs possono non solo migliorare la distribuzione del farmaco nel sito localizzato, ma anche alleviare gli effetti di tossicità sistemica.

La ricerca sull'utilizzo di *microneedles* per la somministrazione di farmaci per il trattamento dei tumori della pelle è stata pionieristicamente avviata da Donnelly et al. nel 2008, i quali hanno introdotto per la prima volta *solid microneedles* in silicio per migliorare la penetrazione transdermica dell'acido aminolaevulinico (ALA) nella terapia fotodinamica (PDT), trattamento locale fotosensibilizzante più ampiamente utilizzato nel trattamento di tumori superficiali.Questo è stato il primo studio a dimostrare che i *microneedles* hanno la capacità di potenziare la somministrazione locale di un agente fotosensibilizzante. Questo dispositivo è stato in grado di somministrare direttamente l'ALA nel sito tumorale per eliminare efficacemente i tumori e migliorarne la stabilità a lungo termine, evitando recidive [153]. Inoltre, questa strategia ha mostrato anche un tempo di applicazione ridotto e una riduzione della dose di ALA necessaria per suscitare un alto livello di fotosensibilizzante nelle lesioni cutanee mirate [154].

In seguito a questi studi, vari gruppi di ricercatori hanno esplorato diversi design di *microneedles* per veicolare una serie di farmaci antitumorali sulla pelle. Studi recenti hanno dimostrato che gli antigeni tumorali, soprattutto quelli specifici per il tumore, che possono indurre l'espansione delle cellule T specifiche per il tumore e il danno alle cellule tumorali, sono una componente importante dei vaccini antitumorali [155-157].

Sfruttando la naturale struttura fisiologica della pelle, i ricercatori hanno sviluppato una serie di MNs versatili per l'immunoterapia superficiale dei tumori.

Uno studio esemplare è stato riportato da Zaric e collaboratori [158], i quali hanno sviluppato un *dissolving microneedle transdermal patch* caricato con ovalbumina (OVA, antigene modello) per colpire le cellule dendritiche (DC) residenti nella pelle. Una volta inserite nella pelle, le nanoparticelle di OVA hanno suscitato risposte immunitarie antigene-specifiche più elevate e hanno portato ad una crescita tumorale più lenta rispetto alle iniezioni endovenose e sottocutanee. Le DC hanno indotto una significativa proliferazione di cellule T specifiche per l'OVA contro i tumori di melanoma B16 sovraesposti all'OVA.Invece, i lisati tumorali sono stati utilizzati come antigeni ad ampio spettro per attivare il sistema immunitario.

Ye et al. hanno sviluppato un sistema MNs caricato con lisato tumorale intero B16F10 per l'immunoterapia del cancro [159]. In generale, negli aghi erano distribuite cellule tumorali B16F10 contenenti melanina e il fattore di stimolazione delle colonie di granulociti-macrofagi (adiuvante). Al momento dell'inserimento nella pelle, l'adiuvante ha reclutato e attivato le DC, promuovendo successivamente la cattura degli antigeni tumorali rilasciati dalle MN. I risultati in vivo hanno dimostrato che questo *patch MN* responsivo ai NIR può migliorare significativamente l'infiltrazione delle cellule T e indurre effetti antitumorali efficaci contro i tumori cutanei.

Nel recentissimo 2020, Chen et al. hanno riportato uno studio esemplare sviluppando una struttura *core-shell* che dissolve i MN per suscitare una robusta risposta immunitaria [160]. In questo approccio, le nanoparticelle caricate con fotosensibilizzante (verde indocianina) sono state distribuite principalmente sul rivestimento dei MNs, mentre l'inibitore dell'indoleamina 2,3-diossigenasi (IDO) è stato caricato in un gel polimerico reticolato come componente centrale all'interno dei micro-aghi. Grazie alla distribuzione diretta del carico nel tessuto tumorale, le nanoparticelle caricate con fotosensibilizzanti rilasciate hanno convertito la luce NIR in calore per abbattere i tumori primari al momento dell'esposizione NIR.

Successivamente, abbondanti antigeni associati al tumore sono stati rilasciati dalle cellule tumorali per promuovere la maturazione delle DC e la secrezione di citochine. Gli inibitori dell'IDO hanno ulteriormente alleviato l'immunosoppressione all'interno del microambiente tumorale, inducendo infine una robusta risposta immunitaria contro i tumori primari e già metastatizzati [160].

Recentemente, è stato proposto che la somministrazione di agenti antitumorali nei tumori cutanei superficiali attraverso *dissolving microneedles* possano essere più efficaci rispetto ai vettori nanosimili, in quanto le strutture in microscala dei *microneedles* consentono di trattenere a lungo i chemioterapici nei siti tumorali [161].

Tuttavia, vale la pena sottolineare che, a causa della natura metastatica dei tumori cutanei, i *microneedles* potrebbero non essere una terapia intradermica autonoma adatta, a meno che non vengano utilizzati per la somministrazione transdermica di agenti antineoplastici per la gestione sistemica del tumore. In questo caso, il trattamento a base di *microneedle* per il melanoma dovrebbe essere utilizzato come coadiuvante del piano di cura standard per il melanoma.

Pertanto, se la ricerca sull'utilizzo dei *microneedles* per il trattamento del melanoma dovesse continuare, i ricercatori del settore dovrebbero essere consapevoli della natura sistemica della malattia e valutare come i *microneedles* possano essere utilizzati per trattare i melanomi che hanno invaso altre sedi del corpo. Se questa strategia si rivelasse inefficace, la ricerca sulla terapia dei tumori cutanei basata sui *microneedles* dovrebbe concentrarsi su tumori più localizzati, come il BCC o alcune varianti di SCC.

4.2 TRATTAMENTO DELL'ACNE

L'acne vulgaris è un tipo di malattia cronica della pelle a carattere ricorrente che colpisce più dell'80% della popolazione mondiale. L'acne è solitamente associata ad un aumento della produzione di sebo, all'ostruzione dei dotti sebacei del follicolo pilifero, all'infiammazione e alla colonizzazione del Propionibacterium acnes (P. acnes) nel follicolo pilifero, che influisce sulla fisiologia e sulla psicologia dei pazienti [162-166].

Studi precedenti hanno dimostrato che l'acido retinoico orale può ridurre efficacemente la secrezione di sebo e ha un effetto positivo sul trattamento dell'acne. Tuttavia, l'applicazione clinica dell'acido retinoico è limitata a causa dei suoi effetti collaterali teratogeni [167,168].

Attualmente, per il trattamento dell'acne e il ringiovanimento cutaneo sono stati sviluppati micro-aghi a radiofrequenza frazionata (FRM) come dispositivi minimamente invasivi. Questi dispositivi possono indurre un rimodellamento dermico a lungo termine nel derma reticolare, compresa la neoelasticizzazione e la formazione di neocollagene [169-171], senza gli effetti collaterali dell'acido retinoico.

Lee et al. hanno valutato l'efficacia terapeutica del dispositivo FRM in alcuni pazienti asiatici affetti da acne vulgaris, dimostrando che l'FRM aveva un evidente effetto inibitorio sulla secrezione di sebo nei pazienti affetti da acne vulgaris. Per migliorare la penetrazione transdermica dei farmaci e l'efficacia del trattamento, Zhang et al. hanno preparato un *microneedle transdermal patch* reattivo ai ROS carico di farmaco utilizzando una matrice di alcol polivinilico, in grado di realizzare il rilascio di farmaci su richiesta e di ridurre gli effetti collaterali [172].

Inoltre, è stato studiato anche un cerotto a base di acido ialuronico e diatomite con un'elevata capacità di adsorbimento fisico per assorbire pus e frammenti di cellule morte, a vantaggio della guarigione della pelle; questo sistema era anche in grado di ridurre efficacemente il gonfiore della pelle e inibire la crescita batterica.

Rispetto alla crema antiacne comunemente usata, il sistema MN potrebbe promuovere in modo significativo la penetrazione transdermica del farmaco, migliorando così l'efficacia del trattamento delle lesioni cutanee.

4.3 TRATTAMENTO DELLE CICATRICI

"Cicatrice" è un termine collettivo che indica la morfologia, l'aspetto e i cambiamenti istopatologici del normale tessuto cutaneo causati da diversi traumi. È un prodotto inevitabile del processo di guarigione delle ferite umane e porta diversi gradi di dolore fisico e mentale ai pazienti, in particolare le cicatrici lasciate dopo ustioni, scottature e traumi gravi.

Per trattare le cicatrici da acne sono state utilizzate diverse tecniche, tra cui l'incisione sottocutanea, la perforazione e la microdermoabrasione [173]. Attualmente, i MN sono emersi come strategia alternativa per il trattamento delle cicatrici da acne. Sharad et al. hanno combinato *solid MNs* in acciaio inossidabile con peeling all'acido glicolico (GA) per trattare le cicatrici da acne [174]. I risultati hanno dimostrato che il trattamento con MNs combinato con il peeling di GA può migliorare significativamente le cicatrici da acne.

I MNs sono anche utilizzati clinicamente per trattare i cheloidi, una tipica cicatrice patologica fibrotica, utilizzando corticosteroidi per iniezione intralesionale. Questo tipo di trattamento comporta solitamente una distribuzione non uniforme del farmaco e può causare effetti collaterali, tra cui atrofia cutanea, calcificazione o rottura nel sito di iniezione e vasodilatazione; inoltre, l'effetto terapeutico dipende in larga misura dall'esperienza e dall'abilità dei medici professionisti [175-178].

Per risolvere questi problemi, Tan et al. hanno valutato l'uso di *dissolving MNs* contenenti triamcinolone acetonide (TA) per trattare i cheloidi [179]. In questo studio sono stati selezionati due cheloidi per soggetto, uno dei quali è stato trattato con *dissolving MNs* con TA per 4 settimane consecutive e l'altro è stato usato come controllo. I risultati dello scanner 3D ad alta risoluzione hanno mostrato che i cheloidi nel gruppo di MNs a dissoluzione erano significativamente ridotti rispetto al gruppo di controllo.

4.4 TRATTAMENTO DELL'HERPES

Il virus dell'herpes invade principalmente le membrane mucose, la pelle e i tessuti nervosi. L'aciclovir è ampiamente utilizzato per trattare l'herpes simplex di tipo 1 (HSV-1). Per superare il limite della scarsa penetrazione cutanea e veicolare l'aciclovir nell'epidermide basale della pelle, dove l'HSV-1 è comunemente localizzato, Yan et al. hanno valutato la capacità di penetrazione di *solid MNs* in silicio con aghi di diversa lunghezza e densità [180]. L'aciclovir è stato utilizzato come farmaco modello per monitorare il flusso attraverso la pelle umana dopo il pretrattamento con MNs. I risultati hanno rivelato che i MNs con aghi di lunghezza maggiore (> 600 μm) erano più efficaci nell'aumentare il flusso di aciclovir. Inoltre, i MNs con una densità inferiore (<2000 aghi/cm2) erano più favorevoli al flusso del farmaco.

In un'ulteriore ricerca, Pamornpathomkul et al. hanno preparato dissolving MNs caricati con aciclovir e hanno valutato la capacità di questo sistema di migliorare la somministrazione locale di aciclovir [181]. L'uso di MNs in vivo su pelle di maiale ha mostrato una sufficiente resistenza meccanica e gli aghi si sono dissolti completamente nella pelle entro 2 ore. I test di penetrazione cutanea in vitro hanno dimostrato che la quantità di penetrazione dei MNs caricati con aciclovir era circa 45 volte superiore a quella della crema commerciale (Lipsore®). Gli studi in vivo hanno inoltre dimostrato che la somministrazione intradermica di aciclovir è risultata efficacie entro 48 ore utilizzando MNs caricati con aciclovir, con una quantità di farmaco trattenuto nella pelle molto più elevata rispetto alla formulazione in crema.

4.5 TRATTAMENTO DELL'ALOPECIA

L'alopecia è una malattia comune nell'uomo e può essere causata da vari fattori, come l'età, le malattie, gli ormoni e i farmaci [182].

Kim e colleghi hanno valutato l'influenza sulla stimolazione della crescita di capelli dopo ripetuti trattamenti con MNs [183]. In questo studio, i topi modello sono stati trattati con un rullo di MNs a disco e si è osservata la crescita dei peli. I risultati hanno mostrato che ripetute stimolazioni attraverso l'utilizzo di MNs non solo hanno promosso la crescita dei peli sul topo, ma hanno anche migliorato l'espressione dei geni correlati alla crescita dei capelli.

