

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

ESCUELA DE FARMACIA

**ANÁLISIS DE UNA ALTERNATIVA FARMACOLÓGICA A
PARTIR DE LA ENCAPSULACIÓN EN LIPOSOMAS DE
CIPROFLOXACINA, COMO FORMULACIÓN ANTIBIÓTICA
RESPECTO A FORMULACIONES TRADICIONALES**

MODALIDAD DE TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIATURA EN FARMACIA

AUTOR: VALESKA PÉREZ ARAUZ

TUTOR: LUIS DIEGO BRENES VARGAS

SEDE ARANJUEZ

AGOSTO, 2019

Contenido

Dedicatoria y Agradecimiento	7
Resumen	8
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	9
Planteamiento del problema	9
Objetivos	11
Objetivo general	11
Objetivos específicos.....	11
Justificación.....	12
Antecedentes	13
Proyecciones.....	21
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	22
Farmacia	22
Farmacología.....	22
Fármaco	23
Medicamento.....	24
Antibióticos	25
Triángulo de Davis	30
Resistencia a los antibióticos.....	31
Disminución de las concentraciones intracelulares del antibiótico.....	32
Modificación del sitio blanco del antibiótico	33
Inactivación del antibiótico	34
Clasificación de los antibióticos por su mecanismo de acción	35
Inhibidores de la síntesis de la pared celular.....	35
Inhibidores de la síntesis proteica bacteriana.....	36
Antibióticos que actúan sobre el núcleo bacteriano.....	38
Quinolonas.....	39
Nanotecnología.....	47
Nanomedicina.....	49
Encapsulación.....	50
Factores limitantes.....	51

Nanopartículas.....	52
Dendrímeros	53
Micelas poliméricas.....	53
Nanotubos de carbono.....	54
Liposomas	54
Componentes.....	59
Tipos de liposomas.....	67
Liberación liposomal.....	69
Métodos de preparación.....	71
Clasificación de los liposomas.....	82
Aplicaciones de los liposomas.....	84
Vías de administración liposomal.....	87
Esterilización de liposomas.....	90
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	91
Enfoque de la investigación	91
Diseño de la investigación.....	92
Categorías de análisis	93
Técnicas de recolección de datos	94
Criterios de inclusión y exclusión	95
Recolección y análisis de información.....	96
CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS	97
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	121

Tablas

Tabla 1. Quinolonas por generación, representantes y espectro de actividad.....	41
Tabla 2. Mecanismos de resistencia a quinolonas y sus características.....	46
Tabla 3. Microorganismos bacterianos sensibles a ciprofloxacino (actividad antimicrobiana in vivo e in vitro).....	47
Tabla 4. Definiciones de niosoma, etosoma, invasoma.	87
Tabla 5. Definiciones de las unidades de análisis	93
Tabla 6. Composición y resultado de liposomas obtenidos por diversos métodos.	106
Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos in vitro, en ratones tratados con ciprofloxacina. ..	109
Tabla 8. Eficacia de ciprofloxacina oral y liposomal contra <i>F. tularensis</i>	110
Tabla 9. Datos de Pulmoquín en estudio.....	115
Tabla 10. Resumen datos más relevante de ciprofloxacina vs ciprofloxacina liposomal. .	119
Tabla 11. Eficacia de CPI ante signos clínicos en ratones infectados con <i>C. burnetii</i>	120

Figuras

Figura 1. Clasificación general de los antibióticos	26
Figura 2. Pared celular bacteriana de gramnegativas y grampositivas	29
Figura 3. Pasos de la tinción de Gram.....	30
Figura 4. Triángulo de Davis.....	30
Figura 5. Ribosoma de una célula procarionte	36
Figura 6. Esquema de mecanismo de acción de antibióticos que actúan inhibiendo síntesis proteica bacteriana.....	37
Figura 7. Esquema de mecanismo de acción de la combinación de sulfamidas y trimetopina.	39
Figura 8. Estructura moléculas del ácido nalidíxico, cloroquina y norfloxacin.	40
Figura 9. Principales tipos de nanopartículas.....	53
Figura 10. Estructura del liposoma.	55
Figura 11. Representación gráfica de (a) molécula anfifílica, (b) conformación de bicapa lipídica y (c) formación de un liposoma.	56
Figura 12. Estructura, disposición y empaquetamiento de ácidos grasos.	63
Figura 13. Estructura tridimensional y esquemática de acilglicerol.	64
Figura 14. Estructura química de glicero-3-fosfato.....	65
Figura 15. Estructura tridimensional y esquemática de un esfingolípido.	65
Figura 16. Estructura molecular del Colesterol y modelo de proyección tridimensional (H, C y O de color blanco, gris y rojo respectivamente).	66
Figura 17. Mecanismo de liberación de sustancias transportadas por liposomas hacia la célula.	71
Figura 18. Algunos extrusores disponibles en el mercado. (a) Lipex varían según la capacidad, (b) Avanti (mini extrusor) y (c) Nano sizer mini.....	74
Figura 19. Modelos de sonicadores marca Fisher.	74
Figura 20. Método de preparación por dispersión simple (método Bangham).	76
Figura 21. Método de preparación por dispersión simple.	77
Figura 22. Método de dispersión simple para obtener MLV, A partir de ellos, el método de extrusión para obtener SUV o el método de sonicación A homogeneización para obtener LUV	78

Figura 23. Método de preparación por evaporación en fase reversa.....	80
Figura 24. Clasificación de los liposomas.....	82
Figura 25. Principales mecanismos descritos de los liposomas para la aplicación tópica de fármacos.....	88
Figura 26. (A) Mecanismo de fármaco libre, (B) mecanismo de mejora en la permeación, (C) mecanismo de adsorción o fusión de las vesículas al estrato corneo y (D) mecanismo de permeación apendicular.....	88
Figura 27. Resumen método de Bangham.....	99
Figura 28. Resumen método de sonicación 2.....	101
Figura 29. Resumen método carga activa.....	103
Figura 30. Resumen método de sulfato de amonio.....	104
Figura 31. Resultados de muestra de los grupos B y C.....	118
Figura 32. Valores de AUC en pulmón y plasma.....	119

Dedicatoria y Agradecimiento

Quiero agradecer a Dios Padre por darme salud y la oportunidad de estudiar, por permitirme a pesar de los obstáculos y distracciones mantenerme en el estudio para finalmente culminar mi carrera profesional con éxito. Un agradecimiento muy especial a mi mamá María, quién me ha apoyado y orientado a lo largo de estos años y sin la cual esto no habría sido posible llegar a donde me encuentro hoy; a mi familia por estar a mi lado siempre, por creer en mi y apoyarme.

Agradezco profundamente a mi tutor de trabajo final de graduación quién me oriento, corrigió y aconsejo para lograr realizar una investigación acorde a una licenciatura, además de haber sido un docente con mucho conocimiento del cual me brindó un poco durante el transcurso de la carrera, pero en especial por creer en este proyecto y ayudarme a hacerlo realidad.

Resumen

El tema de este trabajo final de graduación lleva por nombre “Análisis de una alternativa farmacológica a partir de la encapsulación en liposomas de ciprofloxacina, como formulación antibiótica respecto a formulaciones tradicionales”, cuyo objetivo consistió en el análisis a partir de la encapsulación de ciprofloxacina en liposomas respecto a formulaciones del mismo antibiótico sin encapsulación liposomal para una mejor respuesta al medicamento, esto a partir de estudios in vivo e in vitro en sujetos infectados por microorganismos causantes de enfermedades pulmonares para determinar su eficacia como parte de uno de los objetivos específicos.

Además otro objetivo consistió en investigar acerca de las características de los liposomas que se obtienen al utilizar diversos métodos de fabricación, en donde los componente empleados fueron prácticamente los mismos; como último objetivo específico fue contrastar las principales diferencias de estudio de la respuesta ante formulaciones de ciprofloxacino en liposomas frente a placebo o formulaciones orales, todos estos objetivo en busca de responder la siguiente interrogante: ¿Se considera como alternativa farmacológica la encapsulación en liposomas de ciprofloxacino respecto de formulaciones tradicionales para optimizar la respuesta al antibiótico?.

Los criterios de inclusión y exclusión llevaron a seleccionar aquellos estudios que posean una metodología de fabricación de liposoma clara junto con los componentes bases utilizados, también aquellos estudios realizados en sujetos (animales o personas) con alguna enfermedad pulmonar, causada por una bacteria sensible a este antibiótico, además aquellos que muestren una respuesta favorable a la formulación en liposomas de ciprofloxacino medida frente a placebo o ciprofloxacina vía oral, todos estos no debían exceder los cinco años de haberse efectuado.

Finalmente se llega a la conclusión que ciprofloxacino cargado en liposomas muestra una mejor eficacia ante diversos microorganismo respecto a formulaciones tradicionales, a su vez el tipo de liposoma que se obtiene dependerá de la composición y cantidad de lípidos utilizados en cualquier método empleado además la respuesta a esta formulación en liposoma muestra mejores resultados respecto a placebo o a formulaciones con el mismo antibiótico sin encontrarse en liposomas. A manera de recomendación se insta a investigar formulaciones de otras quinolonas para conocer la eficacia que provee e inclusive la seguridad o toxicidad que se pueda relacionar al utilizar sistemas liposomales como medios de transporte.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

Los medicamentos son herramientas vitales en el área de salud, ya que contribuyen a la recuperación de pacientes ante diversas enfermedades o patologías, se utilizan varios grupos farmacológicos para ayudar a la recuperación de los síntomas del paciente, si se habla específicamente de padecimientos causados por microorganismos bacterianos, los antibióticos son parte del tratamiento por emplear, esto debido a sus propiedades y accionar terapéutico, según Moreno y otros “cada día mueren en el mundo más de 40,000 personas víctimas de enfermedades infecciosas, la mayoría en los países en vías de desarrollo”(p.84), desde su aparición han permitido disminuir la morbimortalidad asociada a infecciones bacterianas de forma muy significativa; estos agentes terapéuticos al igual que otro medicamento aportan beneficios y también presentan efectos adversos que pueden variar en su frecuencia de aparición.

Dentro de las reacciones adversas relacionadas al medicamento pueden provocar más síntomas que afecten la salud del paciente mientras se recupera de la infección o la aparición de nuevas molestias, o en el caso específico al tratarse de antibióticos dependiendo del subgrupo al que pertenezcan pueden llegar a ser tóxicos aún en sus dosis terapéuticas, este aspecto es uno de los que se deben considerar y valorar la relación riesgo-beneficio al indicarse como tratamiento según la evidencia que presenten en su utilización previa, además en ciertas ocasiones debido a la cinética del medicamento según como se administre no toda la dosis llega a generar un efecto sino solo aquella que logre acceder al sitio específico de infección.

Todos estos efectos podrían llegar a disminuirse si se implementara tecnología, según Invernizzi *et al* (2015) “la aplicación de la nanotecnología al campo médico es muy promisorio. Hay tres áreas donde su desarrollo es inminente: terapia, diagnóstico y medicina regenerativa” (p.11) su implementación es mayor y prometedora, en cuanto su utilización en terapia esta se aplica a los medicamento en el proceso de liberación para acceder al lugar determinado dentro del organismo, en lugar de circular indistintamente por todo el torrente sanguíneo interfiriendo en procesos fisiológicos lo que provoca diversas alteraciones como los famosos efectos adversos.

