

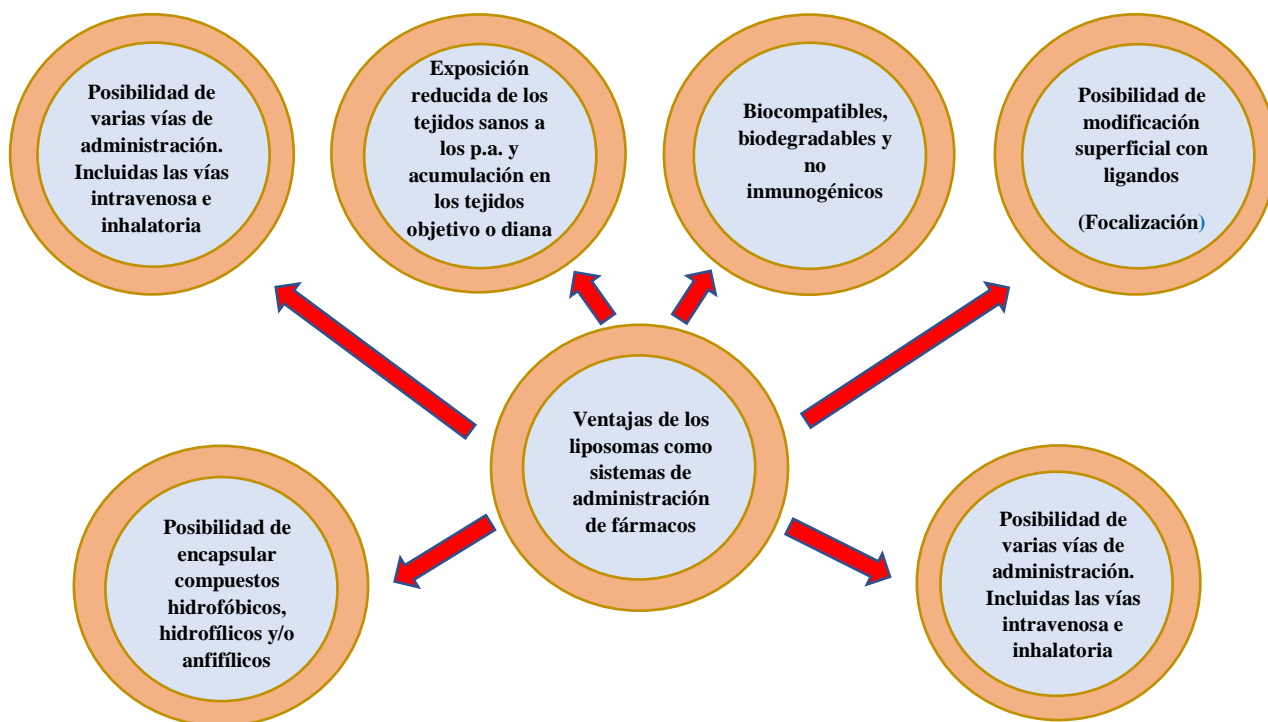


TRABAJO FIN DE GRADO

PREPARACIÓN DE LIPOSOMAS BIOCOMPATIBLES. VENTAJAS DE SU UTILIZACIÓN EN LOS TRATAMIENTOS CONTRA EL CÁNCER

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA



FRANCISCO JAVIER GAVIRA HEREDIA



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

**PREPARACIÓN DE LIPOSOMAS BIOCOMPATIBLES.
VENTAJAS DE SU UTILIZACIÓN EN LOS
TRATAMIENTOS CONTRA EL CÁNCER**

FRANCISCO JAVIER GAVIRA HEREDIA

FACULTAD DE FARMACIA, SEVILLA. 10 DE JULIO DE 2.020

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA

TUTORA: MARÍA LUISA MOYÁ MORÁN

TRABAJO FIN DE GRADO DE CARÁCTER BIBLIOGRÁFICO

Resumen

Los estudios sobre la preparación de liposomas biocompatibles para encapsular fármacos de diferente naturaleza han aumentado mucho en los últimos años. En particular, se ha prestado especial atención a su uso en los tratamientos de enfermedades como el cáncer, debido a sus múltiples ventajas. Este Trabajo Fin de Grado realiza una revisión bibliográfica hasta la actualidad, sobre los liposomas. Los liposomas son vesículas micro o nanoscópicas formadas por bicapas concéntricas de fosfolípidos que encierran uno o más compartimentos acuosos y que, debido a su estructura, presentan la capacidad de encapsular sustancias de carácter hidrofílico, lipofílico o anfifílico. Se tratará su preparación a través de diferentes medios y técnicas, que permitirán la obtención de distintos tipos de liposomas según el uso que se les quiera dar. Se recogen, además, las diversas ventajas que aportan estas estructuras para el transporte o vehiculización de fármacos. Entre ellas puede mencionarse el aumento de solubilidad de numerosos fármacos poco solubles o la focalización tumoral u orientación activa dirigida hacia el tumor mediante diversas modificaciones estructurales realizadas en su superficie, como la pegilación. También se menciona su posible conjugación con vectores para mejorar la orientación hacia el tejido afectado y no al sano, es decir, la focalización tumoral. Se concluye el trabajo considerando su actual utilización como portadores de fármacos antineoplásicos, hablando sobre los fármacos actualmente comercializados y utilizados, y de otros posibles fármacos que se encuentran en diferentes fases de ensayos clínicos. El uso de los liposomas, con sus diferentes estrategias y modificaciones, buscan la mejora en la efectividad terapéutica de los fármacos antineoplásicos, una mayor focalización sobre la zona afectada y una reducción de los posibles efectos adversos o negativos que conllevan dichos fármacos.

Palabras clave: liposomas; agentes antineoplásicos; focalización tumoral; liposomas pegilados.

Índice

1. Introducción	5
1.1 Definición y generalidades	5
1.2. Clasificación y composición	7
1.3. Métodos de preparación	10
1.4. Interacciones entre el liposoma y las células	12
1.5. Empleo de liposomas como vectores o transportadores de fármacos. Diferentes aplicaciones	12
2. Objetivos de la revisión	15
3. Metodología	15
4. Resultados y discusión	16
5. Conclusiones	23
6. Bibliografía	24

1. Introducción

1.1 Definición y generalidades

Los liposomas son vesículas micro o nanoscópicas formadas por bicapas concéntricas de fosfolípidos que encierran un compartimento acuoso. Estos fosfolípidos están formados por una parte polar, denominada cabeza, y por una región apolar denominada cola. La disposición de los fosfolípidos en las bicapas se basa en que las cadenas hidrofóbicas (cola o parte apolar) se disponen de manera “paralela” entre sí y enfrentadas a su vez con la otra capa. Quedando así las cabezas (parte polar) a ambos lados y formando una zona hidrófoba entre las dos capas y en el interior y exterior zonas hidrófilas. No deben confundirse con las micelas cuyo interior si puede contener lípidos al estar en contacto con la parte apolar o cola y no encerrar ningún compartimento acuoso (ver Figura 1).