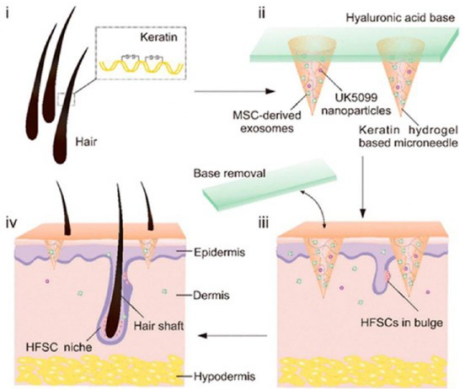
In un altro studio, Bao e collaboratori hanno esplorato l'effetto terapeutico di MNs elettrici combinati con minoxidil al 5% sull'alopecia androgenetica [184].

I soggetti sono stati suddivisi casualmente in tre gruppi ed hanno ricevuto un trattamento locale con minoxidil al 5%, un trattamento locale con MNs elettrici e un trattamento locale con MNs elettrici combinati con minoxidil al 5%. I risultati hanno mostrato che il gruppo di trattamento con MNs più minoxidil al 5% ha mostrato il miglior effetto di crescita dei capelli. Questo perché il pretrattamento con MNs elettrici ha aumentato l'assorbimento transdermico del minoxidil e ha stimolato ulteriormente la crescita dei capelli. Tuttavia, esistono alcuni problemi nell'applicazione pratica di questi processi, come il costo della procedura e la sua elevata invasività.

Recentemente Yang et al. hanno descritto un *microneedle transdermal patch* caricato di attivatori di cellule staminali del follicolo pilifero, tra cui il piccolo agente molecolare UK5099 e derivati di cellule staminali mesenchimali (MSC), per la terapia dell'alopecia.

Gli aghi erano costituiti principalmente da cheratina derivata dai capelli, supportata da una base di acido ialuronico. Lo studio ha riportato che i MNs sono stati in grado di veicolare il carico direttamente e continuamente alle cellule staminali del follicolo pilifero per indurre la rigenerazione del follicolo, con i vantaggi della non invasività e di una migliore efficienza di penetrazione cutanea.

Figura 12: Rappresentazione dell'azione di *MNs patch* per il trattamento di alopecia [185]



4.6 TRATTAMENTO DELLA DERMATITE ATOPICA

Descritta come un'eruzione eczematosa, la dermatite atopica è un disturbo cutaneo infiammatorio cronico, la quale tende ad avere un esordio precoce nella vita, con periodi di esacerbazione e remissione. I sintomi principali della dermatite sono prurito, xerosi, ittiosi e, in alcuni casi, cheilite. La malattia tende ad essere più comune nella popolazione pediatrica e ha un grave effetto sulla qualità di vita dei pazienti e può causare disturbi del sonno, interruzione dei piani sociali e impatto sulle relazioni personali [186]. Viene tipicamente trattata con corticosteroidi topici per ridurre l'infiammazione cutanea. Tuttavia, l'uso di corticosteroidi topici è associato ad effetti avversi come atrofia cutanea, teleangectasie e strie. L'uso cronico di steroidi topici nella gestione della dermatite atopica comporta anche il potenziale problema della tachifilassi (progressiva diminuzione dell'efficacia con l'uso continuato). La risposta è solitamente quella di aumentare la potenza degli steroidi topici applicati, aumentando il rischio di effetti avversi [187].

Sebbene le attuali opzioni terapeutiche per la gestione della dermatite atopica siano, nella maggior parte dei casi, efficaci, gli effetti collaterali associati alla terapia, possono determinare una scarsa compliance del paziente e, in ultima analisi, il fallimento terapeutico. Pertanto, sono stati compiuti notevoli sforzi per trovare alternative terapeutiche per gestire e trattare la dermatite atopica.

I flavonoidi vegetali, come la quercetina [188], la crisantemina [189], l'acido tannico [190,191], la naringenina [192] e il resveratrolo [193], sono recentemente emersi come una potenziale classe di farmaci per la gestione della dermatite atopica. Queste molecole possiedono proprietà antiossidanti, antiallergiche e antinfiammatorie che potrebbero apportare un significativo beneficio terapeutico nella gestione della dermatite atopica. Tuttavia, nonostante il loro potenziale terapeutico nella dermatite atopica, queste molecole hanno una scarsa solubilità acquosa e un rapido metabolismo di primo passaggio quando vengono somministrate per via orale. Pertanto, l'utilizzo di *microneedles* per migliorare la somministrazione dei flavonoidi all'epidermide, che è il principale sito d'azione, sarebbe di grande valore.

Paleco et al. hanno esplorato il potenziale di tale strategia distribuendo microparticelle lipidiche (LM) caricate con quercetina su pelle di maiale perforata da *microneedles*. Hanno dunque osservato un aumento della permeazione della quercetina attraverso lo strato corneo e una sua localizzazione nell'epidermide [194]. Ad oggi, lo studio di Paleco et al è l'unico che ha tentato di esplorare l'uso dei micro-aghi nel trattamento della dermatite atopica.

Il limitato interesse in quest'area può essere attribuito al fatto che i pazienti con dermatite soffrono già di una ridotta funzione di barriera cutanea. L'applicazione di *microneedles* su

questa pelle può portare ad un rischio ancora maggiore di penetrazione microbica, che non si osserva nella pelle sana [195].

4.7 TRATTAMENTO DELLE INFEZIONI DELLA PELLE E DEI TESSUTI MOLLI

Le infezioni della pelle e dei tessuti molli (SSTI) sono causate dall'invasione microbica nella pelle e nei tessuti sottostanti. Le SSTI più comuni si manifestano in varie forme che vanno da lievi infezioni superficiali localizzate a gravi infezioni dei tessuti profondi che portano a sepsi e morte. Le SSTI colpiscono fino al 10% dei pazienti ospedalizzati [196]. L'eziologia delle SSTI può essere dovuta a batteri, virus, funghi e parassiti, con la prevalenza di infezioni batteriche [197,198]. In Europa, i microrganismi più frequentemente associati alle infezioni cutanee sono lo stafilococco e gli streptococchi β-emolitici [199]. In queste circostanze, gli antibiotici ad ampio spettro vengono prescritti empiricamente fino a quando non sono disponibili i risultati clinici per guidare il trattamento con antibiotici a spettro ristretto.

La gentamicina è un esempio di antibiotico ad ampio spettro utilizzato nella gestione di alcune infezioni cutanee come l'ecthyma gangrenosum e la follicolite [200]. Tuttavia, la natura idrofila del farmaco ne limita la permeazione attraverso la pelle per trattare le infezioni cutanee più profonde. Alla luce di questa limitazione, si ritiene che l'uso di micro-aghi possa favorire la somministrazione di gentamicina nella pelle.

Lo sviluppo di *microneedles* antimicrobici è nato inizialmente come tentativo di mitigare il rischio di infezione che può essere associato al movimento di microrganismi attraverso i microcanali dopo l'inserimento dei *microneedles*. Gittard et al. sono stati i primi a fabbricare *microneedles* antimicrobici a tale scopo nel 2010. Attraverso l'uso della fotopolimerizzazione a due fotoni, il gruppo ha generato *microneedles* antimicrobici contenenti gentamicina solfato. Questi nuovi dispositivi hanno dimostrato di rilasciare gentamicina e di inibire la crescita di Staphylococcus aureus quando sono stati valutati con un test di *agar plating* [201].

Inoltre, nel 2017 González-Vázquez et al. hanno fabbricato *dissolving microneedles* contenenti gentamicina. Lo studio ha dimostrato che il sistema di *microneedle* polimerici dissolvibili era in grado di rilasciare gentamicina all'interno e attraverso la pelle nel giro di 5 minuti [202]. Sebbene il sistema di micro-aghi sia stato concepito per il trattamento della sepsi, il design può essere ottimizzato e adattato al trattamento di infezioni cutanee più localizzate. A tal fine, la gentamicina risulta più adatta alle infezioni sistemiche [203], e dovrebbe essere sostituita da altri agenti antimicrobici più adatti nelle infezioni cutanee localizzate, come neomicina, mupirocina e polimixine [204].

Nel corso degli anni ci si è resi conto che i *microneedles* antimicrobici possono essere utilizzati per il trattamento delle SSTI. Alla luce di queste informazioni, Gittard et al. hanno fabbricato *solid microneedles* a base di acrilato rivestiti con film di argento o ossido di zinco. È stato infatti dimostrato che le SSTI (in particolare quelle causate da S. aureus meticillino-resistente (MRSA)) rispondono all'applicazione topica di argento nanocristallino [205] e ossido di zinco [206,207]. Questi micro-aghi rivestiti di ossido metallico hanno dimostrato una spiccata attività antimicrobica contro due ceppi batterici comuni frequentemente associati a infezioni cutanee, Staphylococcus epidermidis e Staphylococcus aureus [208].

È interessante notare che alcuni *microneedles* polimerici realizzati con un copolimero di anidride acida senza l'inclusione di alcun agente antimicrobico hanno mostrato un'attività antimicotica e antibatterica di per sé [209]. Tuttavia, quando tali copolimeri di anidride acida sono stati utilizzati come rivestimenti per *solid microneedles*, non hanno mostrato un'attività antimicrobica. Ciò è stato attribuito alla bassa quantità di copolimero di anidride acida presente sulla superficie del *microneedle* rispetto a quando i copolimeri sono utilizzati come materiale di base per fabbricare l'intero *microneedle*. Una quantità così bassa di polimero sulla superficie del MN è risultata inefficace nell'esercitare l'attività antimicrobica [210]. Ciò dimostra che un'attenta selezione del materiale utilizzato per la fabbricazione o il rivestimento del sistema di *microneedles* gioca un ruolo essenziale nell'effetto antimicrobico complessivo del sistema [211].

Questo promettente potenziale di utilizzo dei *microneedles* nel trattamento delle SSTI ha portato alla nascita di diversi brevetti per la somministrazione di agenti antimicrobici attraverso MNs [212,213]. Sulla base di questi risultati promettenti e se la ricerca futura nell'area continuerà a dimostrare l'utilità dei *microneedles* nelle SSTI, si prevede che i *microneedles* antimicrobici possano emergere come un promettente dispositivo biomedico per il trattamento delle infezioni cutanee. Tuttavia, è ancora necessario lavorare molto in questo campo.

4.8 TRATTAMENTO DI VERRUCHE

Le verruche sono proliferazioni epidermiche benigne causate da un'infezione da papillomavirus (HPV). Questa forma di proliferazione cutanea è ubiquitaria con una prevalenza del 7-12% nella popolazione generale [214]. Esistono vari sottotipi clinici di verruche: la verruca vulgaris è la più comune e spesso si manifesta sulle mani, le verruche plantari si presentano come placche ipercheratotiche sui piedi e le verruche genitali sono

normalmente trasmesse dal contatto sessuale. L'infezione si trasmette per semplice contatto o frequentemente attraverso lesioni cutanee, abrasioni o traumi [215].

Studi osservazionali hanno evidenziato che la maggior parte dei casi di verruche tendono ad autolimitarsi senza alcun trattamento, anche per un periodo fino a due anni [216]. Sebbene questa infezione cutanea possa essere considerata benigna, l'esito estetico di questa malattia può avere un impatto sulla fiducia in sè stessi e sulle relazioni con gli altri, evidenziando così la necessità di trattare questa condizione cutanea. Esiste una varietà di trattamenti per le verruche virali che possono essere utilizzati da soli o in combinazione.

I comuni preparati topici utilizzati nella gestione delle verruche virali includono l'acido salicilico, l'acido lattico, la podofillina e i preparati a base di 5-FU, che abbattono chimicamente le cellule epidermiche infette e migliorano l'epidermide ipercheratotica.
Sebbene l'eliminazione delle verruche attraverso l'applicazione topica nella maggior parte dei casi sia buona [217], diversi studi hanno dimostrato che la compliance dei pazienti a tale trattamento è scarsa, il che è attribuito all'irritazione locale, agli scarsi risultati cosmetici e alle difficoltà di trattamento [218,219].

Solo recentemente è emersa l'idea di utilizzare i *microneedles* per il trattamento delle verruche virali. Questa idea è stata esplorata per la prima volta da Konicke e Olasz i quali hanno studiato l'effetto della combinazione dell'uso di Dermapen® con la bleomicina topica in quattro pazienti con verruche plantari. I ricercatori hanno riportato un tasso di guarigione completa in tutti e quattro i casi clinici con un dolore minimo [220].

L'idea di fabbricare *microneedles* per il trattamento delle verruche è stata sperimentata da Lee et al., i quali hanno sviluppato un sistema di *coated microneedles* in acido polilattico (L-PLA) rivestiti di bleomicina. Il sistema di ha mostrato una forza meccanica sufficiente a perforare la pelle spessa, tipica delle lesioni da verruca. Questo studio dimostra che la bleomicina somministrata con *coated microneedles* fornisce una somministrazione dermica più localizzata del farmaco rispetto all'iniezione intralesionale convenzionale [221].