Según datos recopilados en 2015 por Invernizzi *et al* “el principal tópico de investigación de estos grupos corresponde a publicaciones de: terapias, fármacos y vacunas cubriendo 56.4 % de todos los grupos”(p.15) esto según datos recopilados de publicaciones en Latinoamérica, indica que existe un importante caudal de equipos de investigación y artículos producidos en el campo de la nanomedicina, lo cual muestra que muchas de las actuales investigaciones incorporarán temas relacionados con la salud humana, especialmente el desarrollo de drogas, vacunas y terapias; además recientemente en 2018 según Espinoza, Cano, Cuadros, y Olivera en su recopilación de datos nanotecnológicos, “el sector salud ocupa el segundo lugar con el mayor número de productos de nanotecnología, Estados Unidos, Alemania y China son los principales productores.” (p14) se evidencia que conforme al paso de los años la aplicación de la nanotecnología aumenta, a través del desarrollo de nanopartículas y nanosistemas.

Ahora bien en varias investigaciones como en la de Chono *et al* (2018) recalcan a los liposomas considerados como sistemas que pueden ser absorbidos por las células y que permitan la entrega de antibióticos al sitio intracelular de la infección, como tal no se cuenta con ninguna formulación aprobada, únicamente dos desarrolladas por Arandign corporation, las cuales son constantemente empleadas en los pocos estudios de análisis de eficacia, seguridad o en fases de desarrollo, ante patologías o agentes específicos, sin embargo los estudios no se extienden por períodos largos que permitan conocer todos los parámetros necesario para la aprobación y utilización, por ello se debe continuar investigando en este campo y con este antibiótico que alcanza concentraciones altas y comportamiento farmacocinético que permite mejores resultados (p.76).

Una de las formas en que se puede implementar es mediante la encapsulación en nanopartículas en liposomas, que permitan transportar fármacos que accedan al sitio de infección o en el que se encuentre la bacteria causante, los liposomas, a través del cual podrían obtener ventajas o mejoras en el accionar del medicamento, ya que al tratarse de microorganismo vivos que se encuentran dentro de un individuo, estos también poseen mecanismos de defensas por lo que si mayor cantidad de fármaco logra llegar hasta este podría eliminarse a la bacteria en un menor tiempo, por ello se plantea las siguientes interrogantes. ¿Se considera como alternativa farmacológica la encapsulación en liposomas de ciprofloxacino respecto de formulaciones tradicionales para optimizar la respuesta al antibiótico?.

Objetivos

La investigación del análisis de una alternativa farmacológica a partir de la encapsulación en liposomas de ciprofloxacina, como formulación antibiótica respecto de formulaciones tradicionales, se desarrollará a partir de un objetivo general del cual surgen tres objetivos específicos, analizando información obtenida de diversos artículos científicos, estos objetivos son los siguiente:

Objetivo general

Analizar una alternativa farmacológica a partir de la encapsulación de ciprofloxacina en liposomas respecto a formulaciones del mismo antibiótico sin encapsulación liposomal para una mejor respuesta al medicamento.

Objetivos específicos.

Describir la composición y el tipo de liposomas que son obtenidos por diferentes tipos de métodos en formulaciones antibióticas liposomales in vivo.

Determinar la eficacia de ciprofloxacina liposomal inhalada, ante diversos patógenos causantes de infecciones pulmonares, en estudio in vivo e in vitro.

Contrastar la respuesta in vivo ciprofloxacina liposomal encapsulada respecto de placebo o formulaciones orales de ciprofloxacina.

Justificación

Las investigaciones de nanotecnología dirigidas a confirmar el posible potencial de diversas nanopartículas aplicables en el campo de salud son de gran conveniencia, ya que demuestran, como estas contribuyen y sirven de evidencia que respalde la utilización de este tipo de sistemas, así lo menciona Ruano (2013) “se ha aplicado la nanotecnología a la biotecnología, donde se engloba el estudio de biotransportadores para liberación controlada de fármacos, para optimizar su biocompatibilidad (p.16)”, se opta por fomentar el desarrollo y análisis de investigaciones, en donde se pone a prueba de manera in vivo e in vitro, para demostrar la gran utilidad que poseen en el campo de salud, como en farmacia, en donde se implementan principalmente como sistemas de transporte y liberación o biotransportadores de medicamentos e inclusive otros aplicaciones.

Es una nueva herramienta que llevará a mejorar los resultados obtenidos hasta el momento, estas exponen la capacidad que presentan las nanopartículas sirviendo de manera substancial para el posible desarrollo farmacológico, así lo ha visualizado una corporación llamada Aradigm ya que cuenta con varios estudios de fase 2 y fase 3 de dos formulaciones que desarrollaron de un antibiótico en liposomas; es un tema con un amplio potencial de impacto, ahora bien el origen de dichas investigaciones se debe al avance que ha tenido la nanotecnología dentro de campo de farmacia, su importancia reside en la posibilidad del transporte de sustancias activas, en este caso, fármacos hacia la parte del organismo afectada o por lo menos esa es la meta, dentro de los distintos tipos de nanopartículas en específico se encuentran los liposomas y son uno de los cuales se les considera totalmente viables de servir como medio de transporte.

El conocimiento de esta información debería extenderse a aquellos profesionales en salud que se dediquen al desarrollo e investigación de sistemas empleados en formulaciones de diversos agentes terapéuticos, en vías de mejorar su perfil farmacológico, lo que prevé de un método de transporte, en pro de la utilización de tecnología, orientado a mejorar la eficacia terapéutica y la disminución de los efectos secundarios, en el futuro se podrá disponer de nuevos fármacos y también de nuevos dispositivos o el desarrollo de formulaciones que utilicen mejores sistemas de transporte y liberación como los liposomas, esto unido al desarrollo de las técnicas de diagnóstico molecular nos permitirá tratar precozmente, a nuestros pacientes optimizar la administración de diversos medicamentos y conseguir un aumento en la adherencia terapéutica, lo que redundará en un mejor control de estos pacientes.

Antecedentes

Aunque la mayoría de profesionales en salud de varias áreas conoce el aporte de los antibióticos debido a la formación académica y laboral respecto de su vital uso ante infecciones bacterianas, el poder contar hoy con este tipo de agentes terapéuticos fue gracias a la constante investigación realizada por diferentes personajes que se plantearon inquietudes, así como desafíos en diversas áreas de la ciencia, hasta que años después en varias partes del mundo dieron frutos hacia la inducción de los primeros antibióticos conocidos, sin embargo hasta aquel entonces solo tenía en mente el obtener antibióticos con mejores espectro o actividad bactericida, inicialmente en el año 1928, Fleming logró su principal descubrimiento que cambiaría la historia de la terapéutica, se encontraba estudiando una bacteria y en su observación según Belloso (2002) “pudo demostrar que el hongo (*Penicillium*) producía una sustancia capaz de difundir a través del agar y de lisar la bacteria”, a pesar que no fue planeado descubrió el primer antibiótico sin tenerlo en mente, al cual llamó penicilina.

De ahí en adelante, se fueron desarrollando estos agentes, ahora bien, en cuanto a los inicios de la nanotecnología; se ha visualizado como un aliado al desarrollo aplicable en muchas áreas, si se enfoca respecto su uso en el campo de salud, es una actividad que es fuertemente interdisciplinaria, ya que involucra bases de: física, química, biología, medicina e ingeniería, todas estas orientadas en pro de mejorar e innovar; aunque pareciera existir una correlación positiva entre nanotecnología y desarrollo, la relación entre ambos no es directa ni simple, ya que para poder adaptarse a una nueva tecnología demanda una serie de condiciones principalmente económica y de conocimiento, así como la capacidad de asimilar y usar la tecnología según el campo que se desea explorar; otra cuestión relevante es que la nanotecnología y sus productos deben atravesar el mercado, por ello algunas innovaciones han permitido obtener diferentes tipos de partículas o sistemas utilizados en la industria farmacéutica dentro de estos, se encuentran los liposomas.

Desde su descubrimiento los liposomas han sido ampliamente utilizados como modelos de membrana, con posterioridad, ha aumentado el interés por su utilización como sistemas de transporte, esto en el campo farmacéutico, es de gran relevancia ya que los sistemas de transporte utilizados en la producción de medicamentos ha transcurrido por diferentes fases, en relación con el progreso científico, que han tenido a través de los años.

Según las necesidades terapéuticas y la situación económica así como sanitaria, por lo que la implementación de este tipo de sistemas permite abrir una nueva oportunidad por desarrollar y analizar los beneficios u posible optimización que pueden proveer; según Bangham citado por Dolores y Begoña “los liposomas fueron descubiertos en el año 1965 por Bangham y colaboradores” (p.133), este grupo de investigadores observaron la distribución de este tipo de partículas, que componen a los liposomas y destacaron su comportamiento, conformación y principales características, a través del método que utilizaron para obtenerlas, el llamado método de Bangham, a partir de su descubrimiento las formulaciones liposomales han sido investigadas durante casi medio siglo, ha inspirado exploraciones para nuevos sistemas de administración de liposomas y ha generado varios productos, así como numerosos ensayos clínicos

Como uno de los primeros precedentes de encapsulación de antibióticos en sistemas liposomales se encuentra una investigación realizada en 1987 con la encapsulación de rifapentina y amikacina para la eliminación de una bacteria el cual fue realizado por tres investigadores Bermudez, Wu y Young en San Francisco, este hecho realizado ya hace varios años sirve de evidencia del inicio de investigaciones debido al potencial que se alude a los liposomas, como sistemas de encapsulación de medicamentos, ellos trataban de incorporar ambos antibióticos ya que buscaban probar la capacidad de la rifapentina y amikacina; encapsulada en liposomas, solos y en combinación.

La combinación de ambos se realizaba para matar el complejo de *Mycobacterium avium* en macrófagos humanos cultivados, para después compararlo con resultados obtenidos de experimentos con amikacina libre; de esta manera estos investigadores vieron en los liposomas un vehículo; en esta investigación demostrando mediante sus resultados una mejor concentración inhibitoria alcanzada al utilizarse la encapsulación liposomal; posterior surgen más investigación variando la vía, parámetros por medir o microorganismo y/o enfermedad por tratar así como el medicamento por encapsular.

Para el año 2003 formulaciones de ciprofloxacina en liposomas daba sus primeros pasos en un artículo en donde se llevo a cabo la administración de ciprofloxacina en liposomas contra la infección intracelular de *Francisella tularensis*, esta se encapsuló en pequeñas vesículas unilamelares cuyos resultados sugirieron que la encapsulación con liposomas de ciprofloxacina

mejora la administración del fármaco, al sitio primario de la infección y produce un aumento de la eficacia terapéutica contra *F. tularensis*, se evaluaron como posibles terapias para la infección con *Y. pestis*, en un modelo murino de la peste neumónica, con dosis similares a las humanas de aerosol o intraperitoneal de ciprofloxacino se administraron a las 24 h (profilaxis representan) o 42 h (que representan tratamiento) después de la exposición al patógeno, las tres terapias proporcionan un alto nivel de protección cuando se administra 24 h después de la exposición.

En este mismo año (2003), se llevó a cabo una tesis doctoral por Beatriz Clares Naveros en la Universidad de Granada titulado sistemas de transporte y liberación de fármacos de aplicación tópica: liposomas multilaminares portadores de acetónido de triamcinolona, cuyo objetivo era intentar mejorar la biodisponibilidad del fármaco mediante la encapsulación en liposomas y facilitar así su penetración en diferentes barreras anatomofisiológicas, prolongando la dosis efectiva del mismo en el lugar de acción (dermis y epidermis).