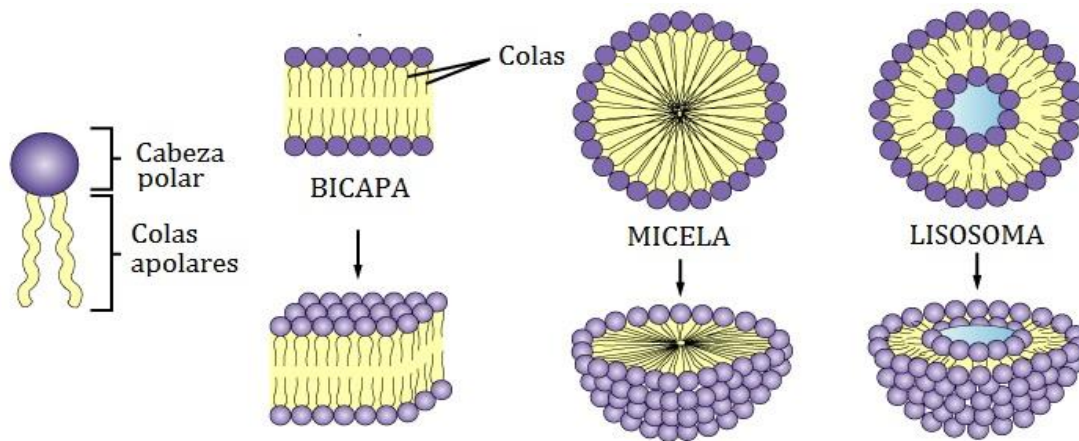


Figura 1. Estructura de un fosfolípido, bicapa, micela y liposoma.

Es precisamente este carácter anfifílico de los fosfolípidos que forman la bicapa lo que convierte estas vesículas en vectores de gran utilidad para el transporte de fármacos, ya sean sustancias lipófilas, que pueden ser transportadas en el interior de la bicapa lipófila o compuestos hidrofílicos, que pueden ser transportados en el compartimento acuoso interior que forma el liposoma (ver Figura 2). Este aspecto es de gran importancia en relación con el tema del trabajo realizado, por lo que más adelante se abordará con mayor detenimiento y ampliación.

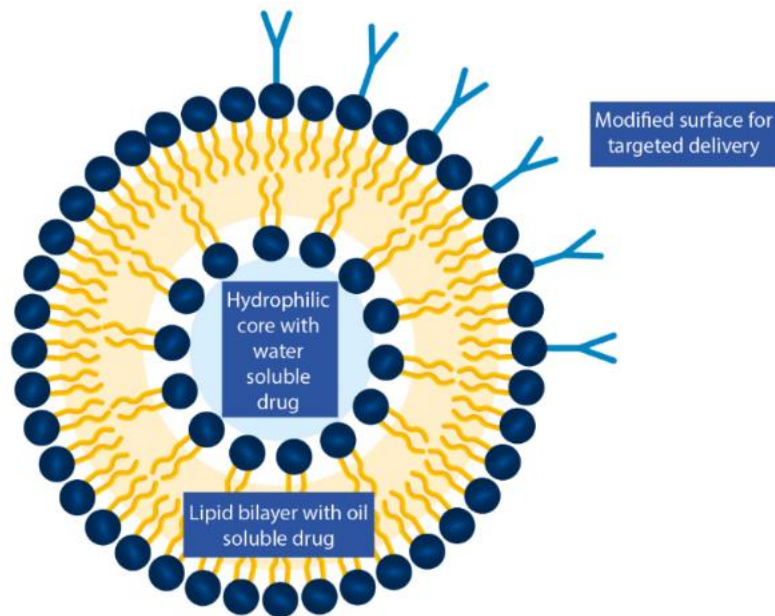


Figura 2. Liposoma con superficie modificada y características de cada compartimento.


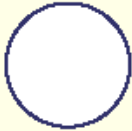




Los liposomas fueron descubiertos en 1964 por Alec D. Bangham y colaboradores cuando al estar realizando un estudio sobre el efecto de los fosfolípidos en la coagulación sanguínea, observaron la formación espontánea de vesículas multilaminares al entrar en contacto los fosfolípidos con el agua. Estos resultados apoyaban la teoría de 1925 de Gater y Grendek, en la cual proponían que las membranas debían estar formadas por una bicapa con carácter anfipático. Estos primeros resultados supusieron un gran avance en el estudio de las membranas biológicas, que se culminó con la creación del modelo de mosaico fluido de Singer y Nicolson de 1972. Además de esto, sirvieron de base para el estudio de sistemas bioquímicos, para avanzar en el estudio del metabolismo de medicamentos, de la función de los lípidos de membrana, etc.

En este trabajo nos centraremos en el uso de los liposomas para el transporte y liberación de fármacos, que a lo largo del mismo se verá expuesto.

1.2. Clasificación y composición

En cuanto a la clasificación de los liposomas, se pueden distinguir en función del número de bicapas y de su tamaño. En la Tabla 1 puede verse una clasificación general de los liposomas atendiendo a dichos factores e indicando las propiedades de estos.

Tabla 1-. Clasificación de los liposomas (Torrelló et al., 2002).

Tabla 1. Clasificación de los liposomas			
Número de bicapas		Diámetro	Propiedades
Unilaminares (liposomas formados por una única bicapa)	SUV (vesículas unilaminares de pequeñas dimensiones) 	20-80 nm	<ul style="list-style-type: none"> – Debido a su elevado radio de curvatura, una elevada proporción de fosfolípidos se halla en la monocapa externa – Presentan una importante relación superficie/lípido – Dado que el porcentaje de encapsulación es bajo, no se recomienda para moléculas hidrosolubles
	LUV (vesículas unilaminares de grandes dimensiones) 	80 nm-1 µm	<ul style="list-style-type: none"> – Presentan una elevada capacidad de encapsulación – El elevado volumen del compartimiento interno permite la encapsulación de moléculas hidrosolubles con eficacia
Plurilaminares (liposomas formados por varias bicapas)	MLV (vesículas multilaminares) 	400 nm– varios µm	<ul style="list-style-type: none"> – Existen variantes de MLV, tales como: <ul style="list-style-type: none"> • REV (Reverse-phase Evaporation Vesicles)  • SPLV (Stable Plurilamellar Vesicles)  • MVL µmultivesicular Liposomes 

La composición de los liposomas puede variar en función de los lípidos que se utilicen para su formación, ya sean fosfolípidos naturales o artificiales, que conferirán una serie de características concretas que se emplearán acorde a los objetivos fijados. Muchas veces se utiliza la fosfatidilcolina (Figura 3) o lecitina (mezcla de fosfatidilcolina y otros compuestos), que es un fosfolípido natural y se encuentran en gran proporción en las membranas biológicas (Vasquez, 2015). También puede modificarse su composición con la adición de otras moléculas, que modifican las características propias de las bicapas. Un ejemplo es la adición de colesterol, que se utiliza para reducir la permeabilidad de la bicapa cuando se transportan sustancias hidrófilas, aumentando su rigidez y facilitando el transporte en fluidos como la sangre. Las Figuras 4 y 5 muestran ejemplos de diferentes modificaciones de los liposomas mediante la adición de diferentes

especies. Estos cambios se realizan con la idea de variar su especificidad y posibles interacciones.

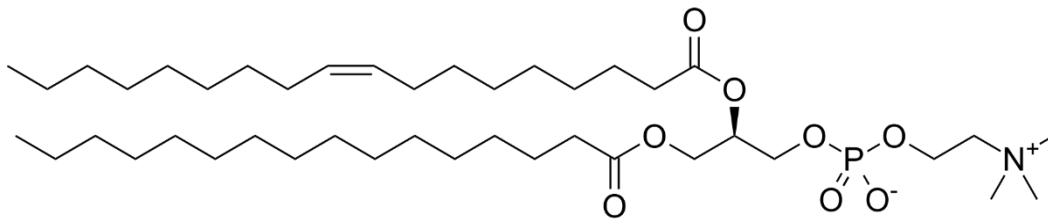


Figura 3. Estructura química de la fosfatidilcolina con los ácidos grasos (Fosfatidilcolina - Wikipedia, la enciclopedia libre, n.d.).