Sebbene le ricerche pubblicate sull'utilizzo dei *microneedles* per il trattamento delle verruche siano scarse, questi studi preliminari qui evidenziati mostrano il potenziale che la somministrazione di farmaci tramite *microneedles* può avere nel migliorare i risultati del trattamento dei pazienti [222].

4.9 TRATTAMENTO DELLA PSORIASI

La psoriasi è una malattia papulosquamosa cronica comune con una prevalenza dell'1-2% nella popolazione generale [223,224]. La malattia non è confinata solo alla pelle, ma può essere considerata una condizione sistemica che può presentarsi con segni che interessano anche le unghie e le articolazioni. La psoriasi si presenta comunemente come una placca squamosa su gomiti, ginocchia e sul cuoio capelluto con un grado variabile di prurito. Nonostante la sua prevalenza, l'eziologia della psoriasi è poco conosciuta e la predisposizione genetica e i fattori ambientali giocano un ruolo fondamentale nella patogenesi della malattia, e, inoltre, la maggior parte di esse è soppressiva o fornisce un sollievo sintomatico, ma nessuna è curativa [225,226].

È stato anche riferito che alcune di queste terapie topiche sono cosmeticamente inaccettabili e richiedono molto tempo per essere applicate, oltre a provocare effetti collaterali indesiderati come irritazione che limitano la compliance dei pazienti [227,228]. Le prescrizioni per la psoriasi sono guidate dalla terapia orale con metotrexato o ciclosporina; tuttavia, queste molecole vengono ampiamente metabolizzate nel fegato e danno luogo a metaboliti secondari dannosi. Questa condizione richiede un'attenzione adeguata da parte del dermatologo, altrimenti i pazienti potrebbero essere esposti a gravi danni epatici o renali. A seguito di questo problema, alcuni ricercatori hanno cercato di veicolare queste molecole per via transdermica, dove i MNs hanno mostrato un potenziale eccezionale.

Il metotrexato (MTX) è un farmaco di prima linea per il trattamento della psoriasi, ma la sua applicazione clinica è limitata da gravi effetti avversi come epatotossicità, nausea, vomito, anemia, trombocitopenia e soppressione del midollo osseo. Sono stati realizzati *microneedles transdermal patches* con diverse concentrazioni di metotrexato, in cui i micro-aghi sono stati preparati a partire da una soluzione acquosa contenente il farmaco seguita dall'aggiunta di una soluzione acquosa di HA. Questi MNs a base di HA hanno mostrato una buona resistenza dell'ago e il ripristino delle microlesioni create dall'inserimento dei MNs nella pelle non ha rappresentato un problema in questa situazione, in quanto la pelle è stata in grado di rigenerarsi velocemente. I risultati migliori sono stati osservati proprio grazie all'aggiunta del polimero idrosolubile HA, che ha portato a un elevato carico di farmaco e a un rilascio improvviso (circa il 52% nei primi 10 minuti) seguito da un lento rilascio. Il cerotto è stato in grado di perforare efficacemente sia la pelle normale che quella ispessita dalla verruca. Allo stesso tempo, non ha causato irritazioni cutanee dopo l'inserimento. Le punte dei MN si sono dissolte nel liquido interstiziale della pelle in vivo entro 10 minuti. L'attività terapeutica dei MNs caricati con metotrexato per

inibire la proliferazione dei cheratinociti è risultata intatta e paragonabile a quella data metotrexato per via orale. Rispetto alle compresse di metotrexato, la somministrazione assistita da MNs richiede una dose dimezzata per ottenere risposte simili, riducendo così la probabilità di effetti collaterali [229].

Negli ultimi anni, la terapia con anticorpi monoclonale anti-TNF-α ha dimostrato un ruolo efficace nella gestione della psoriasi. L'anticorpo monoclonale chimerico determina una rapida e significativa riduzione dell'infiammazione epidermica nelle lesioni psoriasiche attraverso la neutralizzazione del TNF- α transmembrana [230,231]. Korkmaz et al hanno esplorato l'applicazione di *dissolving microneedles* per la somministrazione localizzata di anti-TNF-α. I risultati hanno dimostrato che questo sistema di MNs può veicolare efficacemente l'anti-TNF-α Ab nel derma e ridurre significativamente i biomarcatori chiave della psoriasi in termini di spessore dell'epidermide.

A causa delle limitazioni delle attuali terapie per la psoriasi, vi è la necessità generale di esplorare nuovi composti che possano migliorare i risultati del trattamento per i pazienti. Sebbene il numero di studi che utilizzano i micro-aghi per il trattamento della psoriasi sia esiguo, i risultati di questi studi sono promettenti. La capacità dei *microneedles* di veicolare farmaci psoriasici nuovi e convenzionali sottoforma di cerotti micronizzati può essere interessante per i pazienti psoriasici. I pazienti hanno infatti riferito che le creme psoriasiche topiche convenzionali sono esteticamente inaccettabili, macchiano i vestiti ed emanano odori sgradevoli. Tuttavia, questo approccio può essere applicato solo a piccole placche localizzate, a differenza delle lesioni psoriasiche estese trattate con creme.

Inoltre, vale la pena sottolineare che i MNs per il trattamento della psoriasi devono essere più robusti dal punto di vista meccanico, a causa della natura ipercheratotica e acantoide della placca che può limitare la penetrazione dei MNs.

4.10 COSMETICA

Il ruolo dei MNs in cosmetologia è ormai consolidato e sta acquisendo importanza negli ultimi anni, soprattutto per migliorare l'aspetto della pelle e per trattare macchie e cicatrici cutanee. Un pretrattamento con *microneedles* seguito dall'applicazione di una preparazione topica (crema o siero) ha permesso di ottenere un miglioramento significativo nell'apporto di sostanze nutritive o nella guarigione della pelle, grazie alla formazione di micro-canali che permetto una più efficacie permeazione delle sostanze attive negli strati più profondi della pelle.

Ad esempio, il *microneedling* a radiofrequenza è considerato un metodo sicuro ed efficace per il ringiovanimento della pelle e il trattamento delle cicatrici da acne; questo metodo funziona erogando energia a radiofrequenza ad una temperatura preselezionata e ad una profondità stabilita, utilizzando micro-aghi a sonde ed ottenendo il rimodellamento dermico attraverso la neocollagenesi e la neoelastogenesi [232].

La natura versatile dell'acido ialuronico ha incoraggiato i ricercatori a lavorare per la sua applicabilità come materiale della matrice dei MNs. È un polisaccaride biocompatibile e biodegradabile con un'elevata solubilità in acqua. Grazie alla sua natura idrofila, l'HA può incapsulare diverse molecole idrosolubili; tuttavia, i farmaci lipofili vengono intrappolati all'interno di una nanoparticella (NP) e poi distribuiti uniformemente nella matrice idrofila dell'HA. L'acido ialuronico è compatibile con un'ampia gamma di composti, tra cui proteine, vitamine, DNA, farmaci idrofili, macromolecole, ecc.

I *microneedles* a base di HA hanno mostrato diversi vantaggi rispetto agli altri polimeri. Le vie di rilascio dei farmaci basate sui recettori, l'idratazione della pelle, le interazioni idrofobiche con lo strato corneo, le proprietà bioadesive e la natura viscoelastica sono alcune delle sue proprietà molto utili che sono state utilizzate con successo dai ricercatori nelle formulazioni per il rilascio di farmaci utilizzando la tecnologia dei *microneedles.*
Un innovativo *microneedle transdermal patch* contenente acido ialuronico combinato con nano-cellulosa batterica è disponibile per uso dermocosmetico. La nanocellulosa batterica è ampiamente utilizzata nelle maschere facciali grazie alla sua particolare struttura porosa e alla capacità di trattenere l'acqua. I vantaggi dell'acido ialuronico caricato in un MNs *patch* che comprendono il miglioramento della permeazione dei principi attivi, il rimpolpamento, la levigazione e il riempimento della pelle [233].

Avcil e i suoi collaboratori hanno sviluppato MNs a base di HA con adenosina e una miscela di proteine bioattive, le quali sono in grado di catalizzare la sintesi di elastina e collagene e aumentare la resistenza della pelle agli aggressori tossici.L'HA presente nella matrice ha favorito il ringiovanimento della pelle grazie alla sua capacità di trattenere l'acqua e alla sua natura viscoelastica. Il preparato non ha presentato interazioni o sensibilizzazioni cutanee gravi ed è stato ben tollerato anche se usato due volte alla settimana. Dopo 12 settimane di trattamento è stato osservato un aumento dell'idratazione cutanea di quasi 1,25 pieghe, mentre la profondità delle rughe è migliorata del 26%. A causa della presenza di collagene, elastina e tessuti connettivi, dopo 12 settimane di trattamento è stato percepito un aumento della densità nel derma, mentre l'epidermide non ha evidenziato cambiamenti degni di nota [234].

Successivamente, Xie et al. hanno progettato *dissolving MNs* caricati con bleomicina per il trattamento delle cicatrici ipertrofiche. La bleomicina ha una bassa permeabilità cutanea per raggiungere il derma, pertanto, i responsabili della veicolazione del farmaco al sito target devono essere i MNs, i quali sono ottenuti sciogliendo il farmaco e l'HA in acqua distillata per formare una soluzione polimerica. Questi MNs hanno una resistenza meccanica sufficiente per un inserimento efficiente della pelle, fino ad una profondità di 330 μm. Gli steli di MN si sono dissolti completamente entro 10 minuti. Dopo 5 minuti di inserimento del MN, l'eritema apparso si è risolto in un'ora e la pelle è tornata normale in un'ora. I MNs HA caricati con bleomicina hanno prodotto una maggiore attività inibitoria di hHSF e del fattore di crescita trasformante-beta (TGFβ1) rispetto alla bleomicina o al solo HA. L'efficacia del farmaco è rimasta intatta anche dopo 6 settimane di conservazione a temperatura ambiente [235].

Per le cicatrici ipertrofiche è stato sviluppato un *dissolving MNs* a base di triamcinolone acetonide (TA). L'aggiunta di HP-β-CD all'HA ha portato alla formazione di legami idrogeno intermolecolari per rafforzare i MNs, aumentando l'elasticità e la resistenza meccanica dei MNs. Il farmaco è stato disciolto in HP-β-CD e in diversi rapporti tra farmaco e HP-β-CD, disciolti in acqua agitando per 4 ore, quindi centrifugati. Il surnatante ottenuto è stato unito poi in diversi rapporti con HA per formare la soluzione dell'ago.

Il farmaco era confinato principalmente nelle punte e i MNs potevano raggiungere una profondità di 500 μm. Il micro-ago TA-MN è stato in grado di perforare lo strato corneo e di depositare una maggiore quantità di farmaco nell'area della cicatrice ipertrofica. Gli studi di Western Blotting hanno mostrato un'efficacia comparabile dei *dissolving MNs* caricati con TA rispetto a quella dell'iniezione convenzionale di TA per il trattamento delle cicatrici ipertrofiche.

Secondo il rapporto di Jang, i *dissolving MNs* con acido ialuronico ad alto peso molecolare incapsulato con adenosina (Ad-HMN) hanno migliorato le rughe della pelle, l'elasticità dermica e la densità. A causa delle diverse lunghezze, forme e peso molecolare del HA, questo cerotto ha mostrato una resistenza meccanica inferiore rispetto ai *dissolving microneedle transdermal patch* con acido ialuronico a basso peso molecolare incapsulato con adenosina (AdLMN). Tuttavia, Ad-HMN è penetrato con successo nella pelle di maiale e sono stati necessari 30 minuti per la completa dissoluzione. È stata osservata una graduale riduzione delle rughe entro 4 - 8 settimane dall'uso per entrambi i tipi di MN.

Una riduzione significativa della profondità media e della profondità massima delle rughe più grandi si è verificata dopo 4 - 8 settimane di entrambi i trattamenti, anche se Ad-HMN ha mostrato prestazioni migliori di Ad-LMN.

La densità dermica è aumentata in entrambi i gruppi, ma il miglioramento è stato significativamente maggiore nel gruppo Ad-HMN rispetto al gruppo Ad-LMN.
Ad-HMN ha mostrato prestazioni migliori nel migliorare l'elasticità della pelle, come osservato per altri parametri cutanei. Entrambe le formulazioni hanno mostrato un effetto terapeutico durante il periodo di somministrazione di 4 - 8 settimane, che si è ridotto gradualmente dopo l'interruzione del trattamento. Entrambi i MNs non hanno mostrato reazioni cutanee avverse e sono sicuri per l'applicazione cosmetica [236].