Para la síntesis de los liposomas como menciona Clares (2003), se implementó el método de bangham y se caracterizaron por medio de una tinción negativa, además se estudió la liberación in vitro del acetónido de triamcinolona, en cuanto a sus conclusiones logró observar mediante un microscopio la formación de múltiples capas concéntricas de fosfolípidos (liposomas multilaminares) así como el grado de captación y realizó estudios de estabilidad; en cuanto a los estudios in vitro logró incorporar el fármaco junto con excipientes en la formulación liposomal en crema sin embargo no se logró liberar al 100% en un lapso de dos semanas (p106).

En cuanto a estudios, que implemente la utilización de liposomas con ciprofloxacino los autores Budai *et al* en el año 2007 realizaron un estudio titulado, los geles y liposomas en la administración de fármacos ocular optimizado: estudios sobre formulaciones de ciprofloxacino, en donde básicamente desarrollaron formulaciones de gel basadas en liposomas para minimizar la dilución lagrimal que se da en el ojo, un objetivo a largo perseguido en oftalmología. Propiedades fisicoquímicas fueron estudiados por espectroscopia electrónica así como sus interacciones moleculares en las formulaciones oftálmicas; estos autores llegaron a la conclusión, de que obtuvieron mejores características reológicas y liberación prolongada por el uso de la formulación liposomal en el sitio de acción.

Posterior en el 2010 el autor Mohamed Hosny procedente de Egipto, realizó una investigación cuyo propósito de estudio fue preparar y caracterizar una formulación de hidrogel liposomal de liberación prolongada efectiva y que contenga ciprofloxacina, con el fin de mejorar la biodisponibilidad oftalmológica de los fármacos y prolongar la acción terapéutica, se propuso la introducción de nuevos sistemas de administración como los liposomas, estos se prepararon utilizando la técnica de evaporación de pH inverso.

Posterior, para determinar la eficiencia de encapsulación se centrifugaron y se sonificaron para finalmente determinar espectrofotométricamente a una longitud de onda de 273 nm posterior a ello se llevó la preparación y liberación in vitro de ciprofloxacina a partir de hidrogel liposomal en conejos albinos, finalmente concluyó que la formulación de ciprofloxacina como hidrogel liposomal proporcionará la máxima disponibilidad visual, a través de la córnea de conejo albino y que la dispersión de los liposomas en la matriz de hidrogel garantiza una liberación constante y prolongada, y una mayor permeabilidad transcorneal.

Otras investigaciones para finales del año 2012, mediante un artículo titulado “sistemas de administración de fármacos liposomales: desde el concepto hasta las aplicaciones clínicas” realizado por los autores Alley y Cullis amplían un poco más acerca de la aplicación de los liposoma en diversas área de salud, así lo exponen: “aplicaciones tan diversas como tumores de imágenes y sitios de infección, para la administración de vacunas y medicamentos genéticos, para el tratamiento de infecciones y para el tratamiento del cáncer, para enfermedades pulmonares y para afecciones de la piel” (p.42); esto hace referencia a utilidades de los liposomas de no solo limitarse a actuar en conjunto con medicamentos sino que también en otros campos que buscan la prevención y tratamiento de distintas enfermedades.

La contribución de sistemas liposomales podría desempeñar un rol que complemente una opción realmente favorable para el paciente, este artículo publicado no consistía en un estudio sino en la recopilación de información de las aplicaciones, sin embargo, también comentan acerca el diseño, liberación, combinaciones, formulaciones multifuncionales; temas que hacen referencia a los liposomas presentes en el mercado, en donde estas nanopartículas lipídicas son uno de los primeros sistemas de administración de nanomedicina para pasarla de la concepción a la aplicación

clínica, y ahora son una plataforma tecnológica establecida, con una aceptación clínica considerable, de los cuales se puede esperar muchos más productos clínicos en el futuro.

Al siguiente año (2013) surgieron más investigaciones más la primera de ellas de Serrier *et al*, en donde sacaron un artículo original titulado “ciprofloxacina liposomal de inhalación doble en la bronquiectasia no quística de fibrosis (ORBIT-2): un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo”, estos investigadores provenientes de Australia deciden optar por la administración de antibióticos antipseudomonales por inhalación, trabajando específicamente, con aquellos que contienen ciprofloxacina liposomal, formulada para optimizar la administración de antibióticos en las vías respiratorias; consistió en un ensayo multicéntrico, aleatorio, doble ciego de 24 semanas en 42 pacientes adultos con bronquiosis y con *P. aeruginosa* sensible al antibiótico, los sujetos recibieron ya sea ciprofloxacina liposomal o placebo en tres ciclos de tratamiento de 28 días y posterior descanso; los resultados mostraron un cambio en el esputo y los resultados finales se enfocaron en la seguridad y tiempo hasta la primera exacerbación pulmonar.

Como resultado neto en el estudio de Serrier *et al*, (2013), la ciprofloxacina liposomal fue bien tolerada, con una incidencia similar de eventos adversos sistémicos en el grupo de placebo, pero con menos efectos adversos pulmonares esto los llevó a concluir que la formulación demostró una potente eficacia microbiológica en adultos frente a *P. aeruginosa* sensible al antibiótico, además de haber sido bien tolerado y de retrasar el tiempo de la primera exacerbación pulmonar en la población por protocolo; en este estudio ya vemos propiamente resultados prometedores respecto a la utilización en humanos de este tipo de nanopartícula ya cargada con un agente terapéutico implementándose en una fase de estudio 2, en un prometedor camino a mejorar formulaciones de medicamentos ya existentes (p.812).

También en ese mismo año otros autores que acompañan a Liu indican junto a él que “los liposomas han demostrado ser un sistema de administración prometedor para varios medicamentos antimicrobianos, incluidos los antibióticos” (2013, p1), esto lo plantean en su investigación de la evaluación *in vitro* e *in vivo* de liposomas de ciprofloxacina para administración pulmonar, como se indica este estudio es muy similar al mencionado con anterioridad; esos autores tenían como objetivo estudiar liposomas de ciprofloxacina, específicamente, la alta eficiencia de encapsulación con propiedades físicas óptimas para la administración pulmonar y probar su potencial *in vivo* en

ratas, estos liposomas se prepararon por medio de gradiente del método de sulfato de amonio, la eficiencia de encapsulación se calculó mediante espectrofotometría ultravioleta.

En cuanto a la farmacocinética y distribución pulmonar, se estableció el método HPLC (de sus siglas en inglés de cromatografía líquida de alta eficiencia) para determinar la concentración de ciprofloxacina en plasma de rata y tejido pulmonar, como parte de los resultados más relevantes tuvo una eficiencia de encapsulación de 93,96 %, y un tamaño de partícula promedio de 349,6 **nm**, mientras que la biodisponibilidad relativa fue del 72,42%; esos investigadores llegaron a la conclusión, que el liposoma de ciprofloxacina para administración pulmonar ofrece una alternativa activa capaz de administrar altas concentraciones de un antibiótico directamente en el sitio objetivo, al tiempo que minimiza la irritación local; este estudio refuerza la idea de atribuir propiedades que apuntan ser muy prometedoras y reafirmar obtener buenos resultados.

En la Universidad Complutense de Madrid se llevó a cabo una tesis doctoral a cargo de Marta Ruano Aldea con el título: Fabricación de liposomas y de cápsulas poliméricas, cuyo objetivo era la fabricación de liposomas en un radio aproximadamente de 100 **nm** y su recubrimiento con la técnica capa sobre capa, con polielectrolitos y nanopartículas de distinta naturaleza y de microgeles, sensibles a pH y temperatura, recubiertos con la misma técnica anterior otro objetivo fue el estudio de la funcionalidad de estos sistemas al encapsular dos tipos de fármacos y una reacción enzimática; los ensayos desarrollados la llevaron a comprobar la funcionalización de estos sistemas: la encapsulación de un enzima en el interior del liposoma y la posterior degradación de la nanocápsula, a través de estos ensayos se observó el potencial que poseen para futuras aplicaciones.

Entre otras investigación está la realizada en el 2014 Hamblin *et al* realizaron una investigación acerca de la encapsulación con liposoma de ciprofloxacina mejora la protección contra la cepa de *Francisella tularensis* altamente virulenta Schu S4, en donde se sugiere que esa encapsulación administrada ara prevenir ante esa infección, por esa bacteria en una dosis iba a proveer protección lo que indicaría que esta encapsulación tiene el potencial de acortar el régimen profiláctico actual utilizado en la infección.

Este mismo año en otra investigación se publicó un artículo, respecto de la anterior, realizada por algunos de los autores mencionados, esta se refiere al potencial de la ciprofloxacina encapsulada en liposomas como terapia para la tularemia en donde continúan en su enfoque relacionado a la ciprofloxacina encapsulado en liposomas para inhalación, en este artículo se indica, significativamente, una mejor protección que ciprofloxacina oral, por lo que sería así un prometedor tratamiento para tularemia y para promover la investigación.

Además de estas publicaciones hubo una tercera por los autores Norville *et al* estos comentan acerca de la encapsulación de antibióticos para mejorar el tratamiento de las infecciones internas al prolongar la liberación de antibióticos y mejorar la absorción en las células, en este se evaluó posterior a la exposición para el tratamiento de *Coxiella burnetii* causante de la fiebre Q en ratones, cuyos resultados mostraron que los ratones (sacrificados) tratados con ciprofloxacina encapsulada en liposomas para inhalación mostraron una reducción espléndida y una reducción del número de bacterias en los pulmones y el bazo, en comparación con los ratones tratados con ciprofloxacina o doxiciclina por vía oral, estos datos sugieren el potencial, como un antibiótico superior para tratar la fiebre Q.

Las autoras Sánchez Carpintero y Sánchez Navarro en el 2016 en Salamanca realizaron una publicación a cerca de la caracterización y separación de liposomas por microencapsulación cuyo objetivo consistió en encapsular liposomas cargados con ciprofloxacino en Albusomas, un novedoso vehículo farmacéutico basado en liposomas recubiertos de albúmina, utilizaron el método de sonicación y de hidratación; esto les llevó a las conclusiones de los métodos empleados y además que la microencapsulación con albúmina produce los denominados Albusomas que, retienen las vesículas, aumentan significativamente su contenido en principio activo y eficacia de encapsulación con respecto a los liposomas (p.93).

En ese mismo año (2016) se desarrollaron dos formulaciones liposomales de ciprofloxacina por Aradigm Corporation conocidas como Lipoquin® y Pulmaquin®, a estas se le atribuían el poder mejorar la tolerabilidad, aumentar el cumplimiento al reducir la frecuencia de dosificación y aumentar la penetración de biopelículas y el tratamiento de infecciones intracelulares, esta publicación fue desarrollada por Cipolla, Blanchard y Gonda, en este describen la totalidad del

desarrollo de las formulaciones) a través de ensayos clínicos de fase 2 y en ensayos clínicos de fase 3 para tratar infecciones pulmonares con *P. aeruginosa* en pacientes.