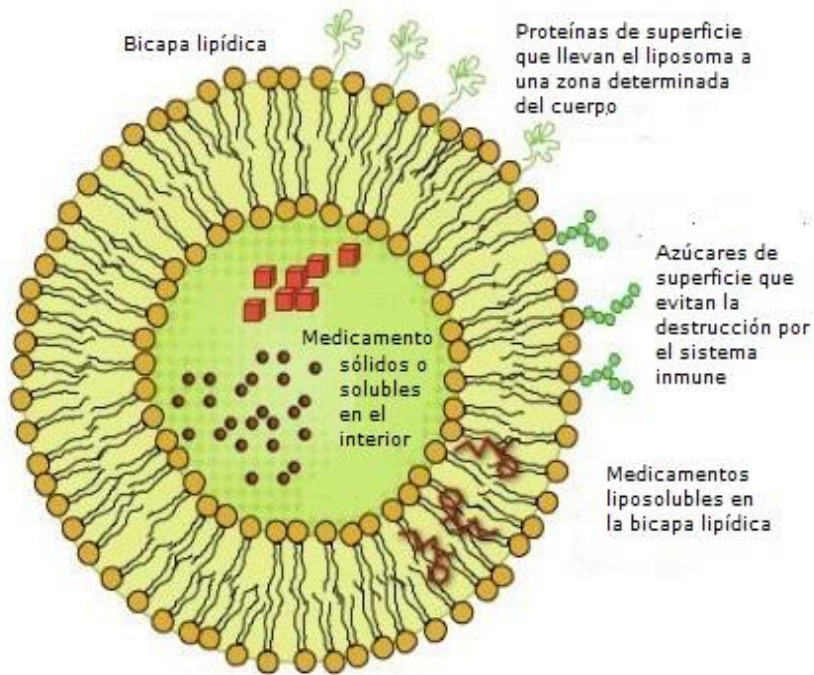


Figura 4. Liposoma con su superficie modificada y las características de cada compartimento.



Figura 5. Modificaciones de los liposomas para controlar su interacción y especificidad (tipo y composición; carga; alcoholes; anticuerpos).

En cuanto al tamaño y número de bicapas, hay que decir que pueden influir también en el transporte y liberación de medicamentos, por lo que es necesario controlarlos. Esto se consigue a través del método de preparación o elaboración de los liposomas. Por ejemplo, la liberación de fármacos solubles en agua es más lenta en los liposomas de mayor diámetro. También se ve afectada la eliminación de los liposomas por el cuerpo humano. Así, los liposomas de menor tamaño se eliminan más lentamente que los de mayor tamaño (Clares Naveros, 2003).

Se puede realizar otro tipo de clasificación de los liposomas en función de su comportamiento en el organismo (De et al., 2013). Se podrían diferenciar cuatro grandes grupos, aunque conviene indicar que otros autores han propuesto clasificaciones diferentes. Según (De et al., 2013) se pueden distinguir entre liposomas convencionales, liposomas de circulación prolongada o *stealth liposomes*, liposomas catiónicos e inmunoliposomas.

Los liposomas convencionales son aquellos liposomas clásicos compuestos por fosfatidilcolina y colesterol, cuya superficie es hidrofóbica y que al ser fagocitados por las células son envueltos rápidamente por proteínas plasmáticas y eliminados de la circulación.

Los liposomas de circulación prolongada, o stealth liposomes, se refieren a liposomas en cuya superficie se ha realizado una pegilación para aumentar su carácter hidrófilo y reducir las interacciones con proteínas plasmáticas y lipoproteínas. Este fenómeno de pegilación consiste en anexionar cadenas de polietilenglicol, PEG, en la superficie del liposoma. Esto aumenta la biodisponibilidad de los principios activos encapsulados y permite que la liberación se produzca más lentamente, reduciéndose así los efectos secundarios y la toxicidad. Además de esta técnica, se han utilizado otros métodos para

conseguir estos mismos objetivos. Entre ellos se encuentran la introducción de alcohol polivinílico, poliácridamida y polivinilpirrolidona. El uso de este tipo de liposomas se concentra principalmente en la liberación de principios activos en aquellos lugares donde existe una infección y/o inflamación.

Los inmunoliposomas destacan por su capacidad para alcanzar la diana terapéutica. Esto es posible debido a la presencia en su superficie de determinados anticuerpos, o fragmentos de estos, que permiten direccionar los liposomas hacia el sitio en el que se encuentra el antígeno específico para dicho anticuerpo. Por tanto, la preparación de este tipo de liposomas requiere de un estudio previo sobre el tipo de antígeno al que queremos que los liposomas se fijen.

Los liposomas catiónicos suelen utilizarse para el transporte de material genético. Están constituidos por lípidos catiónicos o por una mezcla de lípidos catiónicos y no iónicos. Al presentar una carga superficial positiva pueden interactuar electrostáticamente con los ácidos nucleicos, que presentan carga negativa debido a la presencia de los grupos fosfatos. Como resultado de estas interacciones, la carga negativa del ADN se neutraliza y llega a producirse una inversión de carga, que resulta en la compactación del material genético. La asociación de los liposomas catiónicos y el material genético resulta en la formación de estructuras compactas que reciben el nombre de lipoplejos. Estos lipoplejos protegen al material genético que contienen a lo largo de las diferentes barreras que se encuentran en los procesos de transfección génica, que consisten en introducir material genético en el interior del núcleo celular con fines terapéuticos.

1.3. Métodos de preparación

Existen numerosos métodos para la preparación de liposomas. En este trabajo no nos ocuparemos de describir detalladamente la mayoría de ellos, sino que nos centraremos en los métodos que se utilizan más frecuentemente. Para ello se ha tomado como referencia una tesis doctoral de la Universidad Complutense de Madrid sobre la fabricación de Liposomas y cápsulas poliméricas (De et al., 2013) que recoge las técnicas de elaboración según el tipo de liposoma.

Para la obtención de liposomas tipo SUV se considerará el método más sencillo y conocido, que es el de dispersión simple. Se divide en varias etapas:

- La etapa de liofilización o evaporación en medios no polares a partir de disoluciones de lípidos para la obtención de la bicapa lipídica. En disolventes orgánicos como el cloroformo y el ciclohexano se disuelven lípidos a partir de los cuales partimos.
- Seguimiento de hidratación de la bicapa lipídica y dispersión en medios polares, así como agua, o disolución tampón. Habitualmente para conseguir una conductividad eléctrica adecuada, se regula la fuerza iónica. La hidratación debe hacerse durante 30 minutos, con un agitador mecánico y a temperatura superior al estado de transición del lípido.

- Por último, la extrusión de la disolución resultante. Para ello, la disolución que contiene vesículas unilamelares y multilameres se hace pasar por un filtro de policarbonato de un tamaño de poro definido. Como resultado se obtiene una disolución que contiene liposomas unilamelares con una distribución de tamaños muy estrecha y una baja polidispersidad.

Para obtener liposomas SUV también existen otros métodos diferentes a este:

- Inyección de etanol o éter. Se disuelven en éter o etanol los lípidos de partida. Esta disolución se añade rápidamente a la disolución tampón con la que queremos trabajar. Formándose espontáneamente vesículas, mayoritariamente SUV, y alguna minoría tipo MLV. Para finalizar, se realiza una ultrafiltración con el fin de eliminar los posibles restos de éter o etanol, según se haya utilizado.
- Diálisis de tensioactivos: las vesículas se preparan mezclando tensioactivos y fosfolípidos, lo que produce inicialmente la formación de micelas mixtas. Una vez que se dializa el tensioactivo se obtienen liposomas unilamelares.

Para la obtención de liposomas tipo LUV, el método más empleado se denomina evaporación en fase reversa. Consiste en añadir un volumen pequeño de fase acuosa en una disolución orgánica, en la que están inmersos la mezcla de fosfolípidos a una determinada relación molar. Tras la adición de la fase acuosa a una temperatura superior al estado de transición de los lípidos, la mezcla se sonica produciendo una emulsión. Se elimina la fase orgánica a presión reducida, dando lugar a liposomas en una fase de gel intermedio. Por último, se obtiene una disolución concentrada de vesículas, con una alta polidispersidad, tras una fuerte agitación. Esta polidispersidad, va desde pocos nanómetros hasta 10 μm , dependiendo de la concentración y composición de los lípidos, de la temperatura, de la fuerza de sonicación y del tiempo de sonicación.