Tuttavia, il ristretto campo di utilizzo, la scala ridotta, l'uso di singoli prodotti e la forza debole delle ricerche sopra descritte potrebbero limitare lo sviluppo dei cosmeceutici. Con l'ulteriore espansione del mercato cosmetico, l'applicazione dei MN ha affrontato nuove sfide e opportunità, e l'industria cosmetica dei MN può raggiungere un rapido sviluppo e prospettive più ampie, grazie agli enormi vantaggi economici.

- CONCLUSIONI

I *microneedles* sono stati studiati in una varietà di applicazioni mediche che vanno dalla diagnostica alla somministrazione terapeutica e dalla pubblicazione del primo articolo sulla somministrazione transdermica di farmaci mediata da *microneedle* nel 1988, sono stati fatti molti progressi in questo campo

I *microneedles transdermal patches* creando microlesioni nella pelle, offrono un metodo sicuro ed efficace per la somministrazione transdermica dei farmaci grazie ai suoi vantaggi unici rispetto all'iniezione e alla somministrazione orale, come l'applicazione indolore, la minima invasività, la facilità di autosomministrazione e l'assenza dell'effetto di primo passaggio aprendo così nuove strade per la somministrazione di un'ampia gamma di farmaci terapeutici sia a livello locale che sistemico. Sebbene l'applicazione dei MNs sia generalmente considerata vantaggiosa, sono state sollevate alcune preoccupazioni e diverse limitazioni che ne ostacolano le applicazioni cliniche e la loro trasformazione produttiva.

I principali problemi associati all'uso a lungo termine dei MNs possono causare problemi alla pelle, come irritazione, arrossamento, secchezza e allergie.

In particolare, l'uso di MNs può formare microlesioni nella pelle, che possono fungere da porta d'ingresso per i microrganismi nel corpo, portando potenzialmente a infezioni batteriche e fungine, anche se in maniera significativamente ridotta rispetto alla puntura con ago ipodermico [237]. Con il continuo fiorire del settore, stiamo lentamente assistendo all'emergere di nuovi sistemi ibridi che racchiudono le proprietà di diverse classi di *microneedles* in una sola. Questa tendenza è attribuita alla necessità di superare le limitazioni associate a ciascun tipo di *microneedle*, adattando al contempo i requisiti per l'applicazione in patologie più complesse.

Sebbene vi siano sfide associate alla trasposizione dei *microneedles* nella pratica clinica, si stanno studiando nuove strategie di progettazione per superare questi limiti.

La progettazione funzionale dei sistemi di rilascio di farmaci per via transdermica utilizzando la tecnologia della nano-ingegneria potrebbe consentire di realizzare un controllo intelligente della quantità di rilascio del farmaco, della cinetica di rilascio o della somministrazione stimolo-responsiva. Il vantaggio principale dei nanomateriali è che possono essere progettati per funzioni specifiche e sono reattivi a microambienti specifici [238].

Da quando sono emersi come promettente tecnologia di rilascio dei farmaci, i MNs si sono sviluppati in un campo di ricerca ampio e in rapida crescita [239,240].

Nonostante l'impatto dei *microneedles* nella somministrazione transdermica, solo recentemente si è assistito ad un cambiamento verso l'utilizzo dei *microneedles* per il

trattamento di patologie dermatologiche e l'emergere dei MNs sta diventando una strategia promettente in dermatologia con risultati terapeutici soddisfacenti e stanno lentamente avendo un impatto sempre più concreto in questo campo; questa applicazione innovativa è stata dimostrata da una serie di studi che coinvolgono sistemi di *microneedles* progettati per la somministrazione di farmaci più localizzati per il trattamento delle malattie della pelle. Se i MNs avranno un impatto reale sul trattamento di gravi malattie della pelle, i medici dovranno farsi carico del peso di questa tecnica, in particolare i dermatologi, che dovranno comprenderla appieno.

Inoltre, le partnership di ricerca tra la specialità dermatologica, il mondo accademico e le industrie farmaceutiche sono essenziali per promuovere la ricerca sulle MN e per tradurla nella pratica dermatologica.Tuttavia, è evidente che alcune condizioni dermatologiche stanno ottenendo più attenzione di altre (come i tumori della pelle e le infezioni cutanee) a causa della gravità e della prevalenza della malattia.

Il rapido sviluppo delle nanotecnologie e della scienza dei materiali ha dato un grande impulso alla ricerca e all'innovazione dei MNs, fornendo nuove idee per il trattamento delle malattie e migliori possibilità di cura. Le nanotecnologie possono essere utilizzate per ingegnerizzare i biomateriali o i farmaci per integrare più funzioni in grado di ottenere una somministrazione intelligente di farmaci nel sito della lesione mirata.

La maggior parte dei MNs progettati per il trattamento sono ancora in fase di sviluppo, il che richiederà un impegno maggiore e una rigorosa supervisione. Una volta affrontati questi problemi, si prevede ottimisticamente che i MNs diventeranno un sostituto superiore agli attuali metodi di somministrazione.

BIBLIOGRAFIA

[1] H. Marwah, T. Garg, A.K Goyal, G. Rath, Permeation enhancer strategies in transdermal drug delivery, Drug Deliv. 23 (2) (2016) 564-578.

[2] D. Brambilla, P. Luciani, J.C. Leroux, Breakthrough discoveries in drug delivery technologies: the next 30 years, J. Control Rel. 190 (2014) 9-14.

[3] K. Moffatt, Y. Wang, T.R Raj Singh, R.F Donnelly, Microneedles for enhanced transdermal and intraocular drug delivery, Curr. Opin Pharmacol. 36 (2017) 14-21.

[4] J.D. Bos, M.M Meinardi, The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drug, Exp. Dermatol 9 (3) (2001) 165-169.

[5] Tuan-Mazlelaa Tuan-Mahmood, M.T.C. McCrudden, B.M. Torrisi, E. McAlister, M. J. Garland, T.R.R. Singh, R. F. Donnelly, Microneedles for intradermal and transdermal drug delivery, European Journal of Pharmaceutical Sciences 50 (2013) 623–637.

[6] Jepps OG, Dancik Y, Anissimov YG, Roberts MS. Modeling the human skin barrier — Towards a better understanding of dermal absorption. Adv Drug Deliv Rev. 2013;65(2):152–68

[7] Heisig M, Lieckfeldt R, Wittum G, Mazurkevich G, Lee G. Non steady-state descriptions of drug permeation through stratum corneum. I. The biphasic brick-and-mortar model. Pharm Res 1996;13:421–6.

[8] N. Akhtar, V. Singh, M. Yusuf, R.A. Khan, Non-invasive drug delivery technology: development and current status of transdermal drug delivery devices, techniques and biomedical application, Biomed. Eng.-Biomed. Tech. 2020; 65(3): 243–272

[9] Jackson EW. Toxicological aspects of percutaneous absorption. In: Zats JL, editor. Skin Permeation, Fundamentals and Application. Wheaton, IL, USA: Allured Publishing Corporation; 1993:177–92.

[10] Williams A. Transdermal and Topical Drug Delivery: From Theory to Clinical Practice. London: Pharmaceutical Press; 2003.

[11] Sun Y. Skin absorption enhancement by physical means: heat, ultrasound, and electricity. In: Gosh TK, Pfister WR, Yum SI, editors. Transdermal and Topical Drug Delivery Systems. Buffalo Grove, IL, USA: Interpharm Press; 1997:327–55.

[12] Naik A, Kalia YN, Guy RH. Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. Pharm Sci Technol Today 2000;3:318–26.

[13] Flynn GL. Mechanism of percutaneous absorption from physicochemical evidence. In: Bronaugh RL, Maibach HI, editors. Percutaneous Absorption: Mechanism-Methodology-Drug Delivery, 2nd ed. NY, USA: Marcel Dekker; 1989:27–51.

[14] Chan S, Po ALW. Prodrugs for dermal delivery. Int J Pharm 1989;55:1–16.

[15] Sloan K, Koch SA, Siver KG. Mannich base derivatives of theophylline and 5-fluorouracil: syntheses, properties and topical delivery characteristics. Int J Pharm 1984;21:251–64.

[16] Hadgraft J, Wolff M. Physicochemical and pharmacokinetic parameters affecting percutaneous absorption. In: Dermal and transdermal drug delivery: new insights and perspectives. Proceedings of the 2nd Int Symp Int Ass Pharm Tech, Frankfurt, Germany, 11–13 Nov. 1991. 264 N. Akhtar et al.: Non-invasive drug delivery technology

[17] Billich A, Vyplel H, Grassberger M, Schmook FP, Steck A, Stuetz A. Novel cyclosporin derivatives featuring enhanced skin penetration despite increased molecular weight. Bioorg Med Chem 2005;13:3157–67.

[18] A. Z. Alkilani, M. T. McCrudden and R. F. Donnelly, Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum, Pharmaceutics, 2015, 7(4), 438–470.

[19] C. Bellefroid, A. Lechanteur, B. Evrard and G. Piel, Lipid gene nanocarriers for the treatment of skin diseases: Current state-of-the-art, Eur. J. Pharm. Biopharm., 2019, 137, 95–111.

[20] M.S. Gastel, V.A. Place, Drug delivery device, US, 1976.

[21] P. Bora, L. Kumar, a. Bansel, Microneedle Technology for Advanced Drug Delivery: Evolving Vistas, (2008).

[22] N. Davies, H.E.C. Worthington, F. Podczeck, J.M. Newton, The determination of the mechanical strength of tablets of different shapes, Eur. J. Pharm. Biopharm. 67 (2007) 268–276.

[23] B.E. Cohen, N. Elbuluk, Microneedling in skin of color: A review of uses and efficacy, J. Am. Acad. Dermatol. 74 (2016) 348–355.

[24] M.R. Prausnitz, Microneedles for transdermal drug delivery, Adv. Drug Deliv. Rev. 56 (2004) 581–587.

[25] sonal influenza, Expert Rev. Vaccin. 9 (2010) 1399–1409.

[26] G. Icardi, A. Orsi, A. Ceravolo, F. Ansaldi, Current evidence on intradermal influenza vaccines administered by SoluviaTM licensed micro injection system, Hum. Vaccin. Immunother. 8 (2012) 67–75.

[27] F. Ansaldi, P. Durando, G. Icardi, Intradermal influenza vaccine and new devices: a promising chance for vaccine improvement, Expert Opin. Biol. Ther. 11 (2011) 415–427.

[28] S.J. Sullivan, R. Jacobson, G.A. Poland, Advances in the vaccination of the elderly against influenza: role of a high-dose vaccine, Expert Rev. Vaccin. 9 (2010) 1127–1133.

[29] N.L. Bragazzi, A. Orsi, F. Ansaldi, R. Gasparini, G. Icardi, Fluzone® intra-dermal (Intanza®/Istivac® Intra-dermal): An updated overview (2016).

[30] L. Sticchi, M. Alberti, C. Alicino, P. Crovari, The intradermal vaccination: past experiences and current perspectives, J. Prev. Med. Hyg. 51 (2010) 7–14 (accessed August 11, 2017).

[31] O. Olatunji, D.B. Das, M.J. Garland, L. Belaid, R.F. Donnelly, Influence of array interspacing on the force required for successful microneedle skin penetration: Theoretical and practical approaches, J. Pharm. Sci. 102 (4) (2013) 1209–1221.

[32] K. Cheung, T. Han, D.B. Das, Effect of force of microneedle insertion on the permeability of insulin in skin, J. Diabetes Sci. Technol. 8 (3) (2014) 444–452.

[33] M. Kaur, K.B. Ita, I.E. Popova, S.J. Parikh, D.A. Bair, Microneedle-assisted delivery of verapamil hydrochloride and amlodipine besylate, Eur. J. Pharm. Bio- pharm. 86 (2) (2014) 284–291.

[34] G. Ma, C. Wu, Microneedle, bio-microneedle and bio-inspired microneedle: a review, J. Control Rel. 251 (2017) 11–23.

[35] S.M. Bal, J. Caussin, S. Pavel, J.A. Bouwstra, In vivo assessment of safety of microneedle arrays in human skin, Eur. J. Pharm Sci. 35 (3) (2008) 193–202.

[36] J.C. Birchall, R. Clemo, A. Anstey, D.N. John, Microneedles in clinical practice an exploratory study into the opinions of healthcare professionals and the public, Pharm. Res. 28 (1) (2011) 95–106.

[37] A.C. Williams, B.W. Barry, Penetration enhancers, Adv. Drug Deliv. Rev. 56 (5) (2004) 603–618.

[38] 6] D. Sharma, Microneedles: an Approach in Transdermal Drug Delivery: a Review, (2017). [7] N. Akhtar, Microneedles: an Innovative Approach to Transdermal Delivery- a Review, (2014).