En el ámbito nacional en el año 1996 se llevó a cabo la formulación de una crema de placenta liposomal como parte del trabajo de graduación de Córdoba Hernández, Jaime, en la Universidad de Costa Rica; en esta misma universidad, para el año 2015 se realizó otro trabajo de graduación para una maestría académica en ingeniería química titulada “Liposomas recubiertos de polímeros biocompatibles como sistemas órgano-específicos de dosificación controlada en medicamentos” realizado por Rodolfo Wattson Gomez.

Ese mismo año, Araya y Mora desarrollaron en la Universidad de Iberoamérica, la formación de liposomas de varias capas, encapsulando ácido salicílico como principio activo, a partir de Lecitina de soya., para el año 2017 en la misma universidad se realizó un trabajo de graduación titulado “Síntesis de liposomas para la encapsulación de *Aloe vera* como principio activo” realizado por tres estudiantes de la carrera de farmacia, Fajardo Robles Dayanne, Vincent Hanson Jendry y Arguedas Chaverri Eduardo, el trabajo de ellos consistió en sintetizar liposomas, para ello utilizaron lecitina de soya, aceite de soya, colesterol y polisorbato 80; estos liposomas pudieron ser visualizados con la ayuda de un microscopio, adicionando tinte negro Sudán III a la muestra.

Posteriormente, encapsularon el *Aloe vera* y comprobaron dicho encapsulamiento utilizando la prueba de Fehling (la cual en presencia de aloe vera forma un precipitado marrón) esta resultó negativa, lo que indica que si se encapsuló el principio activo, los estudiantes concluyeron que lograron su objetivo, sintetizar liposomas así como la encapsulación del liofilizado de *Aloe vera*, además concluyeron que se puede mantener la estabilidad de los liposomas a temperaturas de 2° C y 8° C y que el colesterol ayuda a aumentar la estabilidad de la estructura de la membrana liposomal.

Proyecciones

Al llevar a cabo el análisis del tema propuesto se espera alcanzar resultados que corroboren y prueben los aportes reales que brindan las nanopartículas, abarcando todo lo relacionado específicamente con sistemas liposomales como vehículos que contribuyan al transporte y liberación más eficiente de un antibiótico en específico, mediante la determinación de las ventajas que se evidencien en estudios previamente realizados, sin importar la forma farmacéutica o vía de administración utilizada de manera in vivo e in vitro, ya que este sistema de encapsulación en liposomas se podría incorporar a cualquiera de estas, un punto con el cual se busca proyectar en el análisis por realizar.

A pesar que de la nanotecnología se derivan muchos tipos de nanopartículas, en donde todas presentan cierto tipo de características que las hacen candidatas para analizar, en el estudio no se abarcarán todas para el análisis propio, sí se mencionarán como parte del aporte teórico que representan pero se limitará a ampliar y explicar los liposomas a través de bibliografía por consultar y no, a llevar a cabo como tal, un método de fabricación ni de generación de datos prácticos y propios, sino se partirá de los proyectos científico como antecedentes, a este proceso investigativo.

Además se debe pensar más allá de lo convencional y aplicar herramientas tecnológicas que ofrezcan un mejor desarrollo y eficiencia de formulaciones, por lo que demostrar que la utilización de encapsulación junto con algún tipo de nanopartícula, en potencial los liposomas, a los cuales se les atribuye una gran estabilidad y ser excelente vehículos, sea posible utilizarlos cada vez más para producir altas concentraciones de fármaco y prevenir la fuga de este, según con el tipo de agente que se utilice, hoy existe una variedad de métodos de preparación disponibles, incluso existen compañías dedicadas a la fabricación de este tipo de sistemas para facilitar estudios innovadores y así contar con nuevas formulaciones liposomales fáciles de analizar y eficientes.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

Farmacia

Se le pueden atribuir diversas definiciones Gennaro (2003) la define de la siguiente manera como “la ciencia de preparar y expender medicamentos y de suministrar al público la información relacionada con los fármacos” (p.3), bien la describe como una ciencia la cual abarca muchas ramas dentro del área de salud pero relacionada a los medicamentos desde la investigación inicial que se realiza a un principio activo hasta llegar a obtener un medicamento que se pueda comercializar y junto con estudios que respalden sus indicaciones y provea toda la información farmacológica requerida.

Esta disciplina se ha ido desarrollando con el aporte e investigación constante, al ser una ciencia que tiene por objeto de estudio los medicamentos tuvo un inicio primitivo, en donde como primer punto según Goodman y Gillman (2012, p.4) “los primeros fármacos se obtuvieron por la observación de los efectos de las plantas después de su ingestión por animales o por el hombre” de esta manera inicio el descubrimiento de lo que se conoce como fármacos, ya que los investigadores en aquella época observaron cambios que le ocurrían a los animales al ingerir algunas plantas o en el caso de las personas, al consumir extractos de algunas hierbas, hongos u otras plantas.

Farmacología

Con el pasar de los años y periodos se actualizó la manera en que se estudiaba esta ciencia hasta conceptualizarla como mencionan, Lorenzo *et al* (2015), “la farmacología es parte de las ciencias biomédicas que estudia las propiedades de los fármacos y sus acciones sobre el organismo esta posee diversos enfoques así como numerosas subdivisiones” (p.7), es un estudio amplio, ya que se investiga el potencial que tenga una molécula para actuar acerca de alguna proteína según su sitio de acción, el mecanismo por el cual lo realiza, además de su perfil farmacocinético las propiedades terapéuticas que se le puedan atribuir, la dosis correcta y mucho puntos farmacológicos de gran importancia.

Una definición un poco más técnica, nos ofrecen Osterhoudt y Penning (2015) quienes la definen como: “la farmacología se ocupa de los fármacos y sus propiedades o características químicas, su mecanismo de acción, las respuestas fisiológicas a los fármacos y las aplicaciones clínicas de los mismos” (p.73), es una rama de la ciencia que abarca una gran cantidad de temas todos enfocados al estudio de fármacos, de sus singularidades producto de sus características específicas o las del grupo de agentes terapéuticos al que pertenezcan, además de los mecanismo implicados en la respuesta fisiológica que producen en el organismo.

La farmacología se subdivide en subtemas, uno de ellos es la farmacodinamia en que se trata y en algunas ocasiones se logra conocer el mecanismo de acción que efectúa el fármaco, en donde si no está involucrado algún vehículo de por medio que afecte su actuar, se le atribuirá a sus características fisicoquímicas para acceder e interactuar con los diversos tejidos en el cuerpo, lo que produce así una respuesta, a partir de la cual se le otorga la capacidad al fármaco de generar una acción terapéutica para el tratamiento y alivio de la salud del paciente, aunque en general, debido a sus mismas propiedades y mecanismo produce los efectos adversos indeseados.

Esa investigación sirve como base, junto con la implementación de modelos informáticos enfocados al área farmacéutica para conocer el posible accionar terapéutico, estos permiten conocer las moléculas o enlaces involucrados. De esta manera se pueden realizar intervenciones, es decir modificaciones específicas adicionando o sustituyendo dentro de la molécula con el fin de optimizar diversos parámetros, ya sean farmacocinéticos o farmacodinámicos, toxicológicos o químicos de la molécula de estudio; dentro de todo este proceso, hay que diferenciar ciertos conceptos, como:

Fármaco

El fármaco se define según indica Lorenzo y colaboradores como “toda sustancia química que al interactuar con un organismo vivo da lugar a una respuesta sea beneficiosa o tóxica” (2015, p.7), claramente indica que puede ser cualquier sustancia desde una pequeña moléculas con unos cuantos carbonos hasta macromoléculas, ya que todas y cada uno de estas es capaz de generar un efecto una vez que se encuentran dentro del organismo de un ser vivo por su capacidad de interactuar con receptores siempre y cuando la dosis administrada sea capaz de hacerlo, los fármacos deben atravesar una serie de compartimentos, entornos hostiles y barreras para ejercer

su acción, y muchas veces su ineficacia o toxicidad es resultado de su estructura química, poco adecuada para transitar correctamente a través del organismo.

El fármaco dentro del organismo se distribuye y debido a sus propiedades fisicoquímicas logra acceder a ciertos tejidos en los cuales interactúan con receptores, proteína o su órgano diana para generar un efecto ya sea positivo o negativo debido a que genera una acción biológica dentro del cual estará su acción terapéutica, así como posibles efectos adversos al mismo, este fármaco se puede obtener, ya sea por algún tipo de extracción o bien síntesis en laboratorio; este fármaco tendrá el potencial de convertirse en un medicamento, una vez que haya sido investigado a profundidad, para conocer su mecanismo de acción exacto, así como características farmacocinéticas, dosis que se requiere y una adecuada forma farmacéutica para su correcto accionar en el tratamiento de síntomas o enfermedades.

Medicamento

Para que un fármaco pueda utilizarse adecuadamente, debe convertirse a un medicamento que como indican: Cabildo, Claramunt, Escolástico, Jiménez, y Santa María (2015), “el medicamento está constituido por uno o varios principios activos y excipientes, se presenta bajo una forma farmacéutica y ha superado una serie de controles analíticos y farmacológicos – toxicológicos antes de ser comercializado” (p.11), al referirse estos autores del término principio, se entiende por fármaco, ya que como tal es la molécula responsable de cambios en el nivel biológico y fisiológico, una vez que se encuentra distribuido y ha logrado acceder a diversos tejidos en el organismo.

Un medicamento como tal puede encontrarse como un solo principio activo o la combinación de dos o más, siempre y cuando, no existan incompatibilidad entre ellos o riesgo de modificar la estabilidad de cada uno, la combinación resultante podrá generar un accionar terapéutico, ya que una vez que recibe el nombre de medicamento se debe a que ha completado una serie de fases de estudios previas para comercializarse adecuadamente, además de conocer parámetros farmacológicos, dentro de los cuales se conoce la dosis, vía de administración más adecuada o posibles esta va muy de la mano con la forma farmacéutica final con la cual se le presentará al público, aspectos toxicológicos, así como cinéticos; toda esta información es de vital importancia pues facilitará saber en qué tipo de pacientes podría generar complicaciones o en cuáles su uso

debe hacerse de manera monitoreada, así como interacciones debido al uso concomitante con otras sustancias o por enfermedades presentes en el enfermo, en donde ya sea, el metabolismo o excreción del medicamento pueda agravar el estado de este.

Existe variedad de medicamentos que pertenecen a diversos grupos de agentes terapéuticos, uno de esos grandes grupos son los antibióticos, estos agentes fueron descubiertos y desarrollados desde hace varios años, en sus inicios, se obtenían de fuentes naturales, por medio del aislante de la molécula específica, sin embargo, gracias a herramientas científicas algunos antibióticos se obtuvieron de manera sintética y algunos otros semisintética. La base de esta terapéutica es actuar en dianas o sitios de acción específicos de las bacterias, es decir, que sean diferentes a estructuras que estén en un organismo humano para que el actuar sea más dirigido a la bacteria y no a la del ser humano, en la administración de fármacos, el aspecto clave es lograr que estos medicamentos lleguen al sitio que lo requiere y en la concentración adecuada.