Por último, para la obtención de liposomas tipo MLV, se suele utilizar un protocolo que incluye varios ciclos de evaporación del disolvente y sonicación. Comienza con el proceso de evaporación del cloroformo en el que se encuentran los lípidos. Una vez obtenida la bicapa de lípidos, para aumentar la miscibilidad se añade ciclohexano con un pequeño volumen de etanol (1-2% del volumen total). Con un sistema de vacío y durante 5 horas, la muestra se liofiliza. Formando una nueva película de lípidos. Esta película se hidrata a una temperatura mayor a la temperatura de transición de fase de los lípidos. Por último, utilizamos un sonicador para agitar energéticamente. Obteniendo vesículas multilamelares. Conviene indicar que el tamaño y la lamelaridad es difícil de controlar.

En todos los casos, una vez obtenidos los liposomas, se deben almacenar a una temperatura entre 4-8°C y a pH 7.4. En general su estabilidad en disolución es de una semana (De et al., 2013).

1.4. Interacciones entre el liposoma y las células

Una vez se han descrito brevemente los métodos más frecuentes de preparación de liposomas, pasaremos a explicar el mecanismo de interacción entre las células y los liposomas, que permitirán a estos penetrar en las células a través de la membrana que las rodea.

Los liposomas de menor tamaño son más fácilmente captados por las células (Kim and Martin, 1981). Según las últimas investigaciones existen cuatro posibles formas de que los liposomas entren en las células (Clares Naveros, 2003):

- Endocitosis. A través de las células del Sistema Fagocítico Mononuclear, que provoca la liberación del fármaco por la acción de los enzimas tisulares. Puede provocar cambios en la sustancia transportada por el liposoma.
- Fusión directa de la membrana del liposoma con la membrana plasmática celular, liberándose por coalescencia el contenido en el citoplasma.
- Transferencia de lípidos que forman parte de la membrana liposomal a la membrana celular, sin que se produzca alteraciones en el contenido liposomal.
- Adsorción estable de los liposomas por la membrana celular a través de fuerzas hidrofóbicas o electroestáticas e/o inespecíficas.

El mecanismo de interacción vendrá determinado por la composición lipídica liposomal, el tipo de célula receptora, y la presencia de diferentes receptores específicos en el liposoma (Navarro et al., 2008), (Fernando Barrachina, 2015).

1.5. Empleo de liposomas como vectores o transportadores de fármacos. Diferentes aplicaciones

Una vez descritos los liposomas, considerada su clasificación y composición, así como los métodos de preparación más frecuentes y los mecanismos de penetración en las células, se pasará a abordar el tema de su utilización como vectores de fármacos y sus diferentes aplicaciones. En especial su empleo como ayuda en la terapia contra del cáncer y ventajas que proporciona.

Como se describe en (De et al., 2013) los liposomas fueron utilizados en sus comienzos como medio de mimetización de las membranas. Tan pronto como los estudios iban avanzando, y por tanto los conocimientos sobre ellos, se descubrieron numerosas aplicaciones y utilidades. Entre ellas en la industria farmacéutica para su uso como sistemas de vectorización de medicamentos, en la industria cosmética, en el ámbito alimentario, etc.

Actualmente los liposomas tienen una gran importancia como sistemas de vectorización. Definiremos este concepto desde el punto de vista biológico para comprender mejor su significado. Se entiende por vectorización de un fármaco el transporte de un principio activo en el organismo hasta llegar o alcanzar el target/objetivo

o diana terapéutica. Lo que se persigue es conseguir la máxima eficacia del fármaco, aumentando su liberación en el lugar donde se encuentran sus receptores terapéuticos y disminuyendo su concentración en otros lugares en los que el fármaco no es necesario, lo que disminuiría los efectos secundarios que pueden perjudicar o dañar el organismo (Clares Naveros, 2003). Las características singulares de los liposomas, que permiten transportar tanto sustancias hidrófilas como lipófilas e incluso ambas a la vez, junto con su capacidad para llegar hasta la diana terapéutica deseada y liberar el fármaco, los convierten en un sistema extraordinario para paliar, e incluso eliminar muchos de los problemas que se plantean actualmente en la administración de fármacos.

Hay que destacar la baja o nula toxicidad de los fosfolípidos que suelen utilizarse en la constitución de los liposomas. Además, los liposomas pueden proteger al fármaco de la degradación hasta llegar a la diana terapéutica. Esto puede conseguirse, por ejemplo, mediante la incorporación de anticuerpos u otras moléculas (ver Figuras 4 y 5). Los liposomas pueden sufrir cambios cuando varían ciertas magnitudes, como por ejemplo el pH, la fuerza iónica o la temperatura. Debido a sus propiedades, hay autores que los han considerado como “balas mágicas”, término introducido por Paul Ehrlich (Navarro et al., 2008). Las ventajas que puede presentar el uso de liposomas para transportar un principio activo se resumen a continuación (Clares Naveros, 2003):

- Protegen a la sustancia o principio activo contra la inactivación, ya sea enzimática, química o inmunológica, desde el lugar de administración hasta la diana terapéutica.
- Permiten mejorar el transporte de principios activos hasta lugares difíciles de alcanzar utilizando el fármaco libre u otro transportador.
- Aumentan la especificidad de acción y eficacia a nivel celular y/o molecular.
- Incrementan el tiempo de vida media del principio activo en circulación.
- Alteran la solubilidad de la sustancia o principio activo y reducen su antigenicidad e inmunogenicidad.
- Disminuyen la toxicidad para ciertos órganos por modificación de la distribución tisular del principio activo
- Se pueden preparar con componentes biocompatibles y biodegradables. Además, pueden prepararse industrialmente a gran escala.

Todo esto hace que se consideren unos vehículos de sustancias activas de gran interés. No obstante, también hay que puntualizar que presentan algunas desventajas (Clares Naveros, 2003) como: una baja estabilidad, bajo porcentaje de encapsulación y una capacidad para proteger al fármaco limitada. Además, como indican algunos estudios realizados de distribución tisular, su distribución no es homogénea en todos los órganos, acumulándose en el hígado y el bazo. Esto dificultaría la vectorización de fármacos dirigidos a otros órganos. Para intentar paliar esto, se realizan diferentes alteraciones en la estructura de los liposomas, incluyendo en su estructura distintas especies, como se mostró en las Figuras 4 y 5. Dependiendo de la modificación realizada, el mecanismo de acción cambia. Por ejemplo, la adición de anticuerpos tiene como objetivo que sea reconocido por un antígeno en concreto, en una superficie tisular determinada. La Figura 6 muestra otro ejemplo de modificación superficial del liposoma.

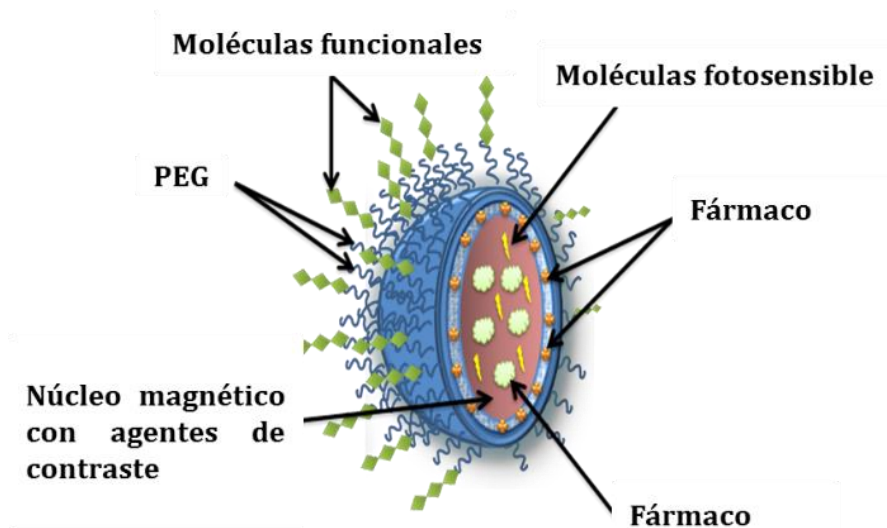


Figura 6. Liposoma con modificaciones superficiales (LIPOSOMAS
«NANOFARMACOLOGÍA y NANOMEDICINA, n.d.).