[39] T. Waghule, G. Singhvi, S.K. Dubey, M.M Pandey, G. Gupta, M. Singh, K. Dua, Microneedles: A smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system, Biomedicine & Pharmacotherapy 109 (2019) 1249–1258

[40] T. Waghule, G. Singhvi, S.K. Dubey, M.M Pandey, G. Gupta, M. Singh, K. Dua, Microneedles: A smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system, Biomedicine & Pharmacotherapy 109 (2019) 1249–1258

[41] S. Bhatnagar, K. Dave, V.V.K. Venuganti, Microneedles in the clinic, J. Control Rel. 260 (2017) 164–182.

[42] D. Yanga,1, M. Chenb,1, Y. Sunb, Y. Jinc, C. Lua, X. Panb, G. Quana, C. Wua, Microneedle-mediated transdermal drug delivery for treating diverse skin diseases, Acta Biomaterialia 121 (2021) 119–133

[43] J. Li, M. Zeng, H. Shan, C. Tong, Microneedle patches as drug and vaccine delivery platform, Curr. Med. Chem. 24 (22) (2017) 2413–2422.

[44] M.R. Prausnitz, Engineering microneedle patches for vaccination and drug delivery to skin, Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng. 8 (2017) 177–200.

[45] M. Suzuki, T. Takahashi, S. Aoyagi, 3D laser lithographic fabrication of hollow microneedle mimicking mosquitos and its characterisation, Int. J. Nanotechnol. 15 (1-3) (2018) 157–173.

[46] K. Cheung, T. Han, D.B. Das, Effect of force of microneedle insertion on the permeability of insulin in skin, J. Diabetes Sci. Technol. 8 (3) (2014) 444–452.

[47] S. Ruan, Y. Zhang, N. Feng, Microneedle-mediated transdermal nanodelivery systems: a review, Biomater Sci, 2021, 9, 8065.

[48] S. Ruan, Y. Zhang, N. Feng, Microneedle-mediated transdermal nanodelivery systems: a review, Biomater Sci, 2021, 9, 8065.

[49] D. V. McAllister, P. M. Wang, S. P. Davis, J.-H. Park, P. J. Canatella, M. G. Allen and M. R. Prausnitz, Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and nanoparticles: fabrication methods and transport studies, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2003, 100(24), 13755–13760.

[50] R.F. Donnelly, D.I. Morrow, M.T. McCrudden, A.Z. Alkilani, E.M. Vicente-Perez, C. O'Mahony, P. Gonzalez-Vazquez, P.A. McCarron, A.D. Woolfson, Hydrogel– forming and dissolving microneedles for enhanced delivery of photosensitiz- ers and precursors, Photochem. Photobiol. 90 (3) (2014) 641–647.

[51] J. Gupta, H.S. Gill, S.N. Andrews, M.R. Prausnitz, Kinetics of skin resealing after insertion of microneedles in human subjects, J. Control Rel. 154 (2) (2011) 148–155.

[52] Ma and C. Wu, Microneedle, bio-microneedle and bioinspired microneedle: A review, J. Controlled Release, 2017, 251, 11–23.

[53] H.S. Gill, M.R. Prausnitz, Coating formulations for microneedles, Pharm. Res. 24 (7)(2007) 1369–1380.

[54] R.D. Boehm, P.R. Miller, S.L. Hayes, N.A. Monteiro-Riviere, R.J. Narayan, Modification of microneedles using inkjet printing, AIP Adv. 1 (2) (2011).

[55] M.J. Uddin, N. Scoutaris, S.N. Economidou, C. Giraud, B.Z. Chowdhry, R.F. Donnelly, D. Douroumis, 3D printed microneedles for anticancer therapy of skin tumours, Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. 107 (2020) 110248.

[56] M.J. Uddin, N. Scoutaris, P. Klepetsanis, B. Chowdhry, M.R. Prausnitz, D. Douroumis, Inkjet printing of transdermal microneedles for the delivery of anticancer agents, Int. J. Pharm. 494 (2) (2015) 593–602.

[57] C. O'Mahony, A. Bocchino, M.J. Haslinger, S. Brandstätter, H. Außerhuber, K. Schossleitner, A.J.P. Clover, D. Fechtig, Microengineering, piezoelectric inkjet coating of injection moulded, reservoir-tipped microneedle arrays for trans- dermal delivery, (2019).

[58] C. O'Mahony, L. Hilliard, T. Kosch, A. Bocchino, E. Sulas, A. Kenthao, S. O'Callaghan, A.J.P. Clover, D. Demarchi, G.J.M.E. Bared, Accuracy and feasibil- ity of piezoelectric inkjet coating technology for applications in microneedle- based transdermal delivery, 172 (MAR.) (2017) 19-25.

[59] M. Cormier, B. Johnson, M. Ameri, K. Nyam, L. Libiran, D.D. Zhang, P. Daddona, Transdermal delivery of desmopressin using a coated microneedle array patch system, J. Control. Rel. 97 (3) (2004) 503–511.

[60] H.S. Gill, M.R. Prausnitz, Coated microneedles for transdermal delivery, J. Con- trol Rel. 117 (2) (2007) 227–237.

[61] S. Sharma, K. Hatware, P. Bhadane, S. Sindhikar, D.K. Mishra, Recent advances in microneedle composites for biomedical applications: advanced drug deliv- ery technologies, Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl. 103 (2019) 109717.

[62] J. Li, M. Zeng, H. Shan, J. Tong, Microneedle patches as drug and vaccine de- livery platform, Curr. Med. Chem. 24 (22) (2017) 2413–2422.

[63] H.S. Gill, M.R. Prausnitz, Coated microneedles for transdermal delivery, J. Con- trol Rel. 117 (2) (2007) 227–237.

[64] K.J. Lee, S.S. Jeong, D.H. Roh, D.Y. Kim, H.K. Choi, E.H. Lee, A practical guide to the development of microneedle systems - In clinical trials or on the market, Int. J. Pharm. 573 (2020) 118778.

[65] K. Ita, Transdermal delivery of drugs with microneedles-potential and challenges, Pharmaceutics 7 (3) (2015) 90–105.

[66] T. Waghule, G. Singhvi, S.K. Dubey, M.M. Pandey, G. Gupta, M. Singh, K. Dua, Microneedles: a smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system, Biomed. Pharmacother. 109 (2019) 1249–1258.

[67] M.R. Prausnitz, Engineering microneedle patches for vaccination and drug de- livery to skin, Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng. 8 (1) (2017) 177–200.

[68] D. D. Zhu, X. P. Zhang, C. B. Shen, Y. Cui and X. D. Guo, The maximum possible amount of drug in rapidly separating microneedles, Drug Delivery Transl. Res., 2019, 9(6), 1133–1142.

[69] M. Bok, Z.-J. Zhao, S. Jeon, J.-H. Jeong and E. Lim, Ultrasonically and Iontophoretically Enhanced Drug Delivery System Based on Dissolving Microneedle Patches, Sci. Rep., 2020, 10(1), 2027.

[70] S. A. Burton, C. Y. Ng, R. Simmers, C. Moeckly, D. Brandwein, T. Gilbert, N. Johnson, K. Brown, T. Alston, G. Prochnow, K. Siebenaler and K. Hansen, Rapid intradermal delivery of liquid formulations using a hollow microstructured array, Pharm. Res., 2011, 28(1), 31–40.

[71] C.A. Dreiss, Hydrogel design strategies for drug delivery, Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 48 (2020) 1–17.

[72] M. Wang, L. Hu, C. Xu, Recent advances in the design of polymeric micronee- dles for transdermal drug delivery and biosensing, Lab. Chip 17 (8) (2017) 1373–1387.

[73] R.F. Donnelly, T.R.R. Singh, A.Z. Alkilani, M.T.C. McCrudden, S. O'Neill, C. O'Mahony, K. Armstrong, N. McLoone, P. Kole, A.D. Woolfson, Hydrogel-forming microneedle arrays exhibit antimicrobial properties: potential for enhanced patient safety, Int. J. Pharm. 451 (1) (2013) 76–91.

[74] R.F. Donnelly, T.R. Raj Singh, A.D. Woolfson, Microneedle-based drug delivery systems: microfabrication, drug delivery, and safety, Drug Deliv. 17 (4) (2010) 187–207.

[75] F.J. Verbaan, S.M. Bal, D.J. van den Berg, W.H. Groenink, H. Verpoorten, R. Luttge, J.A. Bouwstra, Assembled microneedle arrays enhance the transport of compounds varying over a large range of molecular weight across human dermatomed skin, J. Control. Release 117 (2) (2007) 238–245.

[76] M. Niinomi, M. Nakai, Titanium-Based Biomaterials for Preventing Stress Shielding Between Implant Devices and Bone, (2011).

[77] J. Gupta, E.I. Felner, M.R. Prausnitz, Minimally invasive insulin delivery in subjects with type 1 diabetes using hollow microneedles, Diabetes Technol. Ther. 11 (6) (2009) 329–337.

[78] D.V. McAllister, P.M. Wang, S.P. Davis, J.H. Park, P.J. Canatella, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and nanoparticles: fabrication methods and transport studies, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 100 (24) (2003) 13755–13760.

[79] K. Lee, C.Y. Lee, H. Jung, Dissolving microneedles for transdermal drug administration prepared by stepwise controlled drawing of maltose, Biomaterials 32 (11) (2011) 3134–3140.

[80] C.J. Martin, C.J. Allender, K.R. Brain, A. Morrissey, J.C. Birchall, Low temperature fabrication of biodegradable sugar glass microneedles for transdermal drug delivery applications, J. Control. Release 158 (1) (2012) 93–101.

[81] T. Miyano, Y. Tobinaga, T. Kanno, Y. Matsuzaki, H. Takeda, M. Wakui, K. Hanada, Sugar micro needles as transdermic drug delivery system, Biomed. Microdevices 7 (3) (2005) 185–188.

[82] F. Pérennès, B. Marmiroli, M. Matteucci, M. Tormen, L. Vaccari, E. Di Fabrizio, Sharp Beveled Tip Hollow Microneedle Arrays Fabricated by LIGA and 3D Soft Lithography With Polyvinyl Alcohol, (2006).

[83] S. Aoyagi, H. Izumi, Y. Isono, M. Fukuda, H. Ogawa, Laser fabrication of high aspect ratio thin holes on biodegradable polymer and its application to a microneedle, Sens. Actuators A Phys. 139 (1) (2007) 293–302.

[84] J.H. Park, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Polymer microneedles for controlled-release drug delivery, Pharm. Res. 23 (5) (2006) 1008–1019.

[85] M. Han, D.H. Hyun, H.H. Park, S.S. Lee, C.H. Kim, C. Kim, A novel fabrication process for out-of-plane microneedle sheets of biocompatible polymer, J. Micromech. Microeng. 17 (6) (2007) 1184–1191.

[86] L.Y. Chu, S.O. Choi, M.R. Prausnitz, Fabrication of dissolving polymer microneedles for controlled drug encapsulation and delivery: bubble and pedestal microneedle designs, J. Pharm. Sci. 99 (10) (2010) 4228–4238.

[87] Y.-C. Kim, F.-S. Quan, R.W. Compans, S.-M. Kang, M.R. Prausnitz, Formulation of microneedles coated with influenza virus-like particle vaccine, AAPS PharmSciTech 11 (3) (2010) 1193–1201.

[88] R.F. Donnelly, R. Majithiya, T.R. Singh, D.I. Morrow, M.J. Garland, Y.K. Demir, K. Migalska, E. Ryan, D. Gillen, C.J. Scott, A.D. Woolfson, Design, optimization and characterisation of polymeric microneedle arrays prepared by a novel laser-based micromoulding technique, Pharm. Res. 28 (1) (2011) 41–57.

[89] Y. Nir, A. Paz, E. Sabo, I. Potasman, Fear of injections in young adults: Prevalence and associations, Am. J. Trop. Med. Hyg. 68 (2003) 341–344.

[90] J.G. Hamilton, Needle phobia: a neglected diagnosis, J. Fam. Pract. 41 (1995) 169–175.

[91] M.I. Haq, E. Smith, D.N. John, M. Kalavala, C. Edwards, A. Anstey, A. Morrissey, J.C. Birchall, Clinical administration of microneedles: Skin puncture, pain and sensation, Biomed. Microdevices 11 (2009) 35–47.

[93] S. Hirobe, H. Azukizawa, T. Hanafusa, K. Matsuo, Y.S. Quan, F. Kamiyama, I. Katayama, N. Okada, S. Nakagawa, Clinical study and stability assessment of a novel transcutaneous influenza vaccination using a dissolving microneedle patch, Biomaterials 57 (2015) 50–58.

[94] J. Gupta, D.D. Denson, E.I. Felner, M.R. Prausnitz, Rapid local anesthesia in humans using minimally invasive microneedles, Clin. J. Pain. 28 (2012) 129–135.