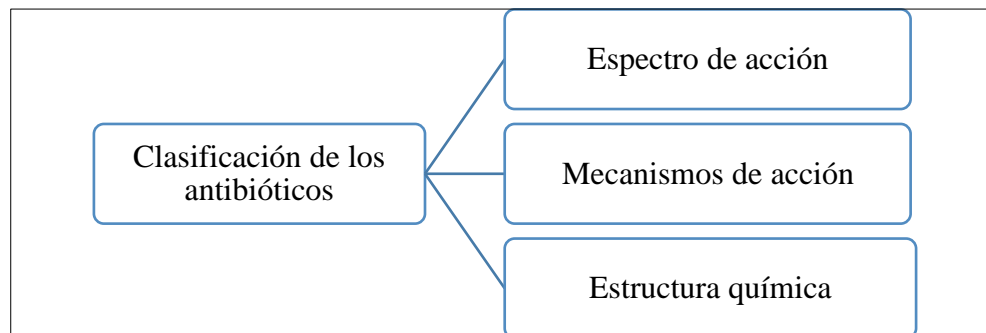
Antibióticos

Los antibióticos constituyen un gran grupo de compuestos con estructuras diversas y varios mecanismos de acción contra bacterias; a pesar de todo, se pueden plantear algunas generalizaciones en relación con temas importantes respecto de su uso, la clasificación de un antibiótico se basa en varios aspectos, como menciona: Gumbo (2015) con base en “la clase y el espectro de microorganismos que destruye; la vía bioquímica que interfiere y la estructura química de su farmacóforo” (p.1365); aunque lo que menciona puede sonar un poco complejo, lo que trata de explicar es cómo se pueden clasificar según el tipo de bacteria que es capaz de inhibir o aniquilar, esto ya que no todos los antibióticos poseen la misma capacidad de generar algún efecto en todos los tipos de bacterias.

En otras palabra se refiere al número de tipos o especies bacterianas sobre las que un antibiótico puede actuar para producir un efecto tóxico en este, este espectro puede ser reducido, intermedio o amplio, según el tipo de bacteria causante de la infección se valora y se utiliza aquel antibiótico que actúe en contra del microorganismo o al que este sea sensible, conforme el espectro que posea, siempre y cuando no presente algún tipo de resistencia antibiótica al mismo; ahora bien, a parte de contemplar el espectro del antibiótico también debe conocerse, si como tal, este logrará acceder al tejido infectado, ya que según la vía de administración por lo general no se

aplican directamente, en el órgano o tejido en el cual está la bacteria. Para ser eficaz cada fármaco de ese tipo tiene que llegar al sitio en que se encuentra el microorganismo, debe penetrar en el compartimiento infectado.

Figura 1. Clasificación general de los antibióticos.



Nota: elaboración propia (2019).

El segundo punto la bioquímica implicada, esto es más relacionado al mecanismo de acción que emplea el fármaco en el nivel bioquímico dentro de la bacteria para que el medicamento logre interferir en algún proceso para la subsecuente inhibición del patógeno, tienen como blanco propiedades bioquímicas específicas de los patógenos, esto va de la mano con el espectro que sea capaces de tener y el último punto es según la estructura química, esto no va más allá que conocer la molécula, grupos específicos que posean que le permitan agruparlo con su estructura similar.

Implícitamente, también otro punto de suma importancia es la concentración y el tiempo por el cual el antibiótico se va a emplear, ya que en función de las concentraciones séricas es decir, aquella que realmente se encuentre en plasma podrá generar un efecto constante y duradero, y conforme a estos existirá una eficacia terapéutica; por otra parte algunos antibiótico actuaran en función del tiempo en que se encuentren en el organismo, ya que estos puedan requerir concentraciones mantenidas en el tiempo.

Un punto de suma importancia es elegir un agente antimicrobiano correcto según Alvo, Téllez, Sedano y Fica (2016), es necesario antes evaluar el diagnóstico realizado tener en cuenta que existen patologías infecciosas no bacterianas (virus, hongos, parásitos) siempre se debe considerar los beneficios y perjuicios posibles asociados a cada fármaco, con el fin de utilizar el medicamento más idóneo, para esto es imprescindible conocer el espectro de acción, el mecanismo

de acción, la adecuada penetración al órgano blanco, la vía de administración, las reacciones adversas, las contraindicaciones, las interacciones farmacológicas, las alergias y también el costo asociado (p.140).

Existen dos términos que se deben tomar en cuenta ya que también nos indican del actuar de un antibiótico estos son bacteriostático y bactericida, como menciona, Jawetz, Melnick , y Adelberg (2011), respecto del primer término, la definición que le procede es “la propiedad por medio de la cual un biocida puede inhibir la multiplicación bacteriana; la multiplicación se reanuda una vez que se elimina la sustancia” (p.58); se entiende por bactericida aquel fármaco que tiene la propiedad de inhibir la multiplicación bacteriana, evita que genere más daño del causado hasta el momento dentro de un huésped mientras presente con concentraciones que se lo permitan, sin embargo, una vez que se suspenda la bacteria reanudarán su accionar infeccioso.

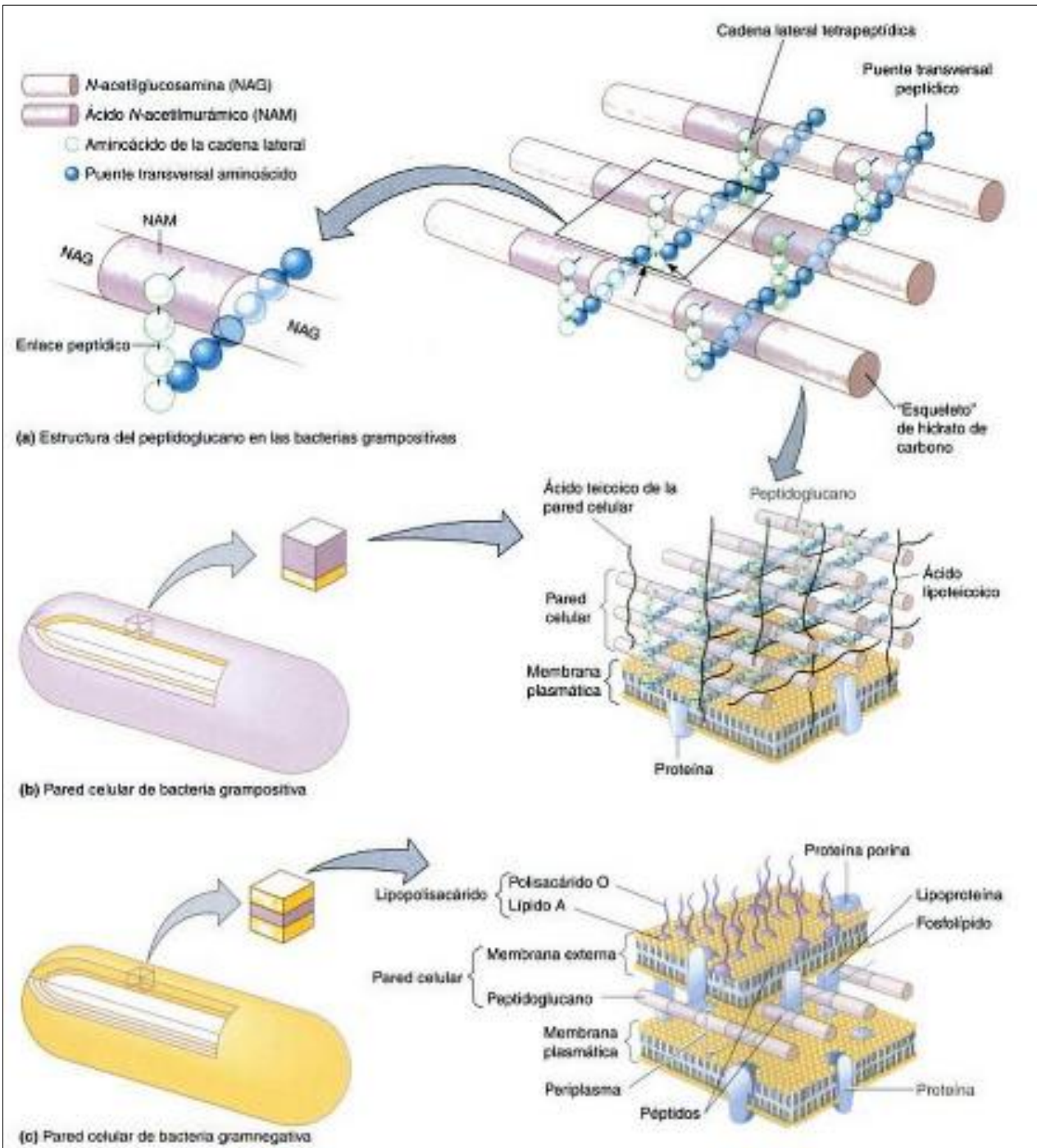
Respecto del segundo término, estos mismos autores lo definen como: Romero (2007) “la propiedad por medio de la cual un biocida aniquila bacterias, la acción bactericida difiere de la bacteriostática sólo en el sentido de que es irreversible, destruye al organismo dentro del huésped” (p.49), esta característica la poseen aquellos antibióticos con la capacidad de destruir o eliminar completamente al patógeno, indistintamente del daño o la replicación que se encuentre en el compartimiento del tejido infectado, ahora bien ese actuar será posible si el patógeno es susceptible al antimicrobiano, de lo contrario no podrá efectuar una cobertura completa, además se debe contemplar que cuanto mayor concentración y tiempo, mayor efecto; así escasos antibióticos tendrán un acción bactericida o bacteriostático en función de la concentración con la que se emplee durante el tratamiento.

Una vez claro el concepto de antibióticos se debe aclarar sobre quiénes actúan, es decir, las bacterias estas son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria (proceso para realizar la división celular), integran el reino procariota (pro de primitivo y cariota de núcleo), la mayoría son de vida libre, estos organismo poseen los mecanismos necesario para producir energía y el material genético para su desarrollo y crecimiento, tienen estructuras en común como la membrana celular, los ribosomas encargados de la síntesis proteica y el ácido desoxirribonucleico (ADN) portador de la información genética (Pérez y Mota, 2010).

Existe una clasificación global para las bacterias que inicio después de que Christian Gram en 1884, desarrollase la tinción que lleva su nombre, se comprobó que las bacterias podían clasificarse en dos grupos principales, según su respuesta a esta coloración, según Romero Cabello (2007), “las bacterias grampositivas se tiñen de color azul violeta y las gramnegativas adquieren un color rosa o rojo, la diferencia estructural verdadera entre ambos grupos se puso de manifiesto con el desarrollo del microscopio electrónico” (p.887), esa diferencia se observan a detalle que la pared de una célula grampositiva está formada por una única capa homogénea de un gran grosor (20 a 80 nm) de peptidoglicano o mureína, situada por fuera de la membrana celular, por el contrario la pared de la célula gramnegativa posee una capa delgada de grosor (2 a 7 nm) de peptidoglicano rodeada por una membrana externa.