Actualmente, para reducir la rápida fagocitosis de los liposomas por el sistema fagocítico mononuclear (SFM), antes llamado sistema reticuloendotelial (SER), se están diseñando nuevos liposomas que contienen pequeñas cantidades de glicoproteínas con carga negativa, que aumentan su carácter hidrófilo y reducen su opsonización y fagocitosis por el SFM. Como resultado de ello, los liposomas permanecen en sangre 100 veces más tiempo de lo habitual, lo que permite que puedan utilizarse para el tratamiento de tumores o enfermedades en otros órganos diferentes al hígado y el bazo.

Las nuevas líneas de investigación que se ocupan del diseño de liposomas modificados que palien las limitaciones que presentan los que podríamos llamar liposomas clásicos, consideran fundamentalmente tres criterios independientes (De et al., 2013): tiempo de dosificación, punto de aplicación o acción terapéutica y sensibilidad estímulo-respuesta. Además, tienen en cuenta la naturaleza de sus componentes, así como la del principio activo u otras sustancias que se quieran incluir en el liposoma, lo que va a determinar el método utilizado en su preparación. Por ello, la referencia anteriormente mencionada recoge algunos aspectos destacables de la preparación de los liposomas, como son:

- La proporción de la fase acuosa atrapada, dado que la vida media de los liposomas en el organismo será mayor cuanto mayor sea la concentración lipídica del liposoma.
- El proceso de hidratación, ya que una hidratación lenta resulta en un aumento en el índice de encapsulación del fármaco.
- La cantidad de principio activo o sustancia liposoluble presente en la bicapa lipídica se ve aumentada con la presencia en esta de fosfolípidos cargados, debido a que se produce un aumento de la distancia entre las membranas lipídicas.

2. Objetivos de la revisión

Este Trabajo Fin de Grado de tipo revisión bibliográfica tiene dos objetivos principales.

Uno de ellos se basa en el estudio de los liposomas y sus principales características. Mientras que el otro se ocupa de la utilización de los liposomas en la terapia contra el cáncer.

Dado que este es un campo de investigación muy activo, se considerarán los logros alcanzados en este campo a lo largo de los años y las perspectivas de futuro que tiene.

3. Metodología

Para la consecución de los objetivos de este Trabajo Fin de Grado de revisión bibliográfica, se trazó una estrategia de búsqueda basada en la utilización de bases de datos como: Scifinder, Scopus y Pubmed. De estas bases de datos se obtuvieron artículos científicos, otros Trabajos Fin de Estudios, revisiones, etc. que sirvieron de base para la realización de esta memoria.

Para la búsqueda en estas bases de datos se siguió un patrón que empleaba el uso de ciertas palabras claves relacionadas con nuestros objetivos. Entre ellas, caben destacar: liposomes; antineoplastic agents/drugs in liposomes; encapsulation of antineoplastic drugs; doxorubicin; paclitaxel; nanocarriers; nanocarriers for antineoplastic agents/drugs; etc.

En cuanto al intervalo de tiempo de los años de publicación, en el criterio de selección de los diferentes artículos se ha utilizado un intervalo de tiempo amplio, ya que se pretendía tener una bibliografía que permitiera una visión global y diera información sobre la evolución de este campo de investigación.

Además del uso de estas bases de datos, también se emplearon otros métodos o herramientas de búsqueda como Google y Google académico, con el fin de encontrar imágenes o figuras y otros artículos o documentos de apoyo.

Toda la bibliografía utilizada se eligió en base a su rigor científico. Fue almacenada y organizada por la aplicación de escritorio de Mendeley o Mendeley Desktop.

4. Resultados y discusión

En la actualidad cada vez se le está dando una mayor importancia a los micro y nanotransportadores como sistemas de vehiculización y liberación controlada de fármacos con diversos fines (Rojas-Aguirre and Aguado-Castrejón Israel González-Méndez, 2016). Esto ha supuesto un aumento de los estudios sobre sus posibles ventajas y aplicaciones. El uso de micro y nanotransportadores podría disminuir los efectos secundarios de muchos principios activos ya utilizados en el mercado. Además, proporcionaría la posibilidad de utilizar nuevos fármacos que, por ejemplo, por problemas de solubilidad no se utilizan o se usan minoritariamente. También permitirían la inclusión de más de un fármaco en el transportador, lo que proporcionaría la posibilidad de comportamientos sinérgicos, aumentando los efectos beneficiosos de los mismos. Debido a todo esto, el número de nanotransportadores utilizados en el sector sanitario cada vez es mayor y con su aumento, también aumentan las mejoras en los tratamientos de numerosas enfermedades y problemas derivados. No solo se han conseguido ya numerosos avances en este campo, sino que hay numerosos sistemas micro y nanotransportadores en diferentes fases de estudio de ensayos clínicos, que podrán complementar y mejorar los que ya han sido validados por las diferentes agencias competentes como la FDA (Food and Drugs Agency) o la Agencia Europea del Medicamento.

Dentro del amplio grupo de nanotransportadores utilizados o en estudio, este Trabajo se centra en el uso de los liposomas como medios o sistemas para vehiculizar fármacos utilizados en los tratamientos contra el cáncer, aunque conviene indicar que se pueden utilizar en el tratamiento de otras muchas enfermedades (Arévalo et al., 2019); (Daraee et al., 2016).

Creo que como punto de partida conviene considerar lo que es el cáncer. Sin entrar en profundidad ni demasiados tecnicismos (¿Qué es el Cáncer? ¿Cómo se Desarrolla? | AECC, n.d.; Arbizu et al., 2000; Selene Barrón Ramírez et al., 2009), el cáncer no es una enfermedad, sino un conjunto de ellas, en las que se produce una proliferación descontrolada de células. Esto se debe a un fallo en el organismo debido a posibles mutaciones que afectan al sistema de regulación de proliferación celular, aumentando la activación de oncogenes, y suprimiendo o inactivando el de oncosupresores.

Si se utilizan liposomas como transportadores de fármacos, pueden ser administrados por distintas vías (Clares Naveros, 2003):

- Vía intravenosa. Las propiedades físicas del liposoma, como su tamaño, fluidez y carga superficial, jugarán un papel muy importante en el destino y eliminación de este. Según su composición, su persistencia en los tejidos puede variar bastante en el tiempo, pudiendo ir desde minutos a días. La vida media en sangre tiene un rango entre minutos y algunas horas. El mecanismo que siguen los liposomas en el torrente sanguíneo viene descrito en el apartado **1.4** y **1.5** de este Trabajo. Aunque no haya ninguna causa clara demostrada actualmente sobre esto, cabe destacar la acumulación en zonas donde existe infección e inflamación y en algunos tumores sólidos.