[95] D.P. Wermeling, S.L. Banks, D.A. Hudson, H.S. Gill, J. Gupta, M.R. Prausnitz, A.L. Stinchcomb, Microneedles permit transdermal delivery of a skin-impermeant medication to humans, Proc. Natl. Acad. Sci. 105 (2008) 2058–2063.

[96] S.H. Bariya, M.C. Gohel, T.A. Mehta, O.P. Sharma, Microneedles: An emerging transdermal drug delivery system, J. Pharm. Pharmacol. 64 (2012) 11–29.

[97] R.F. Donnelly, T.R.R. Singh, M.J. Garland, K. Migalska, R. Majithiya, C.M. McCrudden, P.L. Kole, T.M.T. Mahmood, H.O. McCarthy, A.D. Woolfson, Hydrogel-

forming microneedle arrays for enhanced transdermal drug delivery, Adv. Funct. Mater. 22 (2012) 4879–4890, https://doi.org/10.1002/adfm. 201200864.

[98] D. Brambilla, S.T. Proulx, P. Marschalkova, M. Detmar, J.C. Leroux, Microneedles for the noninvasive structural and functional assessment of dermal lymphatic vessels, Small. 12 (2016) 1053–1061.

[99] T. Kardjito, M. Donosepoetro, J.M. Grange, The Mantoux test in tuberculosis: correlations between the diameters of the dermal responses and the serum protein levels, Tubercle 62 (1981) 31–35 (accessed September 19, 2017).

[100] C. Jarrahian, D. Zehrung, E. Saxon, E. Griswold, L. Klaff, Clinical performance and safety of the ID adapter, a prototype intradermal delivery technology for vaccines, drugs, and diagnostic tests, Procedia Vaccinol. 6 (2012) 125–133.

[101] J. Jin, V. Reese, R. Coler, D. Carter, M. Rolandi, Chitin microneedles for an easy-touse tuberculosis skin test, Adv. Healthc. Mater. 3 (2014) 349–353.

[102] A. Pruss-Ustun, E. Rapiti, Y. Hutin, Estimation of the global burden of disease attributable to contaminated sharps injuries among health-care workers, Am. J. Indus. Med. 490 (2005) 482–490.

[103] J. Mönkäre, M. Reza Nejadnik, K. Baccouche, S. Romeijn, W. Jiskoot, J.A. Bouwstra, IgG-loaded hyaluronan-based dissolving microneedles for intradermal protein delivery, J. Control. Release 218 (2015) 53–62.

[104] K. Fukushima, A. Ise, H. Morita, R. Hasegawa, Y. Ito, N. Sugioka, K. Takada, Twolayered dissolving microneedles for percutaneous delivery of peptide/protein drugs in rats, Pharm. Res. 28 (2011) 7–21.

[105] H.J. Choi, B.J. Bondy, D.G. Yoo, R.W. Compans, S.M. Kang, M.R. Prausnitz, Stability of whole inactivated influenza virus vaccine during coating onto metal microneedles, J. Control. Release 166 (2013) 159–171.

[107] R.F. Donnelly, T. Raghu, R. Singh, M.M. Tunney, D.I.J. Morrow, P.A. Mccarron, C.O. Mahony, A.D. Woolfson, Microneedle arrays allow lower microbial penetration than hypodermic needles, In Vitro 26 (2009) 2513–2522.

[108] E.M. Vicente-Perez, E. Larrañeta, M.T.C. McCrudden, A. Kissenpfennig, S. Hegarty, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Repeat application of microneedles does not alter skin appearance or barrier function and causes no measurable disturbance of serum

biomarkers of infection, inflammation or immunity in mice in vivo, Eur. J. Pharm. Biopharm. 117 (2017) 400–407.

[109] J. Schauber, R.L. Gallo, Antimicrobial peptides and the skin immune defense system, J. Allergy Clin. Immunol. 122 (2008) 261–266.

[110] J. Harder, J. Bartels, E. Christophers, J.-M. Schröder, A peptide antibiotic from human skin, Nature 387 (1997) 861.

[111] L. Liu, L. Wang, H.P. Jia, C. Zhao, H.H. Heng, B.C. Schutte, P.B. McCray, T. Ganz, Structure and mapping of the human beta-defensin HBD-2 gene and its expression at sites of inflammation, Gene 222 (1998) 237–244.

[112] J. Park, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Biodegradable polymer microneedles: Fabrication, mechanics and transdermal drug delivery, 104 (2005) 51–66.

[113] A.L. Hook, C.-Y. Chang, J. Yang, J. Luckett, A. Cockayne, S. Atkinson, Y. Mei, R. Bayston, D.J. Irvine, R. Langer, D.G. Anderson, P. Williams, M.C. Davies, M.R. Alexander, Combinatorial discovery of polymers resistant to bacterial attachment, Nat. Biotechnol. 30 (2012) 868–875.

[114] A. Hou, B. Cohen, A. Haimovic, N. Elbuluk, Microneedling, Dermatologic Surg. (2016).

[115] H.S. Gill, D.D. Denson, B.A. Burris, M.R. Prausnitz, Effect of microneedle design on pain in human volunteers, Clin J Pain. 24 (2008) 585–594.

[116] S.M. Bal, J. Caussin, S. Pavel, J.A. Bouwstra, In vivo assessment of safety of microneedle arrays in human skin, Eur. J. Pharm. Sci. 35 (2008) 193–202.

[117] S.L. Banks, R.R. Pinninti, H.S. Gill, K.S. Paudel, P.A. Crooks, N.K. Brogden, M.R. Prausnitz, A.L. Stinchcomb, Transdermal delivery of naltrexol and skin permeability lifetime after microneedle treatment in hairless guinea pigs, J. Pharm. Sci. 99 (2010) 3072–3080.

[118] Hoeijmakers, J.H. Characterization of genes and proteins involved in excision repair of human cells. J. Cell Sci. Suppl. 1987, 6, 111–125.

[119] Riedel, H.; Kondor-Koch, C.; Garoff, H. Cell surface expression of fusogenic vesicular stomatitis virus G protein from cloned cDNA. EMBO J. 1984, 3, 1477–1483.

[120] Liang, R.; Zhao, J.; Li, B.; Cai, P.; Loh, X.J.; Xu, C.; Chen, P.; Kai, D.; Zheng, L. Implantable and degradable antioxidant poly(epsilon-caprolactone)-lignin nanofiber membrane for effective osteoarthritis treatment. Biomaterials 2020, 230, 119601.

[121] Gerwin, N.; Hops, C.; Lucke, A. Intraarticular drug delivery in osteoarthritis. Adv. Drug Deliver. Rev. 2006, 58, 226–242.

[122] Zhang, X.; Chen, G.; Yu, Y.; Sun, L.; Zhao, Y. Bioinspired Adhesive and Antibacterial Microneedles for Versatile Transdermal Drug Delivery. Research 2020, 2020, 3672120.

[123] Katsumi, H., Liu, S., Tanaka, Y., Hitomi, K., Hayashi, R., Hirai, Y., … Yamamoto, A. (2012). Development of a novel self-dissolving microneedle array of alendronate, a nitrogen-containing bisphosphonate: Evaluation of transdermal absorption, safety, and pharmacological effects after application in rats. Journal of Pharmaceutical Sciences, 101(9), 3230–3238.

[124] Naito, C., Katsumi, H., Suzuki, T., Quan, Y. S., Kamiyama, F., Sakane, T., & Yamamoto, A. (2018). Self-dissolving microneedle arrays for transdermal absorption enhancement of human parathyroid hormone (1-34). Pharmaceutics, 10(4).

[125] H.R. Jeong, J.Y. Kim, S.N. Kim, J.H. Park, Local dermal delivery of cyclosporin A, a hydrophobic and high molecular weight drug, using dissolving microneedles, Eur. J. Pharm. Biopharm. 127 (2018) 237–243.

[126] Lee, Y.; Li, W.; Tang, J.; Schwendeman, S.P.; Prausnitz, M.R. Immediate detachment of microneedles by interfacial fracture for sustained delivery of a contraceptive hormone in the skin. J. Control. Release 2021, 337, 676–685.

[127] E. Larrañeta, M. T. C. McCrudden, A.J. Courtenay, R. F. Donnelly, Microneedles: A New Frontier in Nanomedicine Delivery, Pharm. Res., (2016) 33, 1055–1073.

[128] Li, J.; Zeng, M.; Shan, H.; Tong, C. Microneedle Patches as Drug and Vaccine Delivery Platform. Curr. Med. Chem. 2017, 24, 2413–2422.

[129] Kim, E.; Erdos, G.; Huang, S.; Kenniston, T.W.; Balmert, S.C.; Carey, C.D.; Raj, V.S.; Epperly, M.W.; Klimstra, W.B.; Haagmans, B.L.; et al. Microneedle array delivered recombinant coronavirus vaccines: Immunogenicity and rapid translational development. EBioMedicine 2020, 55, 102743.

[130] M.J. Mistilis, A.S. Bommarius, M.R. Prausnitz, Development of a thermostable microneedle patch for influenza vaccination, J. Pharm. Sci. 104 (2) (2015) 740–749.

[131] N. W. Kim, S. Y. Kim, J. E. Lee, Y. Yin, J. H. Lee, S. Y. Lim, E. S. Kim, H. T. T. Duong, H. K. Kim, S. Kim, J. E. Kim, D. S. Lee, J. Kim, M. S. Lee, Y. T. Lim and J. H. Jeong, Enhanced Cancer Vaccination by In Situ Nanomicelle-Generating Dissolving Microneedles, ACS Nano, 2018, 12(10), 9702–9713.

[132] Wang, J.; Yu, J.; Zhang, Y.; Kahkoska, A.R.; Wang, Z.; Fang, J.; Whitelegge, J.P.; Li, S.; Buse, J.B.; Gu, Z. Glucose transporter inhibitor-conjugated insulin mitigates hypoglycemia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2019, 116, 10744–10748.

[133] Y. Zhang, J. Yu, A. R. Kahkoska, J. Wang, J. B. Buse and Z. Gu, Advances in transdermal insulin delivery, Adv. Drug Delivery Rev., 2019, 139, 51–70.

[134] Zhu, Z., Luo, H., Lu, W., Luan, H., Wu, Y., Luo, J., … Wang, H. (2014). Rapidly dissolvable microneedle patches for transdermal delivery of exenatide.Pharmaceutical Research, 31(12), 3348–3360.

[135] Yu, J.; Zhang, Y.; Ye, Y.; DiSanto, R.; Sun, W.; Ranson, D.; Ligler, F.S.; Buse, J.B.; Gu, Z. Microneedle-array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2015, 112, 8260–8265.

[136] Y. Ye, J. Yu, C. Wang, N.Y. Nguyen, G.M. Walker, J.B. Buse, Z. Gu, Microneedles integrated with pancreatic cells and synthetic glucose-signal amplifiers for smart insulin delivery, Adv. Mater. Weinheim 28 (16) (2016) 3115–3121.

[137] E. Larrañeta, M. T. C. McCrudden, A.J. Courtenay, R. F. Donnelly, Microneedles: A New Frontier in Nanomedicine Delivery, Pharm. Res., (2016) 33, 1055–1073.

[138] S. Amodwala, P. Kumar, H.P. Thakkar, Statistically optimized fast dissolving microneedle transdermal patch of meloxicam: a patient friendly approach to manage T. Waghule et al. Biomedicine & Pharmacotherapy 109 (2019) 1249–1258 1257 arthritis, Eur. J. Pharm. Sci. 104 (2017) 114–123.

[139] X. Xie, C. Pascual, C. Lieu, S. Oh, J. Wang, B. Zou, J. Xie, Z. Li, J. Xie, D.C. Yeomans, M.X. Wu, X.S. Xie, Analgesic microneedle patch for neuropathic pain therapy, ACS Nano 11 (1) (2017) 395–406.

[140] B. Bediz, E. Korkmaz, R. Khilwani, C. Donahue, G. Erdos, L.D. Falo, O.B. Ozdoganlar, Dissolvable microneedle arrays for intradermal delivery of biologics: Fabrication and application, Pharm. Res. 31 (2014) 117–135.

[141] J.I. Silverberg, T. Vos, M. Naghavi, Global skin disease morbidity and mortality an update from the global burden of disease study 2013, JAMA Dermatol. 44113 (2017) 406–412.

[142] S. Kaushik, A.H. Hord, D.D. Denson, D. V Mcallister, S. Smitra, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Lack of pain associated with microfabricated microneedles (2001) 2000–2002.

[143] N. Rahman, Realizing the promise of cancer predisposition genes, Nature 505 (2014) 302–308.

[144] R.E. Neale, M. Davis, N. Pandeya, D.C. Whiteman, A.C. Green, Basal cell carcinoma on the trunk is associated with excessive sun exposure, J. Am. Acad. Dermatol. 56 (2007) 380–386.