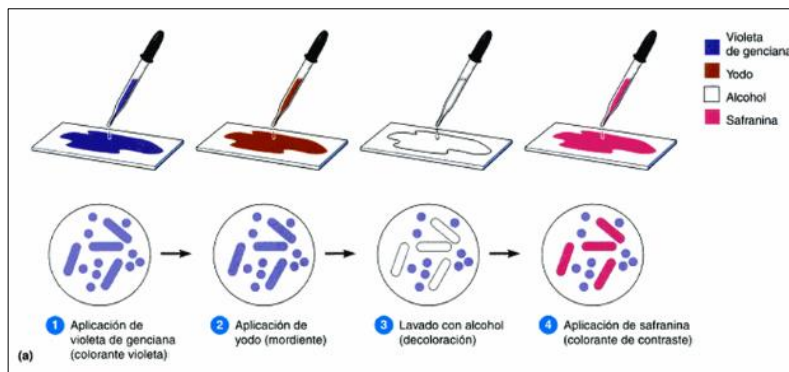
Como se mencionó la tinción de Gram permite una clasificación de la bacterias muy útil para diferenciarlas, es uno de los procedimientos de tinción más útiles, para poder llevarse a cabo según se utiliza un colorante violeta normalmente violeta de genciana, este al esparce su color a todas las células, después de un lapso se cubre con yodo, ambos se combinan en el citoplasma de cada bacteria posterior se lava el portaobjeto con una solución de alcohol-acetona funcionando como agente descolorante, se elimina el alcohol con agua y se tiñe con safranina, un colorante básico y luego se vuelve a lavar y se espera que seque; las bacterias que conserven color violeta se clasifican como grampositivas y las que lo pierden como gramnegativas (Tortoratore , Funke y Case, 2007, p.68).

Figura 2. Pared celular bacteriana de gramnegativas y grampositivas.



Nota: Obtenido de Tortoraine , Funke y Case (2007, p.87)

Figura 3. Pasos de la tinción de Gram

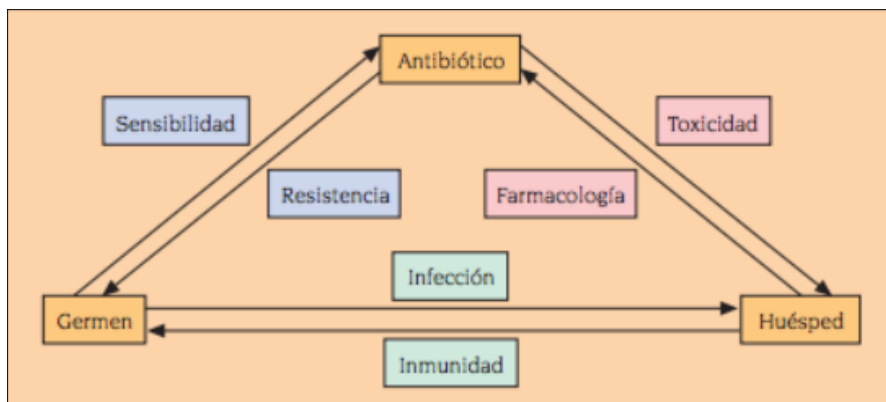


Nota: Obtenido de Tortoraine , Funke y Case (2007, p.69)

Triángulo de Davis

El clásico triángulo de Davis plantea una idea, la cual relaciona tres elementos principales ,involucrados al momento de generarse una infección y la elección del antibiótico más adecuado según el patógeno responsable; Quirós, y otros (2015) lo describen como aquel que “ilustra la relación entre el microorganismo, el huésped y el antimicrobiano, y es el sustrato de las bases farmacológicas del tratamiento antimicrobiano al integrar los criterios clínicos, microbiológicos, farmacológicos y terapéuticos” (p.160), al momento de realizar el diagnóstico, es vital conocer el agente causante o el posible, al cual se le puede atribuir la infección.

Figura 4. Triángulo de Davis



Nota: Obtenido de Kindelán, Natera y Vidal (2002, p.3262)

En este triángulo se muestra gráficamente la interrelación que existe entre el microorganismo, huésped y antimicrobiano, normalmente existe un estado en el que ningún elemento afecta al otro, sin embargo, al momento de relacionarse el microorganismo y el huésped, la acción que este provoca es una infección y como respuesta inevitable el huésped responde mediante resistencia inespecífica así como inmunidad hacia este, al momento de incorporar un antimicrobiana este buscará actuar sobre el microorganismo patógeno responsable y al ser un organismo como una bacteria viva que responderá activando sus mecanismo de resistencia al antibiótico, de igual manera entre el huésped y el antibiótico habrá una relación farmacocinética/farmacodinámica, tanto con el fin terapéutico, como en el caso que se dé una posible intoxicación, lo que se debe buscar es lograr la mayor eficacia con el menor riesgo y costo posible.

Resistencia a los antibióticos

El desarrollo y la propagación de la resistencia a los antibióticos en las bacterias es una amenaza que se vive y aumenta cada día, tanto para los seres humanos como para los animales, que aunque se busca la prevención, esta es muy difícil que sea puesta en práctica, por lo que se recomienda practicarla y además se debe buscar el abordaje de la manera más efectiva por todos aquellos que tengan acceso a este tipo de agentes terapéuticos, ya que son una de las pocas defensas con las que cuenta el ser humano para contrastar las infecciones bacterianas.

La industria farmacéutica y los sistemas de atención médica han estado luchando contra cepas de bacterias resistentes a los antibióticos durante muchos años, un suministro continuo de nuevas clases estructurales de antibióticos que no se vean afectados por mecanismos conocidos o existentes de resistencia es esencial, más esfuerzos para hacer modificaciones químicas con el fin de obtener derivados antibióticos que evaden los mecanismos de resistencia conocidos o bien la combinación de agentes antibióticos que tengan sinergia al actuar en conjunto; es indiscutible que la resistencia a los antibióticos es potencialmente mortal, tanto en el número de casos como en el resultado de sus consecuencias que arrastra o a las que nos lleva; por lo tanto, se deben tomar acciones y tratarlo como un asunto de urgencia, de lo contrario en poco años no se contará con este grupo importante de agentes terapéuticos (Bush, y otros, 2011, p.894).

Las bacterias pueden adquirir resistencia, cuando estas son incapaz de verse afectado por elevadas dosis de algún antibiótico, al que previamente era sensible, pueden ser resistentes como un mecanismo de defensa o de competencia y ser inmunes a los efectos de los antibióticos a través de varios mecanismos moleculares que se dividen en tres grupos principales:

Disminución de las concentraciones intracelulares del antibiótico.

El primero de ellos son los mecanismos que minimizan las concentraciones intracelulares del antibiótico, este se caracteriza principalmente por una baja penetración del antibiótico a la bacteria debido a una baja permeabilidad o también por el aumento del flujo de salida de un antibiótico, ambos contribuye a reducir su concentración intracelular al transportarlo fuera de la célula, puede deberse a una baja permeabilidad del antibiótico hacia la bacteria, por la formación de biopelículas, por porinas o por bombas de expulsión; la impermeabilidad es la escasa capacidad del antibiótico de acceder a la bacteria puede ocurrir debido a cambios en la pared celular o en la conformación de la membrana esto puede deberse a las características propias del antimicrobiano hacia algún tipo específico de bacterias que le impida acceder a esta (Troncoso, Pavez, Santos, Salazar y Barrientos, 2017).

También la formación de ciertas estructura que no forman parte de la bacteria pueden contribuir a la resistencia antibiótica, como menciona: Sager, Benten, Engelhardt, Gougoula, Y Benga (2015), la formación de biopelículas se describen como agregaciones estructuradas de células bacterianas, encerradas en una matriz extracelular auto sintetizada conformada por diferentes macromoléculas, el desarrollo de la biopelícula es un proceso complejo, sin embargo provee de protección a la comunidad bacteriana de la respuesta inmune del hospedador, dificulta o impide la acción antibiótica y otorga alta adherencia del microorganismo a una determinada superficie la baja capacidad de penetración de los antimicrobianos en la biopelícula es el principal obstáculo el cual es un proceso reversible y no heredado, y desaparece cuando se interrumpe la biopelícula (p.2).

La restricción del acceso de los antibióticos mediado por porinas de membrana actúan evitando el ingreso del antimicrobiano según Pagés James y Winterhalter (2008) “las porinas son estructuras proteicas que determinan la permeabilidad de la membrana externa, se clasifican de acuerdo a su actividad (en canales específicos o inespecíficos y poro selectivo), según su estructura funcional (monomérica o trimérica) y su según regulación y expresión” (p.894), reducen el acceso del antibiótico en el nivel citoplasmático o de la envoltura celular, la disfunción de las porinas también afecta a los antibióticos debido a la sobreexposición favorece respuestas adaptativas reflejadas en cambios en sus características físicas que regulan la funciones de las porinas.

Las bombas de expulsión son otro método que disminuye las concentraciones antibióticas según: Troncoso, Pavez, Santos, Salazar y Barrientos (2017) “son proteínas de membrana que facilitan la salida de sustancias hacia el exterior de la célula, ubicadas en la membrana citoplasmática de bacterias gram positivos y en el espacio intermembrana de gram negativos” (p.1218), estos sistemas cumplen un rol fundamental en el metabolismo y en la actividad celular de la bacteria, ya que le permite transportar hacia el exterior una amplia variedad de sustancias que la dañen, incluyendo a los antibióticos, lo que impide obtener concentraciones óptimas para su acción, generando resistencia antibiótica.

Modificación del sitio blanco del antibiótico

La modificación por una mutación genética altera el sitio de unión a un antibiótico, evitando así una unión eficiente pero que le permite realizar su función normal, como menciona De la Fuente, Villareal, Díaz y García (2015), “la mutación causada por transformación bacteriana debido a genes “mosaico” puede conferir resistencia, estas modificaciones pueden ocurrir en el sitio de unión del antibiótico”(p.9), esto ocurre para protegerlo pero no por una mutación genética que afecte su estructura o capacidad para sobrevivir, estas mutaciones cromosómicas que causan la resistencia se pueden transmitir de células madre a hijas (transmisión vertical) u obtención de material genético de otras bacterias (transmisión horizontal); el ejemplo clásico son los aminoglucósidos, antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas uniéndose al ribosoma, pero si se produce una metilación del sitio de unión al ribosoma además de proteger al antibiótico también genera la resistencia.

Inactivación del antibiótico

Existen otros mecanismos responsables de inactivar al antibiótico estas son hidrólisis o modificación, según: De la fuente *et al* (2015) la inactivación a través de la hidrólisis es mediada por enzimas y es el principal mecanismo causante de resistencia antibacteriana, es causada por la acción de hidrolasas y transferasas sintetizadas por ciertos patógenos como una estrategia de defensa bacteriana, son enzimas que pueden impedir la actividad antibiótica por la orientación y la escisión de estos enlaces siendo los aminoglucósidos un grupo de antibióticos muy susceptible a la inactivación mediada por acetil-transferasas, fosfo-transferasas y nucleotidil-transferasas (p.9).

Un mecanismo que no entra en ninguna de las clasificaciones anteriores es el de sistema quorum sensing, es un mecanismo adoptado por comunidades bacterianas relacionado con la densidad de población o por señales simples producidas por bacterias, primero se reconoce como quorum sensing señal, el otro corresponde a un sistema auto inductor y es utilizado en comunicaciones célula-célula o por señales producidas por bacterias en distintos estados de crecimiento que les permite regular la expresión génica independiente de la densidad celular, permite una comunicación de una célula a otra para modificar la cantidad de estas presentes en el huésped (Troncoso, Pavez, Santos, Salazar, y Barrientos, 2017, p.1216).