- Vía intraperitoneal. Es utilizada exclusivamente en animales, no en seres humanos, pero se ha mostrado como muy efectiva.
- Vía subcutánea. Su uso suele ser muy efectivo.
- Vía intramuscular. Aunque esta vía implique que la absorción se produzca antes por el sistema linfático que por el circulatorio, tras un breve periodo de latencia se alcanzan altos niveles plasmáticos en el torrente sanguíneo.
- Vía intralinfática. El empleo de esta vía ha sido de gran importancia para el tratamiento de tumores linfáticos. Para ellos se utilizaba bleomicina vehiculizada por liposomas. Además, también se ha utilizado para administrar liposomas que contienen materiales de contraste, que consiguen alcanzar los vasos linfáticos de menor tamaño, lo que es importante a nivel diagnóstico (Pros and cons of the liposome platform in cancer drug targeting. - PubMed - NCBI, n.d.).
- Vía oral. Esta vía presenta numerosas dificultades debido a que debe sobrepasar las fuerzas mecánicas, cambios de pH, enzimas varias, sales biliares etc. (Clares Naveros, 2003). A pesar de todo esto, se ha conseguido demostrar mediante estudios con insulina y factor VIII encapsulados en liposomas, que, una vez introducidos por vía oral, son recuperables en el torrente sanguíneo. Aunque se desconoce el mecanismo mediante el cual los liposomas atraviesan la pared intestinal, sin que le afecten o provoquen alteraciones significativas.
- Vía nasal. Es una vía muy interesante y en fase de estudio para la aplicación de alérgenos y superoxidodismutasa.
- Vía oftálmica. Los liposomas al vehiculizar los fármacos que actúan sobre el tejido ocular aumentan el tiempo de contacto entre ellos y por tanto provoca un aumento de la eficacia. También hay que decir que se ha comprobado la influencia de la carga superficial de los liposomas en la penetración a través del epitelio corneal. Los liposomas de carga superficial positiva son los que mayor poder de penetración presentan.
- Vía intraarticular. Se utiliza para tratar problemas artríticos
- Vía intratraqueal. Presenta algunas ventajas en ciertos tratamientos, con respecto a la administración en disolución.
- Vía tópica. Es interesante no sólo desde el punto de vista sanitario, sino también cosmético.

Una vez vistas las diferentes vías de administración de los liposomas, y antes de entrar en profundidad a hablar sobre la aplicación de liposomas como sistemas de vectorización de fármacos antineoplásicos, se ha hecho una pequeña recopilación de sus principales aplicaciones terapéuticas (Clares Naveros, 2003).

- Enzimoterapia. Fue una de las primeras aplicaciones de los liposomas. Debido a un problema genético, la falta de enzimas provoca una acumulación del sustrato que no se convierte en producto, provocando diferentes problemas o patologías.

- Confección o fabricación de vacunas. Su uso reside en la incorporación de los exopolisacáridos de la bacteria en cuestión en la bicapa e interior del liposoma que es ingerido por el macrófago. Esto permite la producción de anticuerpos por el sistema inmune y mejora la respuesta y protección del individuo.
- Tratamiento de infecciones bacterianas. Principalmente las causadas por bacterias del Sistema Fagocítico Mononuclear. Numerosos estudios han demostrado una mayor efectividad de los tratamientos con Anfotericina B vehiculizada por liposomas para el tratamiento de infecciones fúngicas.
- Transporte de agentes quelantes. Ayudan a que estos penetren en la célula, ya que de otra manera sería mucho más difícil. Se aplican para el tratamiento de intoxicaciones metálicas o problemas metabólicos como la enfermedad de Wilson. Los liposomas suelen acumularse a nivel hepático y esplénico, que son lugares donde también suelen acumularse los metales.
- Tratamiento de procesos inflamatorios. Principalmente para la artritis. Su acumulación dependerá del tamaño del liposoma.
- Tratamiento de enfermedades parasitarias. Ofrecen ventajas frente a las terapias convencionales. Un ejemplo de aplicación sería el tratamiento contra la leishmaniosis.
- Inmunosupresión. A través de la adición de moléculas peptídicas como ciclosporina A o tacrolimus.
- Administración de insulina vía perlingual. Según la línea de trabajos realizados su absorción se produce a nivel del yeyuno.
- Transfección génica. Se observó a través de microscopía atómica la adición de genes sanos vehiculizados por liposomas que se insertan en el núcleo de la célula deseada para corregir un fallo presente, o para obtener una nueva función. En la actualidad podemos observarlo en humanos con la transferencia de un gen de útero en ovarios con adenocarcinoma.
- Citostáticos y modificadores de la cinética de antineoplásicos. Uno de los mayores problemas que tiene hoy día la quimioterapia antitumoral es la resistencia de las células tumorales. De ahí la asociación de diversos citostáticos con liposomas como cisplatino, metotrexato, etc., que mejora esa dificultad existente. Con las modificaciones realizadas conseguimos un aumento de la liberación del fármaco en el tumor. Además de la inhibición de la metástasis con ayuda de inmunomoduladores vehiculizados por liposomas.

Y es en este último punto en el que se centra y desarrolla este Trabajo. La utilización de liposomas como sistemas de vehiculización de fármacos para el tratamiento del cáncer ha avanzado muchísimo desde sus orígenes hasta el día de hoy. Aquí se hablará de diferentes fármacos que han sido utilizados y se utilizan bajo este sistema de vectorización, para tratar diferentes tipos de cáncer.

Retomando algunos aspectos recogidos en anteriores puntos de este Trabajo, vamos a ver su implicación con esta enfermedad, cáncer (Huwlyer et al., 2008):

- Los liposomas producen un gran cambio en la farmacocinética y distribución tisular de fármacos. Por ello pueden provocar tanto una mayor eficacia del fármaco como una disminución de los efectos secundarios o tóxicos de este.

Un ejemplo de esto puede verse en la doxorubicina liposomal, cuyos ensayos clínicos muestran un riesgo de cardiotoxicidad inferior al que muestra el fármaco en su forma libre sin vectorizar, y manteniendo su actividad antitumoral.

- La rápida absorción de los liposomas por el SFM después de ser administrados por vía sistémica puede provocar un efecto negativo en la quimioterapia. Puede producirse parcialmente un agotamiento de los macrófagos y/o afectar a la defensa del individuo por la alteración de sus competencias o habilidades.
- La focalización pasiva de estos en el bazo e hígado puede presentar varias ventajas en cuanto a la quimioterapia temporal:
 - ❖ Aumento en el tiempo de eliminación de los fármacos antineoplásicos en circulación. En unos estudios realizados en 1978 por Juliano y Stamp se observó una presencia en plasma de dos a diez veces superior de fármacos antineoplásicos como vinblastina, actinomicina, arabinósido de citosina y daunomicina o daunorrubicina, formulados por vectorización liposomal que por su forma convencional
 - ❖ La incorporación de inmunomoduladores como citocinas en los liposomas para provocar la activación de macrófagos y convertirlos en tumoricidas.
- La estabilización de liposomas. Como ya se vio anteriormente, hay varios métodos para aumentar la vida media de los liposomas en circulación. Entre ellas la conjugación con gangliósidos o polietilenglicol (PEG). La adición de PEG, inerte y biocompatible, provoca la formación de una cubierta o capa protectora que envuelve al liposoma, protegiéndolo del reconocimiento por anticuerpos y otros componentes del sistema del complemento (opsoninas), y por lo tanto de su eliminación por el SFM. Debido a esto, estos liposomas pegilados reciben el nombre de liposomas “estabilizados estéricamente” o “sigilosos”. El efecto protector y aumento de la vida media será directamente proporcional al revestimiento del liposoma con PEG. Tras la administración sistémica, estos liposomas biocompatibles, inertes y de larga vida media causan pocas interacciones con los tejidos y órganos. No obstante, debido a su tamaño no pueden atravesar los vasos sanguíneos continuos ni fenestrados porque su permeabilidad no admite el paso de moléculas cuyo peso sea mayor al de 5 kDa en tejidos periféricos y 70 kDa en el riñón. Sin embargo, en los tejidos con patologías como tumores sólidos, la permeabilidad vascular se ve aumentada de tal manera que permite el paso de moléculas con un peso de hasta de 4.000 kDa. Estas quedarían atrapadas en el interior del compartimento intersticial o espacio tisular. El aumento del tiempo de vida media en circulación de los liposomas estabilizados estéricamente y sus propiedades únicas en cuanto a permeabilidad del tejido tumoral, explican los estudios clínicos que se están llevando a cabo para su direccionamiento hacia el tejido tumoral, con el objetivo de mejorar los tratamientos de esta enfermedad.