[145] B. Lindelöf, B. Sigurgeirsson, H. Gäbel, R.S. Stern, Incidence of skin cancer in 5356 patients following organ transplantation, Br. J. Dermatol. 143 (2000) 513–519 (accessed December 31, 2017).

[146] P.M. Howley, H.J. Pfister, Beta genus papillomaviruses and skin cancer, Virology 479–480 (2015) 290–296.

[147] M.R. Karagas, T.A. Stukel, V. Umland, M.M. Tsoukas, L.A. Mott, H.T. Sorensen, A.O. Jensen, H.H. Nelson, S.K. Spencer, A.E. Perry, R.S. Stern, Reported use of photosensitizing medications and basal cell and squamous cell carcinoma of the skin: results of a population-based case-control study, J. Invest. Dermatol. 127 (2007) 2901–2903.

[148] A. Odenbro, R. Bellocco, P. Boffetta, B. Lindelöf, J. Adami, Tobacco smoking, snuff dipping and the risk of cutaneous squamous cell carcinoma: a nationwide cohort study in Sweden, Br. J. Cancer. 92 (2005) 1326–1328.

[149] R.D. Carvajal, G.K. Schwartz, T. Tezel, B. Marr, J.H. Francis, P.D. Nathan, Metastatic disease from uveal melanoma: treatment options and future prospects, Br. J. Ophthalmol. 101 (1) (2017) 38–44.

[150] P.A. Ascierto, K. Flaherty, S. Goff, Emerging strategies in systemic therapy for the treatment of melanoma, Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book (38) (2018) 751–758.

[151] M.D. Hellmann, B.T. Li, J.E. Chaft, M.G. Kris, Chemotherapy remains an essential element of personalized care for persons with lung cancers, Ann. Oncol. 27 (10) (2016) 1829–1835.

[152] S. Talukdar, L. Emdad, S.K. Das, D. Sarkar, P.B. Fisher, Evolving strategies for therapeutically targeting cancer stem cells, Adv. Cancer Res. 131 (2016) 159–191.

[153] J. Zhu, L. Dong, H. Du, J. Mao, Y. Xie, H. Wang, J. Lan, Y. Lou, Y. Fu, J. Wen, B. Jiang, Y. Li, J. Zhu, J. Tao, 5-aminolevulinic acid-loaded hyaluronic acid dissolving microneedles for effective photodynamic therapy of superficial tumors with enhanced long-term stability, Adv. Healthc. Mater. 8 (22) (2019) e1900896.

[154] R.F. Donnelly, D.I.J. Morrow, P.A. McCarron, A.D. Woolfson, A. Morrissey, P. Juzenas, A. Juzeniene, V. Iani, H.O. McCarthy, J. Moan, Microneedle-mediated intradermal delivery of 5-aminolevulinic acid: Potential for enhanced topical photodynamic therapy, J. Control. Release 129 (2008) 154–162.

[155] K.K. Wong, W.A. Li, D.J. Mooney, G. Dranoff, Advances in therapeutic cancer vaccines, Adv. Immunol. 130 (2016) 191–249.

[156] A.W. Li, M.C. Sobral, S. Badrinath, Y. Choi, A. Graveline, A.G. Stafford, J.C. Weaver, M.O. Dellacherie, T.Y. Shih, O.A. Ali, J. Kim, K.W. Wucherpfennig, D.J. Mooney, A facile approach to enhance antigen response for personalized cancer vaccination, Nat. Mater. 17 (6) (2018) 528–534.

[157] Z. Hu, P.A. Ott, C.J. Wu, Towards personalized, tumour-specific, therapeutic vaccines for cancer, Nat. Rev. Immunol. 18 (3) (2018) 168–182.

[158] M. Zaric, O. Lyubomska, O. Touzelet, C. Poux, S. Al-Zahrani, F. Fay, L. Wallace, D. Terhorst, B. Malissen, S.J.A.N. Henri, Skin dendritic cell targeting via microneedle arrays laden with antigen-encapsulated poly-d,l-lactide-coglycolide nanoparticles induces efficient antitumor and antiviral immune responses, 7 (3) (2013) 2042-2055.

[159] Y. Ye, C. Wang, X. Zhang, Q. Hu, Y. Zhang, Q. Liu, D. Wen, J. Milligan, A. Bellotti, L.J.S.I. Huang, A melanin-mediated cancer immunotherapy patch, 2 (17) (2017) eaan5692.

[160] M. Chen, G. Quan, T. Wen, P. Yang, W. Qin, H. Mai, Y. Sun, C. Lu, X. Pan, C. Wu, Cold to hot: binary cooperative microneedle array-amplified photoimmunotherapy for eliciting antitumor immunity and the abscopal effect, ACS Appl. Mater. Interfaces (2020).

[161] M.C. Chen, Z.W. Lin, M.H. Ling, Near-infrared light-activatable microneedle system for treating superficial tumors by combination of chemotherapy and photothermal therapy, ACS Nano 10 (2016) 93–101.

[162] S. Moradi Tuchayi, E. Makrantonaki, R. Ganceviciene, C. Dessinioti, S.R. Feldman, C.C. Zouboulis, Acne vulgaris, Nat. Rev. Dis. Primers 1 (2015) 15029.

[163] H.P.M. Gollnick, A.Y. Finlay, N. Shear, Can we define acne as a chronic disease? Am. J. Clin. Dermatol. 9 (5) (2008) 279–284.

[164] B. Dreno, F. Poli, Epidemiology of acne, Dermatology 206 (1) (2003) 7–10.

[165] S.Z. Ghodsi, H. Orawa, C.C. Zouboulis, severity Prevalence, and severity risk factors of acne in high school pupils: a community-based study, J. Invest. Dermatol. 129 (9) (2009) 2136–2141.

[166] S.W. Youn, E.S. Park, D.H. Lee, C.H. Huh, K.C. Park, Does facial sebum excretion really affect the development of acne? Br. J. Dermatol. 153 (5) (2005) 919–924.

[167] C.W. Choi, J.W. Choi, K.C. Park, S.W. Youn, Facial sebum affects the development of acne, especially the distribution of inflammatory acne, J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 27 (3) (2013) 301–306.

[168] T. Kobayashi, S. Tamada, Selective electrothermolysis of the sebaceous glands: treatment of facial seborrhea, Dermatol. Surg. 33 (2) (2007) 169–177.

[169] K.Y. Seo, M.S. Yoon, D.H. Kim, H.J. Lee, Skin rejuvenation by microneedle fractional radiofrequency treatment in Asian skin; clinical and histological analysis, Lasers Surg. Med. 44 (8) (2012) 631–636.

[170] S.I. Cho, B.Y. Chung, M.G. Choi, J.H. Baek, H.J. Cho, C.W. Park, C.H. Lee, H.O. Kim, Evaluation of the clinical efficacy of fractional radiofrequency microneedle treatment in acne scars and large facial pores, Dermatol. Surg. 38 (7 Pt 1) (2012) 1017–1024.

[171] B.M. Hantash, A.A. Ubeid, H. Chang, R. Kafi, B. Renton, Bipolar fractional radiofrequency treatment induces neoelastogenesis and neocollagenesis, Lasers Surg. Med. 41 (1) (2009) 1–9.

[172] Y. Zhang, P. Feng, J. Yu, J. Yang, J. Zhao, J. Wang, Q. Shen, Z. Gu, ROS-responsive microneedle patch for acne vulgaris treatment, Adv. Therap. 1 (3) (2018).

[173] D. Connolly, H.L. Vu, K. Mariwalla, N. Saedi, A. Dermatology, Acne scarring-pathogenesis, evaluation, and treatment options, 10 (9) (2017) 12-23.

[174] J. Sharad, Combination of microneedling and glycolic acid peels for the treatment of acne scars in dark skin, J. Cosmet. Dermatol. 10 (4) (2011) 317–323.

[175] B. Berman, A. Maderal, B. Raphael, Keloids and hypertrophic scars: pathophysiology, classification, and treatment, Dermatol. Surg. 43 Suppl. 1 (2017) S3–S18.

[176] G.G. Gauglitz, H.C. Korting, T. Pavicic, T. Ruzicka, M.G. Jeschke, Hypertrophic scarring and keloids: pathomechanisms and current and emerging treatment strategies, Mol. Med. 17 (1-2) (2011) 113–125.

[177] J.P. Andrews, J. Marttala, E. Macarak, J. Rosenbloom, J. Uitto, Keloids: the paradigm of skin fibrosis - Pathomechanisms and treatment, Matrix Biol. 51 (2016) 37–46.

[178] M. Bi, P. Sun, D. Li, Z. Dong, Z. Chen, Intralesional injection of botulinum toxin type a compared with intralesional injection of corticosteroid for the treatment of hypertrophic scar and keloid: a systematic review and meta-analysis, Med. Sci. Monit. 25 (2019) 2950–2958.

[179] C.W.X. Tan, W.D. Tan, R. Srivastava, A.P. Yow, D.W.K. Wong, H.L. Tey, Dissolving triamcinolone-embedded microneedles for the treatment of keloids: a single-blinded intra-individual controlled clinical trial, Dermatol. Ther. (Heidelb) 9 (3) (2019) 601–611.

[180] G. Yan, K.S. Warner, J. Zhang, S. Sharma, B.K. Gale, Evaluation needle length and density of microneedle arrays in the pretreatment of skin for transdermal drug delivery, Int. J. Pharm. 391 (1-2) (2010) 7–12.

[181] B. Pamornpathomkul, T. Ngawhirunpat, I.A. Tekko, L. Vora, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Dissolving polymeric microneedle arrays for enhanced site-specific acyclovir delivery, Eur. J. Pharm. Sci. 121 (2018) 200–209.

[282] H.M. Almohanna, M. Perper, A. Tosti, Safety concerns when using novel medications to treat alopecia, Expert Opin. Drug Saf. 17 (11) (2018) 1115–112.

[183] Y.S. Kim, K.H. Jeong, J.E. Kim, Y.J. Woo, B.J. Kim, H. Kang, Repeated microneedle stimulation induces enhanced hair growth in a murine model, Ann. Der- matol. 28 (5) (2016) 586–592.

[184] L. Bao, L. Gong, M. Guo, T. Liu, A. Shi, H. Zong, X. Xu, H. Chen, X. Gao, Y. Li, Randomized trial of electrodynamic microneedle combined with 5% minoxidil topical solution for the treatment of Chinese male androgenetic alopecia, J. Cosmet. Laser Ther. 22 (1) (2020) 1–7.

[185] G. Yang, Q. Chen, D. Wen, Z. Chen, J. Wang, G. Chen, Z. Wang, X. Zhang, Y. Zhang, Q. Hu, L. Zhang, Z. Gu, A therapeutic microneedle patch made from hair-derived keratin for promoting hair regrowth, ACS Nano 13 (4) (2019) 4354–4360.

[186] F. Andrew, Quality of life assessments in dermatology, Semin. Cutan. Med. Surg. 17 (1998) 291–296.

[187] D.J. Atherton, Topical corticosteroids in atopic dermatitis, BMJ 327 (2003) 942–943.

[188] V. Karuppagounder, S. Arumugam, R.A. Thandavarayan, R. Sreedhar, V.V. Giridharan, K. Watanabe, Molecular targets of quercetin with anti-inflammatory properties in atopic dermatitis, Drug Discov. Today. 21 (2016) 632–639.

[189] M.J. Kim, S.Y. Choung, Mixture of polyphenols and anthocyanins from vaccinium uliginosum L. Alleviates DNCB-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice, Evidence-Based Complement, Altern. Med. 2012 (2012).

[190] V. Karuppagounder, S. Arumugam, R.A. Thandavarayan, V. Pitchaimani, R. Sreedhar, R. Afrin, M. Harima, H. Suzuki, M. Nomoto, S. Miyashita, K. Suzuki, M. Nakamura, K. Ueno, K. Watanabe, Tannic acid modulates NFκB signaling pathway and skin inflammation in NC/Nga mice through PPARγ expression, Cytokine 76 (2015) 206–213.

[191] M.K. Jung, D.Y. Hur, S.B. Song, Y. Park, T.S. Kim, S.I. Bang, S. Kim, H.K. Song, H. Park, D.H. Cho, Tannic acid and quercetin display a therapeutic effect in atopic dermatitis via suppression of angiogenesis and TARC expression in Nc/Nga mice, J. Invest. Dermatol. 130 (2010) 1459–1463.

[192] T.H. Kim, G.D. Kim, H.J. Ahn, J.J. Cho, Y.S. Park, C.S. Park, The inhibitory effect of naringenin on atopic dermatitis induced by DNFB in NC/Nga mice, Life Sci. 93 (2013) 516–524.