Se debe alentar la investigación de nuevos enfoques para poder limitar un poco el uso de los antibióticos para la prevención y protección contra enfermedades infecciosas, estos podrían incluir el uso de vacunas antibacterianas, terapia, inmunoestimulantes, adyuvantes, terapias antivirulentas, probióticos y sus combinaciones, se necesitan nuevos y mejores antídotos contra las toxinas para los brotes de enfermedades en las que no se deba depender exclusivamente de antibiótico, ya que la aparición de patógenos microbianos resistentes a múltiples fármacos amenaza la base misma de la terapia antibacteriana estándar (Bush, y otros, 2011, p.595).

Clasificación de los antibióticos por su mecanismo de acción

Dentro de la gran variedad de fármacos antibióticos se agrupan de diversas manera, entre los principales en donde se puede atacar a la bacteria desde su parte externa hacia su núcleo, están: los inhibidores de síntesis de pared bacteriana, inhibidores de síntesis proteica, fármacos que actúan sobre la subunidad 30s, otros actúan sobre la subunidad 50s, en el metabolismo de ácido fólico o sobre el núcleo bacteriano; en este último grupo se encuentran las sulfonamidas, trimetropina y quinolonas.

Inhibidores de la síntesis de la pared celular.

Los antibióticos que se integran a este grupo son en general bactericidas y abarcan a las siguientes clases farmacológicas: los inhibidores de la síntesis de mureína, inhibidores de la polimerización de la mureína e inhibidores de la transpeptidación, para poder comprender exactamente cómo es que estas clases farmacológicas primero se debe explicar cómo se lleva a cabo la síntesis proteica bacteriana, la transpeptidación (entrecruzamiento) es la diana farmacológica de mayor importancia en este grupo terapéutico.

Como explica Lorenzo *et al* (2015) “todas las bacterias poseen una pared celular externa rígida (excepto los micoplasmas) la cual les confiere forma, esta rodea por completo la membrana celular citoplasmática” (p.793), esta estructura se comporta como un elemento protector de la integridad celular e impide su estallido, ya que existe una gran presión en el interior de la bacteria, esa presión mayor en bacterias grampositivas que en las gramnegativas, por ello cualquier inhibición o lesión que comprometa la integridad de la pared celular lleva a la destrucción de la célula bacteriana.

La pared celular contiene un polímero entrelazado denominado peptidoglucano o mureína formado por polisacáridos y péptidos con elevado grado de entrecruzamiento, que determina su rigidez resultado de las reacciones de transpeptidación llevadas a cabo por varias enzimas, la síntesis se lleva a cabo en cuatro etapas: formación del precursor en el citoplasma, transporte del precursor a través de la membrana, formación del polímero lineal y transpeptidación (Tortoratore , Funke y Case, 2007, pp.86 -88).

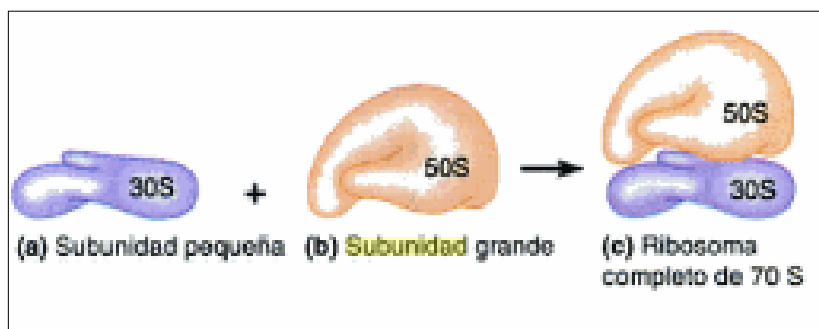
Dentro de los inhibidores de la síntesis de mureína se encuentran la fosfomicina, cicloserina y la bacitracina, estos tres actúan en la fase uno, según Lorezo *et al* (2015), la fosfomicina impide que la unidad básica uridindifosfo-N-acetilglucosamina (UDP-NAG) sea convertido a UDP-NAM ya que bloque a la enzima piruviltransferasa encargada de dicho procesos, mientras que la cicloserina por su analogía a la D-alanina (aminoácido precursor en el proceso), inhibe competitivamente la conversión de L-alanina en D-alanina y la formación del dipéptido d-alanina-d-alanina; en el caso de la bacitracina esta inhibe un par de paso más adelante y actúa propiamente sobre el nucleótido de park (UDP-NAM-tripeptido-d-alanina-d-alanina).

En la fase dos y tres actúan la vancomicina y bacitracina, y finalmente, en la fase cuatro actúan los β -lactámicos en este último grupo tienen diferencias en su estructura química y por tanto en el espectro de acción, ya que se encuentran las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos e inhibidores de β -lactamasas, sin embargo todos comparten el mismo mecanismo de acción: inhibición del entrecruzamiento de los polímeros de mureína.

Inhibidores de la síntesis proteica bacteriana.

Estos se subdividen en dos según la subunidad ribosomal sobre la que actúen, la síntesis proteica se realiza en los ribosomas por la intervención de diversos tipos de ácido, el proceso se lleva a cabo en tres fases, iniciación, elongación que a su vez comprende tres etapas (reconocimiento, transferencia y translocación) y terminación, el ribosoma posee una semimentación de 70S, constituido por dos subunidades la 30S y 50S; entre los fármacos que actúan en la subunidad 30S se encuentran: los aminoglucosidos y tetraciclinas (Romero, 2007, p.51).

Figura 5. Ribosoma de una célula procarionte

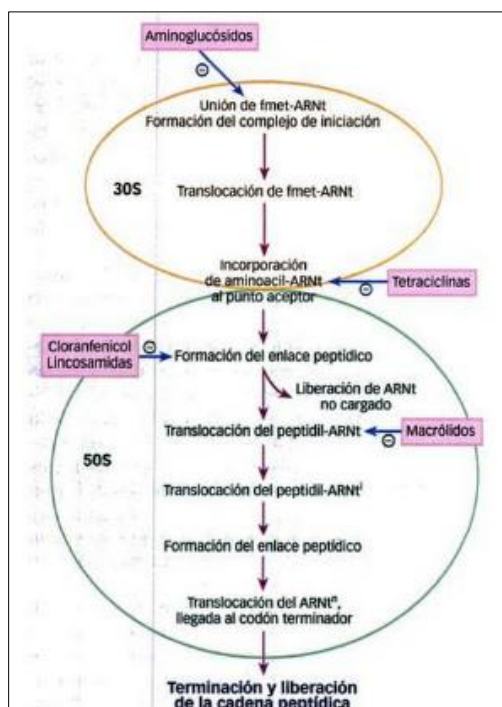


Nota: Obtenido de Tortoratore, Funke y Case (2007, p.95)

El mecanismo de acción de los aminoglucósidos como explica Lorenzo et al (2015), “consiste en la fijación irreversible a la subunidad 30S de los ribosomas de una o dos proteínas diana, lo que inhibe el inicio de la síntesis y al mismo tiempo interfiere en la fijación del ARNt y distorsiona el codón del ARNm” (p.795), de esta forma se detiene la síntesis proteica y se generan proteínas no funcionales, ya que el material genético necesario para la síntesis de estructuras vitales se encuentra alterado, un ejemplo de esto ocurre en las tetraciclinas, ya que bloquean la unión del aminoacil de ARNt con el sitio aceptor en el complejo formado por el ARNm y el ribosoma.

Según Romero (2007): la fijación a la subunidad ribosomal 50S inhibiendo la enzima peptidiltransferasa en la fase de transferencia y bloqueando la reacción de transpeptidación se lleva a cabo por el cloranfenicol quien reprime la transmisión de aminoácidos activos además de ser un antibiótico bacteriostático; además con similar mecanismo se encuentran las lincosaminas son un grupo de macrólidos, son especialmente activos contra grampositivas, esta unidad también se fijan el ácido fusídico y la espectinomicina, impidiendola translocación de la síntesis proteica, pues modifican los factores que suministran la energía necesaria para este proceso (p.55).

Figura 6. Esquema de mecanismo de acción de antibióticos que actúan inhibiendo síntesis proteica bacteriana



Nota: Obtenido de Lorenzo *et al* (2015, p.795)

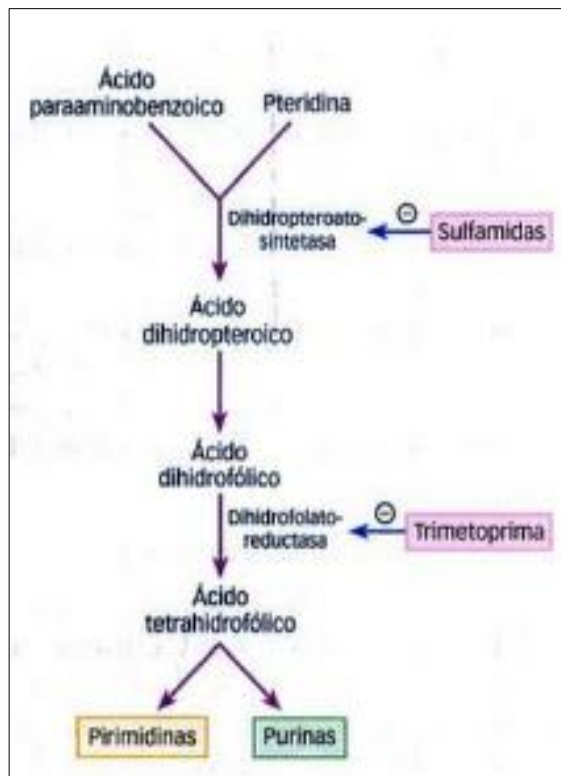
Antibióticos que actúan sobre el núcleo bacteriano.

Los agentes antimicrobianos que actúan por este mecanismo pueden hacerlo de tres posibles formas: por interferencia en la replicación del ADN, impidiendo la transcripción y por la inhibición de la síntesis de metabolitos esenciales; dentro de este grupo encontramos a las sulfamidas se trata de moléculas estructuralmente análogas a distintos metabolitos esenciales, bases púricas o pirimídicas para la síntesis de ácidos nucleicos, dentro de estas se clasifican por su farmacocinética en absorbibles (acción rápida, intermedia y prolongada), no absorbibles y de uso tópico (Gómez, Calvo, y Prieto, 2015, p.793).

Su mecanismo específicamente se basa en que las bacterias no poseen la capacidad de captar ácido fólico del medio, por ello deben sintetizarlo por lo que ahí es donde actúan ya que bloquean competitivamente y secuencialmente la síntesis de ácido fólico bacteriano, este es de suma importancia en las bacterias ya que a partir de él se lleva a cabo la síntesis de timidinas para ADN, purinas para ADN y ARN y por último metiotinina para proteínas ARNt met (Gómez, Calvo, y Prieto, 2015, p.795).

Se ha atribuido a la presencia de timidinas, purinas y metiotinina en la bacteria durante una infección la hace purulenta, según Lorenzo *et al* (2015) básicamente este grupo de antibióticos actúan inhibiendo metabolitos esenciales en la bacteria, las sulfamidas se suelen combinar con trimetropina para mejorar eficacia, se le conoce a la combinación como bloqueo secuencial primero las sulfamidas inhiben la síntesis de ácido fólico en el primer paso a pesar de eso las bacterias pueden seguir su crecimiento durante varias generaciones a expensas del pool del ácido tetrahidrofólico es ahí donde la trimetropina ejerce su acción, ya que esta bloquea la síntesis del ácido tetrahidrofólico rápidamente (p.795).

Figura 7. Esquema de mecanismo de acción de la combinación de sulfamidas y trimetropina.