En cuanto al uso clínico de liposomas pegilados (Huwyler et al., 2008) hay que decir que, en la actualidad, las diferentes formulaciones de fármacos quimioterapéuticos citotóxicos en medio liposomal, reducen los efectos secundarios tóxicos a la vez que aumentan su eficacia.

Hoy día existen, o están a disposición clínica, o en fases muy avanzadas de desarrollo clínico, algunos fármacos antineoplásicos entre los que se incluyen: doxorubicina liposomal pegilada, doxorubicina liposomal no pegilada, daunomicina o daunorrubicina liposomal, citarabina o arabinósido de citosina liposomal y cisplatino liposomal.

Las formulaciones liposomales de antraciclinas (doxorubicina y daunomicina o daunorrubicina) se usan para el tratamiento del cáncer de mama, de ovario y del sarcoma de Kaposi asociado con el VIH.

Hay que decir con respecto a las diferencias entre la doxorubicina liposomal pegilada y no pegilada, que la pegilada muestra una mejor actividad antitumoral y un índice de toxicidad mucho menor. Todo esto debido a las ventajas propias de la pegilación mencionadas anteriormente.

La citarabina liposomal es el único fármaco administrado por vía intratecal y se utiliza en el tratamiento de linfomas y leucemias mieloides agudas.

El cisplatino liposomal se usa para tumores malignos epiteliales (Huwyler et al., 2008) y para el cáncer de páncreas (Wharf, 2007).

En el comienzo, los estudios y ensayos clínicos se centraron en las antraciclinas. Esto es debido a que su formulación liposomal era más eficiente y estable. Y sobre todo porque las antraciclinas presentan un alto riesgo de cardiotoxicidad aguda y acumulativa, que provoca cardiomiopatías y limita el uso de estas. En relación con esto, los liposomas juegan un papel fundamental, ya que modifican la farmacocinética del fármaco, evitando altas concentraciones plasmáticas del mismo gracias a su retención y más lenta liberación. Esta formulación liposomal muestra también una menor distribución en el miocardio tras su pegilación. Por lo que se obtendrían muchos beneficios en su formulación liposomal.

Otra aplicación que tienen los liposomas en este campo puede ser su conjugación con vectores (Huwyler et al., 2008). Tenemos el caso, por ejemplo, de la conjugación de liposomas que contenían doxorubicina o daunomicina, con folato. Muchas células tumorales tienen una sobreexpresión del receptor folato en la superficie celular, que provoca o media la endocitosis celular del ácido fólico. Esta conjugación aumentó la efectividad o citotoxicidad contra las células cancerosas de los fármacos antineoplásicos que contenían los liposomas. Aún queda por determinar si se produce un mayor efecto tumoricida al aumentar la acumulación de portadores liposomales en el interior de la célula diana u objetivo. Principalmente, hasta este momento, los intentos de aumentar la velocidad de liberación se basan en la sensibilidad o afectación al pH de las membranas liposomales de péptidos y fosfolípidos adicionados. De tal manera que, en circulación, a pH fisiológico (7.4), su estabilidad no se ve afectada, mientras que al entrar en contacto con el compartimento endosomal, el pH ácido (6.5) produce su liberación (Daraee et al., 2016).

Siguiendo con la conjugación de vectores y liposomas (Huwyler et al., 2008), otro receptor celular que nos ayuda en la focalización y orientación tumoral es el receptor de transferrina. Siendo la transferrina el ligando natural de este receptor, puede aprovecharse para su unión a liposomas pegilados y así mejorar la orientación tumoral, o, dicho de otro modo, conseguir una mayor selectividad de nuestros liposomas por las células cancerosas. Aunque debe tenerse en cuenta el problema de que el receptor transferrina tiene una tendencia a asociarse a los liposomas baja y suele estar saturado por las concentraciones plasmáticas endógenas de esta. Esto provoca que perdamos focalización a la hora de su administración sistémica o intravenosa. No obstante, esto podría solucionarse buscando vías de administración alternativas. Por ejemplo, en un estudio para la terapia fotodinámica de células del carcinoma *in vivo* o *in vitro*, con un modelo de tumor vesical de rara AY-27 humano ortotópico, los liposomas conjugados con transferrinas fueron administrados directamente en la vejiga de estos animales de experimentación, obteniéndose buenos resultados. Otra indicación o uso alternativa podría ser para el tratamiento del cáncer de pulmón. En este caso los liposomas con fármacos citostáticos y conjugados con transferrina podrían administrarse por vía inhalatoria. El problema de la saturación del ligando de la transferrina también podría abordarse desde el punto de vista de la adición de anticuerpos monoclonales específicos.

Para mejorar la orientación tumoral para tumores *in vivo* (Huwyler et al., 2008), pueden aplicarse otras estrategias como el uso de los inmunoliposomas. En ellos se incorporan vectores de anticuerpos específicos del tumor, que se dirijan contra varios receptores superficiales de las células tumorales, como el de la transferrina, o antígenos presentes en ella. También pueden utilizarse anticuerpos monoclonales específicos como se ha nombrado anteriormente. Un ejemplo podría ser la utilización mediante la conjugación de inmunoliposomas estabilizados estéricamente con un fragmento Fab de un anticuerpo monoclonal específico recombinante humanizado que se enfrente a HER2, dominio extracelular, para la focalización de células que sobreexpresen este dominio HER2 en el cáncer de mama. La eficacia de esta estrategia fue corroborada por la utilización de varios modelos tumorales de xenoinjerto animal con preparaciones inmunoliposomales que muestran una mejora en la actividad terapéutica de los agentes anticancerosos (Tang et al., 2020).

En cuanto a la resistencia que presenta el cuerpo a múltiples fármacos y siguiendo como base a (Huwyler et al., 2008), se observa que la utilización de liposomas resulta en una afectación o alteración de la farmacocinética y distribución tisular de los fármacos. Hay que destacar la importancia de dos superfamilias de proteínas transportadoras que afectan en especial a los agentes antineoplásicos. Una de ellas es la familia de proteínas transportadoras de soluto, cuyo impulso es causa del intercambio de iones intracelulares, y que se han clasificado como transportadores secundarios o terciarios de fármacos activos. La superfamilia clasificada como transportadora primaria es la superfamilia del gen transportador ABC humano y que a su vez comprende 8 subfamilias y 49 integrantes. Su energía procede de la hidrólisis de ATP. Un miembro o integrante importante de esta familia es la glicoproteína P. Se sabe que está localizada en diferentes órganos y tejidos del cuerpo humano como hígado, cerebro, riñón o intestino. Esta superfamilia se asocia en las células tumorales a la alteración de los fármacos antineoplásicos como alcaloides de la vinca, antracenos, antraciclinas y derivados de la camptotecina como el topotecán,

etopósido, etc. El tratamiento con agentes citostáticos produce un aumento aún mayor de la glicoproteína P en todos los tumores, que a su vez ya está aumentada en personas con cáncer. La eliminación de este fenómeno de resistencia a múltiples fármacos no es sencilla. Un ejemplo de ello puede verse en la utilización de un antagonista de la glicoproteína P SDZ PSC 833. Este es un análogo no inmunosupresor de la ciclosporina A, que aumenta la efectividad de la quimioterapia sobre los tumores. Pero a su vez, produce un aumento de los efectos tóxicos secundarios en el tejidos u órganos sanos. Todo esto se debe a la disminución de la glicoproteína P endógena, que tiene una función de protección sobre este tipo de tejidos. Para poder solucionar este problema entra en juego el uso de inmunoliposomas. Estos consiguen evitar a los transportadores que se encuentran en las membranas plasmáticas. Esta ventaja pudo demostrarse mediante el uso de la conjugación de un anticuerpo antirreceptor de transferrina y un inmunoliposoma, que mostró el aumento de digoxina absorbida de esta manera por las células RBE4 endoteliales, frente a su forma libre. También mostraron efectos mejorados en los citostáticos empleados mediante la conjugación de un inmunoliposoma y un anticuerpo monoclonal específico de la glicoproteína P, en aquellos tumores con sobreexpresión de esta.