[193] V. Karuppagounder, S. Arumugam, R.A. Thandavarayan, V. Pitchaimani, R. Sreedhar, R. Afrin, M. Harima, H. Suzuki, M. Nomoto, S. Miyashita, K. Suzuki, K.

Watanabe, Resveratrol attenuates HMGB1 signaling and inflammation in house dust mite-induced atopic dermatitis in mice, Int. Immunopharmacol. 23 (2014) 617–623.

[194] R. Paleco, S.R. Vučen, A.M. Crean, A. Moore, S. Scalia, Enhancement of the in vitro penetration of quercetin through pig skin by combined microneedles and lipid microparticles, Int. J. Pharm. 472 (2014) 206–213.

[195] J. van Smeden, M. Janssens, E.C.J. Kaye, P.J. Caspers, A.P. Lavrijsen, R.J. Vreeken, J.A. Bouwstra, The importance of free fatty acid chain length for the skin barrier function in atopic eczema patients, Exp. Dermatol. 23 (2014) 45–52.

[196] K. Vincent, C. Rotstein, Bacterial skin and soft tissue infections in adults: A review of their epidemiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and site of care, Can J Infect Dis Med Microbiol. 19 (2008) 173–184.

[197] S. Guégan, F. Lanternier, C. Rouzaud, N. Dupin, O. Lortholary, Fungal skin and soft tissue infections, Curr. Opin. Infect. Dis. 29 (2016) 124–130.

[198] M.S. Dryden, Complicated skin and soft tissue infection, J. Antimicrob. Chemother. 65 (2010) 35–44.

[199] D. Nathwani, M. Dryden, J. Garau, Early clinical assessment of response to treatment of skin and soft-tissue infections: how can it help clinicians? Perspectives from Europe, Int. J. Antimicrob. Agents 48 (2016) 127–136.

[200] H.S. Lawrence, A.J. Nopper, Superficial Bacterial Skin Infections and Cellulitis, fifth ed., Elsevier Inc., 2012.

[201] S.D. Gittard, A. Ovsianikov, H. Akar, B. Chichkov, N.A. Monteiro-Riviere, S. Stafslien, B. Chisholm, C.C. Shin, C.M. Shih, S.J. Lin, Y.Y. Su, R.J. Narayan, Two photon polymerization-micromolding of polyethylene glycol-gentamicin sulfate microneedles, Adv. Eng. Mater. 12 (2010) 77–82.

[202] P. González-vázquez, E. Larrañeta, M.T.C. Mccrudden, C. Jarrahian, A. Reinweston, M. Quintanar-solares, D. Zehrung, H. Mccarthy, A.J. Courtenay, R.F. Donnelly, Transdermal delivery of gentamicin using dissolving microneedle arrays for potential treatment of neonatal sepsis, J. Control. Release (2017).

[203] M. Cobussen, J.M.L. De Kort, R.M. Dennert, S.H. Lowe, P.M. Stassen, M. Cobussen, J.M.L. De Kort, R.M. Dennert, S.H. Lowe, No increased risk of acute kidney

injury after a single dose of gentamicin in patients with sepsis patients with sepsis, Infect. Dis. (Auckl) 48 (2015) 274–280.

[204] F. Bath-Hextall, A.J. Birnie, J.C. Ravenscroft, H.C. Williams, Interventions to reduce Staphylococcus aureus in the management of atopic eczema: an updated Cochrane review, Br. J. Dermatol. 163 (2010) 12–26.

[205] M. Bhattacharyya, H. Bradley, A case report of the use of nanocrystalline silver dressing in the management of acute surgical site wound infected with MRSA to prevent cutaneous necrosis following revision surgery, Int. J. Low. Extrem. Wounds 7 (2008) 45–48.

[206] A.B.G. Lansdown, U. Mirastschijski, N. Stubbs, E. Scanlon, M.S. Ågren, Zinc in wound healing: Theoretical, experimental, and clinical aspects, Wound Repair Regen. 15 (2007) 2–16.

[207] Y. Liu, L. He, A. Mustapha, H. Li, Z.Q. Hu, M. Lin, Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157:H7, J. Appl. Microbiol. 107 (2009) 1193–1201.

[208] S.D. Gittard, P.R. Miller, C. Jin, T.N. Martin, R.D. Boehm, B.J. Chisholm, S.J. Stafslien, J.W. Daniels, N. Cilz, N.A. Monteiro-Riviere, A. Nasir, R.J. Narayan, Deposition of antimicrobial coatings on microstereolithography-fabricated microneedles, J. Miner. Met. Mater. Soc. 63 (2011) 59–68.

[209] R.D. Boehm, P.R. Miller, R. Singh, A. Shah, S. Stafslien, J. Daniels, R.J. Narayan, Indirect rapid prototyping of antibacterial acid anhydride copolymer microneedles, Biofabrication. 4 (2012) 011002.

[210] R.D. Boehm, P. Jaipan, S.A. Skoog, S. Stafslien, L. VanderWal, R.J. Narayan, Inkjet deposition of itraconazole onto poly (glycolic acid) microneedle arrays, Biointerphases 11 (2016) 011008.

[211] H.E. Emam, H.B. Ahmed, T. Bechtold, In-situ deposition of Cu2O micro-needles for biologically active textiles and their release properties, Carbohydr. Polym. 165 (2017) 255–265.

[212] W. Lee, William, Q. Zhao, Y. Rao, Z. Shen, Disposable self-powered drug delivery device, WO2010062908, 2009.

[213] Kim Kabseog, Lee Jeong-Bong, Tapered hollow metallic microneedle array assembly and method of making and using the same, 7627938-B2, 2009.

[214] M.D. Lynch, J. Cliffe, R. Morris-jones, Management of cutaneous viral warts, 3339 (2014) 1–6.

[215] T.P. Habif, J.L.C. Jr, M.S. Chaoman, J.G. Dinulos, K.A. Zug, Skin disease diagnosis and treatment, second ed., Elsevier Mosby, Philadelphia, 2005.

[216] A.M. Massing, W.L. Epstein, Natural history of warts. A two-year study, Arch. Dermatol. 87 (1963) 306–310.

[217] K. Cs, S. Gibbs, C. Bennett, R. Holland, R. Abbott, Topical treatments for cutaneous warts (Review), Cochrane Database Syst. Rev. (2012).

[218] K.S. Thomas, M.R. Keogh-Brown, J.R. Chalmers, R.J. Fordham, R.C. Holland, S.J. Armstrong, M.O. Bachmann, A.H. Howe, S. Rodgers, A.J. Avery, I. Harvey, H.C. Williams, Effectiveness and cost-effectiveness of salicylic acid and cryotherapy for cutaneous warts. An economic decision model, Health Technol. Assess. 10 (2006) iii, ix–87.

[219] Y. Fujisawa, J. Furuta, Y. Kawachi, F. Otsuka, Deep plantaris ulceration secondary to the topical treatment of wart with glutaraldehyde, J. Dermatol. 36 (2009) 618–619.

[220] K. Konicke, Successful treatment of recalcitrant plantar warts with bleomycin and microneedling, Am. Soc. Dermatologic Surg. 42 (2016) 1007–1008.

[221] H.S. Lee, H.R. Ryu, J.Y. Roh, J.H. Park, Bleomycin-coated microneedles for treatment of warts, Pharm. Res. 34 (2017) 101–112.

[222] H.R. Ryu, H. Jeong, J.S. Kim, S.K. Lee, H.J. Kim, J.O. Baek, J. Park, J.Y. Roh, Efficacy of a bleomycin microneedle patch for the treatment of warts, Drug Deliv. Transl. Res. 8 (2018) 273–280.

[223] D.M. Ashcroft, A. Li Wan Po, C.E.M. Griffiths, Therapeutic strategies for psoriasis, J. Clin. Pharm. Ther. 25 (2000) 1–10.

[224] R.M. Grossman, J. Krueger, D. Yourish, A. Granelli-Piperno, D.P. Murphy, L.T. May, T.S. Kupper, P.B. Sehgal, A.B. Gottlieb, Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86 (1989) 6367–6371.

[225] G. Swanbeck, A. Inerot, T. Martinsson, C. Enerbäck, F. Enlund, L. Samuelsson, M. Yhr, J. Wahlström, Genetic counselling in psoriasis: empirical data on psoriasis among first-degree relatives of 3095 psoriatic probands, Br. J. Dermatol. 137 (1997) 939–942.

[226] E.M. Farber, The genetics of psoriasis, JAMA J. Am. Med. Assoc. 219 (1972) 1061.

[314] A. Tiilikainen, A. Lassus, J. Karvonen, P. Vartiainen, M. Julin, Psoriasis and HLACw6, Br. J. Dermatol. 102 (1980) 179–184 (accessed August 12, 2017).

[227] H.I. Katz, Topical corticosteroids, Dermatol. Clin. 13 (1995) 805–815 (accessed August 12, 2017).

[228] H.L. Richards, D.G. Fortune, T.M.O. Sullivan, C.J. Main, C.E.M. Griffith, Patients with psoriasis and their compliance with medication, J Am Acad Dermatol. 41 (1999) 581–583.

[229] H. Du, P. Liu, J. Zhu, J. Lan, Y. Li, L. Zhang, J. Zhu, J. Tao, Hyaluronic acid-based dissolving microneedle patch loaded with methotrexate for improved treat- ment of psoriasis, ACS Appl. Mater. Interfaces 11 (46) (2019) 43588–43598.

[230] A.B. Gottlieb, S. Masud, R. Ramamurthi, A. Abdulghani, P. Romano, U. Chaudhari, L.T. Dooley, A.A. Fasanmade, C.L. Wagner, Pharmacodynamic and pharmacokinetic response to anti-tumor necrosis factor-α monoclonal antibody (infliximab) treatment of moderate to severe psoriasis vulgaris, J. Am. Acad. Dermatol. 48 (2003) 68–75.

[231] C.J. Oh, K.M. Das, A.B. Gottlieb, Treatment with anti-tumor necrosis factor α (TNF-α) monoclonal antibody dramatically decreases the clinical activity of psoriasis lesions, J. Am. Acad. Dermatol. 42 (2000) 829–830.

[232] D. Alessa and J. D. Bloom, Microneedling Options for Skin Rejuvenation, Including Non-temperature-controlled Fractional Microneedle Radiofrequency Treatments, Facial Plast. Surg. Clin. North Am., 2020, 28(1), 1–7.

[233] D. F. S. Fonseca, C. Vilela, R. J. B. Pinto, V. Bastos, H. Oliveira, J. Catarino, P. Faisca, C. Rosado, A. J. D. Silvestre and C. S. R. Freire, Bacterial nanocellulose-hyaluronic acid microneedle patches for skin applications: In vitro and in vivo evaluation, Mater. Sci. Eng., C, 2021, 118, 111350.

[234] Avcil, M., Akman, G., Klokkers, J., Jeong, D., & Çelik, A. (2020). Efficacy of bioactive peptides loaded on hyaluronic acid microneedle patches: A monocentric clinical study. Journal of Cosmetic Dermatology, 19(2), 328–337.

[235] Xie, Y., Wang, H., Mao, J., & Li, Y. (2019). Enhanced in vitro efficacy for inhibiting hypertrophic scar by bleomycin-loaded dissolving hyaluronic acid microneedles. 7(42) pp. 6604–6611).

[236] Jang, M., Baek, S., Kang, G., Yang, H., Kim, S., & Jung, H. (2020). Dissolving microneedle with high molecular weight hyaluronic acid to improve skin wrinkles, dermal density and elasticity. International Journal of Cosmetic Science, 42(3), 302–309.

[237] R.F. Donnelly, T.R. Singh, M.M. Tunney, D.I. Morrow, P.A. McCarron, C. O'Mahony, A.D. Woolfson, Microneedle arrays allow lower microbial pen- etration than hypodermic needles in vitro, Pharm. Res. 26 (11) (2009) 2513–2522.

[238] Yan, L.; Alba, M.; Tabassum, N.; Voelcker, N.H. Micro-and Nanosystems for Advanced Transdermal Delivery. Adv. Therap. 2019, 2, 1900141.

[239] Rzhevskiy, A.S.; Singh, T.R.R.; Donnelly, R.F.; Anissimov, Y.G. Microneedles as the technique of drug delivery enhancement in diverse organs and tissues. J. Control. Release 2018, 270, 184–202.

[240]Ali,A.A.;McCrudden,C.M.;McCaffrey,J.;McBride,J.W.;Cole,G.;Dunne,N.J.;Robson ,T.;Kissenpfennig,A.;Donnelly,R.F.; McCarthy, H.O. DNA vaccination for cervical cancer; a novel technology platform of RALA mediated gene delivery via polymeric microneedles. Nanomed. UK 2017, 13, 921–932.