Los inmunoliposomas también ofrecen ventajas en la terapia de genes (Huwlyer et al., 2008). Convencionalmente, esta terapia conllevaba una serie de problemas como eran la floculación y precipitación de grandes agregados catiónicos de lípidos y ADN cuando alcanzan su punto isoelectrónico. Experimentos realizados en este siglo muestran la superación de estos problemas en la transmisión de un plásmido de ADN a primates y roedores, mediante el uso de inmunoliposomas pegilados. Frente a los liposomas catiónicos utilizados tradicionalmente, presentan una mayor estabilidad, duración y neutralidad, lo que permite evadir el atrapamiento pulmonar que se producía. Al aumentarse de este modo la selectividad, se consigue una opción para la utilización de la terapia génica más segura y no infectiva sobre otros órganos o tejidos sanos. Utilizando inmunoliposomas pegilados asociados a dos anticuerpos monoclonales, se consiguió en un ensayo clínico el aumento en un 90 % del tiempo de vida de supervivencia de ratones con cáncer cerebral intracraneal avanzado.

En cuanto a la aplicación de estos inmunoliposomas conjugados con vectores (Huwlyer et al., 2008), se hicieron ensayos clínicos en los que se desarrolló una formulación inmunoliposomal anti-HER2. Mutsumura y sus colaboradores han publicado el ensayo clínico realizado con inmunoliposomas pegilados que encapsulaban doxorubicina a 23 personas que padecían cáncer de estómago avanzado, que no respondían a la terapia convencional. De un anticuerpo monoclonal humano, se sacó el fragmento F para usarse como vector de direccionamiento, adicionado directamente a la superficie del liposoma pegilado sin espaciador molecular, contra un antígeno presente en la superficie de las células cancerosas. Aún queda por establecer con los futuros estudios si la formulación presentada, podría aportar mejoras o avances en el tratamiento del cáncer gástrico.

5. Conclusiones

Como se ha podido comprobar, y recoge también Huwyler y sus colaboradores (Huwyler et al., 2008), durante los últimos años los avances en el campo de la administración de fármacos mediante liposomas han sido enormes. En gran parte ayudados por la tecnología y sus propios avances. El objetivo actual no es otro que el desarrollo de nuevos liposomas conjugados con vectores para que sirvan de portadores de fármacos con un mayor direccionamiento activo hacia las células cancerosas y metastásicas que actualmente pueden ser quimiorresistentes, con la intención de lograr una mayor eficiencia del tratamiento terapéutico de casos que hoy día no pueden abordarse o solucionarse. Está claro que la tecnología y la ciencia van de la mano, y cuanto mayores avances se consigan en una de ellas, más se avanzará en la otra.

La preparación de liposomas biocompatibles y las ventajas de su utilización en la terapia contra el cáncer es un campo de investigación muy activo. Este Trabajo Fin de Grado solo recoge algunos de los múltiples aspectos que existen sobre esta cuestión. Se ha intentado poner de manifiesto que los numerosos ensayos clínicos que se están realizando actualmente, los proyectos que pretenden llevarse a cabo y los avances que se conseguirán en el futuro, proporcionarán ventajas y mejoras en el tratamiento del cáncer, lo que aumentará su eficacia terapéutica.

6. Bibliografía

- ¿Qué es el Cáncer? ¿Cómo se Desarrolla? | AECC. n.d. <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/que-es-cancer> (accessed April 16, 2020).
- Arbizu JP, Pedro J, López A. Suplemento 1 Servicio de Oncología. vol. 24. 2000.
- Arévalo LM, Yarce CJ, Oñate-Garzón J, Salamanca CH. Decrease of antimicrobial resistance through polyelectrolyte-coated nanoliposomes loaded with β -lactam drug. *Pharmaceuticals* 2019;12:1–11. <https://doi.org/10.3390/ph12010001>.
- Clares Naveros B. Sistemas de transporte y liberación de fármacos de aplicación tópica: liposomas multilaminares portadores de acetato de triamcinolona. 2003.
- Daraee H, Etemadi A, Kouhi M. Application of liposomes in medicine and drug delivery. *Samira Alimirzalu & Abolfazl Akbarzadeh* 2016;44:381–91. <https://doi.org/10.3109/21691401.2014.953633>.
- De F, Químicas C, Ruano M, Directores A, Ortega F, Ramón G, et al. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID TESIS DOCTORAL Fabricación de liposomas y de cápsulas poliméricas MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR 2013:359.
- Fernando Barrachina. *EducaFarma* 3.0. *Liposomas* 2015:25–7.
- Fosfatidilcolina - Wikipedia, la enciclopedia libre. n.d. <https://es.wikipedia.org/wiki/Fosfatidilcolina> (accessed April 3, 2020).
- Huwlyer J, Drewe J, Krähenbühl S. Tumor targeting using liposomal antineoplastic drugs. *Int J Nanomedicine* 2008;3:21–9. <https://doi.org/10.2147/ijn.s1253>.
- Kim S, Martin GM. Preparation of cell-size unilamellar liposomes with high captured volume and defined size distribution. *BBA - Biomembr* 1981;646:1–9. [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(81\)90264-9](https://doi.org/10.1016/0005-2736(81)90264-9).
- LIPOSOMAS « NANOFARMACOLOGÍA y NANOMEDICINA. n.d. <https://nanofarmacomedicina.wordpress.com/2017/04/14/titulo-de-la-entrada-de-blog/> (accessed March 26, 2020).
- Navarro G, Cabral P, Malanga A, Savio E. Diseño de liposomas para el transporte de diclofenac sódico. *Rev Colomb Ciencias Químico - Farm* 2008;37:212–23.
- Pros and cons of the liposome platform in cancer drug targeting. - PubMed - NCBI. n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=pros+and+cons+of+the+liposomes+platform+in+cancer+drug+targeting> (accessed April 16, 2020).
- Rojas-Aguirre Y, Aguado-Castrejón Israel González-Méndez K. Química La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer? PALABRAS CLAVE. *Educ Química* 2016;27:286–91. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.07.002>.
- Selene Barrón Ramírez B, Alvarado Aguilar S, Brenda Selene Barrón Ramírez P. Desgaste Físico y Emocional del Cuidador Primario en Cáncer. vol. 4. 2009.
- Tang H, Rui M, Mai J, Guo W, Xu Y. Reimaging biological barriers affecting

distribution and extravasation of PEG/peptide- modified liposomes in xenograft SMMC7721 tumor. *Acta Pharm Sin B* 2020;10:546–56.
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.06.011>.

Torrelló M, Viscasillas A, Del Pozo A. Liposomas (I). Conceptos generales y relación con las estructuras cutáneas. *Offarm* 2002;21:188–90.

Vasquez ML. Desarrollo y caracterización de liposomas para aplicación tópica de fármacos 2015:181.

Wharf C. cisplatin (liposomal) for the treatment of pancreatic cancer 2007;000:30–3.