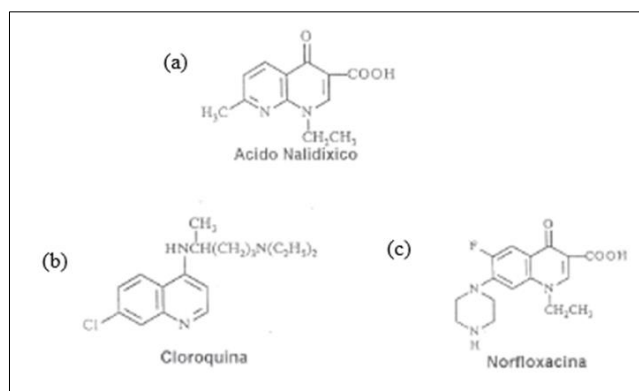
Nota: Obtenido de Lorenzo *et al* (2015, p.796)

Quinolonas.

Desde el año 1962 se creó la primera quinolona, el ácido nalidíxico a partir de este se han introducido al mercado nuevas generaciones de quinolonas (hasta cuatro generaciones), como parte de la terapéutica antibacteriana, son agentes totalmente sintéticos, el miembro original del grupo, el ácido nalidíxico inicialmente se utilizaba ante infecciones de la vía urinaria debido a su espectro se caracterizaba por exhibir exclusivamente actividad antibacteriana frente a gram negativos aeróbicos pero es poca actividad contra pseudomonas y bacterias gramnegativos, además su pobre nivel sérico y excelente concentración urinaria fueron factores que determinaron su empleo primario sobre infecciones del tracto urinario al igual que sus compañeros de primera generación el ácido oxolínico y pipemídico por lo que suelen utilizarse como antisépticos urinarios (Cue, Morejón y Salup, 2005, párr.1).

Es interesante indicar que la molécula de cloroquina constituyó el origen de la síntesis química de las quinolonas, según Rothlin (1994), “esta molécula derivó un compuesto que es un producto secundario de su síntesis se conoce como ácido nalidixico, además esta molécula fue el segundo fármaco utilizado para combatir a la malaria durante muchos años” (p.4), los argumentos para su uso habían sido indiscutibles ya que se le consideraba seguro, económico y efectivo ante el parásito que causa esa enfermedad, sin embargo se utilizó de forma generalizada y como consecuencia se vieron las primeras señales de resistencia, en este sentido, se interpreta, con fundamentos relacionados a estructura-actividad, que la norfloxacin (primer quinolona de segunda generación) presente propiedades curativas frente a la malaria, similares a su predecesora estructural.

Figura 8. Estructura moléculas del ácido nalidixico, cloroquina y norfloxacin.



Nota: Obtenido de Rothlin (1999)

La norfloxacin dio inicio a las quinolonas de segunda generación, según Maguiña y Solari (2002), en donde cambia el espectro, dando origen así al grupo que se ha denominado como fluoroquinolonas, la norfloxacin fue la primera y demostró poseer actividad frente a las bacterias gram-positivas y gram-negativas que caracterizaba a las quinolonas descriptas hasta ese momento, a partir de la molécula de norfloxacin, ciertas modificaciones estructurales dieron origen a la ofloxacin y la ciprofloxacina, estas fluoroquinolonas representaban un avance terapéutico especialmente importante ya que poseen actividad antimicrobiana extensa y son efectivos después de su administración por vía oral para el tratamiento de diversas infecciones (p.154).

Las fluoroquinolonas recibieron su nombre, según Cué, Morejón, y Salup (2005), debido “a la adición de un grupo piperacínilo en posición 7 y un átomo de flúor en posición 6, el átomo de flúor les confiere actividad contra especies grampositivas como los estafilococos, y el anillo

piperacínico un espectro de actividad más amplio contra especies gramnegativas aerobias y *P. aeruginosa*”(párr.3), estas modificaciones o adiciones permitieron ampliar el espectro de acción de estas quinolonas ya serían capaces de inhibir diversas bacterias intracelulares, así permiten contar con un mejor arsenal frente a infecciones causadas por diversos tipos de bacterias.

Dentro de este grupo de antibióticos se clasifican, como indica, Álvarez, Garza, y Vázquez (2015) “de acuerdo a su espectro de actividad, las quinolonas se clasifican dentro de cuatro distintas generaciones”(p.5000) cada una de estas presenta fármacos en donde se diferencian por su capacidad de aniquilar o inhibir a ciertos microorganismos, son un grupo sintéticos de amplio espectro cuyo objetivo es la síntesis de ADN bacteriana, básicamente ahí es donde se define su mecanismo de acción, ya que conducen a la muerte celular bacteriana mediante la fragmentación cromosómica, penetran en la bacteria inhibiendo directamente la replicación bacteriana es decir su ADN, a medida en que se avanza en generación mayor es la capacidad del antimicrobiano, todas poseen una estructura base muy similar, así se diferencian en las sustituciones que poseen y por ende en sus características farmacocinéticas.

Tabla 1. Quinolonas por generación, representantes y espectro de actividad

Generación	Representantes	Espectro de actividad
1^a	Ácido nalidíxico, ácido oxolínico, ácido piromídico, ácido pipemídico, rosoxacina, cinoxacina, flumequina	Principalmente, enterobacterias Bacilos gramnegativos: <i>E. coli</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Serratia spp.</i> , <i>Citrobacter spp.</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Shigella spp.</i>
2^a	Ciprofloxacina, enoxacina, fleroxacina, lomefloxacina, nadifloxacina, norfloxacina, ofloxacina, pefloxacina, rufloxacina	Mismas que 1 ^a generación. Espectro extendido en bacilos gramnegativos, inicia cobertura contra cocáceas grampositivas y “atípicos”. Bacilos gramnegativos: <i>P. aeruginosa</i> , <i>M. catarrhalis</i> , <i>Acinetobacter spp.</i> , <i>S. maltophilia</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>Campylobacter spp.</i> , <i>Cocáceas grampositivas: S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , Patógenos atípicos: <i>C. trachomatis</i> , <i>Mycoplasma spp.</i>
3^a	Levofloxacina, esparfloxacina, tosufloxacina,	Mismas que la 2 ^a generación. Bacilos gramnegativos, espectro extendido en cocáceas grampositivas y “atípicos”, Bacilos gramnegativos: Mismos que en 1 ^a

	temafloxacin, grepafloxacin	y 2ª generaci3n, Coc3ceas grampositivas: <i>S. pneumoniae</i> y <i>S. pyogenes</i> Pat3genos at3picos: <i>C. pneumoniae</i> y <i>M. pneumoniae</i>
4ª	Balofloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, gemifloxacin, moxifloxacin, pazufloxacin, arenfloxacin, sitafloxacin, rovfloxacin, trovafloxacin	Mismas que la 3ª generaci3n. Bacilos grampositivos, espectro extendido en anaerobios y “at3picos” Coc3ceas grampositivas: <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> (resistente a penicilina) Anaerobios: <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> Pat3genos at3picos: <i>L. pneumophila</i> , <i>C. pneumoniae</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>Ureaplasma spp.</i>

Nota: Obtenido de 3lvarez, Garza, y V3zquez (2015, p.500).

Mecanismo de acci3n.

En general, actúan sobre una enzima, así lo indica Campos, Mart3nez y Mendoza, (2008) “al inhibir la topoisomerasa bacteriana II (DNA-girasa) y la topoisomerasa IV” (p.173), estas son enzimas esenciales de manera que estos medicamentos se unen a las topoisomerasas y las inhiben de esta manera la bacteria no ser3 capaz de sintetizar ADN, ni de desenrollar y enrollar en el nivel de cromosomas, ya que esto es necesario para facilitar el movimiento del ADN para una correcta replicaci3n del mismo; la uni3n de una quinolona a la ADN-girasa provoca un cambio conformacional en el complejo girasa-ADN, siendo diferente e ineficiente para el microorganismo pat3geno.

Las quinolonas como indica Lorenzo *et al* (2015), “inhiben la replicaci3n del ADN bacteriano, ya que inhiben la enzima ADN-girasa, esta enzima tiene la funci3n de cortar la doble h3lice del ADN cromos3mico en fragmentos a los que superenrolla en sentido negativo y a continuaci3n procede al sellado de los extremos previamente cortados de ADN” (p.795), es aqu3 donde las quinolonas ejercen su acci3n con la inhibici3n del cierre de estos extremos cortados por su actuar sobre la enzima, ya que un cambio en la estructura de esta, impedira que realice su funci3n de forma normal, en ese sentido impide la s3ntesis de material gen3tico de la bacteria y por ende en su replicaci3n.

Farmacocinética.

Las quinolonas se absorben muy bien después de su administración oral y se distribuyen de manera extensa en los tejidos del cuerpo, la unión a proteínas plasmáticas es baja en general entre el 20 y el 40 %, enlazándose principalmente a la albúmina, los alimentos no modifican la absorción oral pero aumentan el intervalo que transcurre, hasta alcanzar la concentración sérica máxima, el volumen de distribución de las quinolonas es elevado y su concentración en orina, riñones, pulmón, tejido prostático, heces fecales, bilis, macrófagos y neutrófilos es mayor que su concentración sérica, poseen una biodisponibilidad que supera el 50 % en todos sus compuestos y en algunas se acercan al 100 % (Goodman y Gillman 2012, pp.1472-1473).

Sus concentración séricas se ven alteradas al ingerir cierto productos así lo mencionan Cué, Morejón, y Salup (2005), en aquellos que contienen sucralfato o sales de calcio, aluminio, magnesio, hierro o cinc, como las que están presentes en los antiácidos, suplementos nutricionales o suplementos minerales; en cuanto a su eliminación la mayor parte de las quinolonas se elimina a través de los riñones básicamente por secreción tubular, pero también por filtrado glomerular aunque las vías de eliminación de algunas difieren, sin embargo debido a que mayoritariamente se elimina a nivel renal su vida media aumenta lo que hace que el medicamento pase más tiempo dentro del organismo razón por la cual en caso de pacientes con insuficiencia renal se debe ajustar las dosis, todas las fluoroquinolonas exhiben tanto efecto post-antibiótico como actividad bactericida dependiente de concentración (párr.21).

Usos terapéuticos.

Entre los usos terapéuticos para el uso de quinolonas se encuentran las siguientes: infecciones del tracto urinario no complicadas y complicadas en estos casos son muy potentes y tienen un espectro de actividad antimicrobiana más amplio, en prostatitis bacteriana en aquellos pacientes que no responden al trimetoprim-sulfametoxazol las fluoroquinolonas administradas durante cuatro a seis semanas son efectivas, infecciones de transmisión sexual en este caso si son debido a *Treponema pallidum* el cual causante de sífilis carecen de actividad frente a este, sin embargo son activas in vitro contra *C. trachomatis* y *H. ducreyi* cuando causa chancroide (infección de la mucosa genital) el cual responde bien al tratarse con ciprofloxacina durante tres días (Goodman y Gillman 2012, p.1473).

Según Carrillo, Flores y Rodríguez (2018), también se ha documentado su eficacia para el manejo de infecciones cutáneas, osteo-articulares e infecciones digestivas y abdominales como en casos de diarrea del turista causada por *E. coli* a su vez son efectivas para el tratamiento de los pacientes con shigellosis y en muchos casos se utilizan esquemas incluso más cortos; además son consideradas como alternativa a los agentes de primera línea para el manejo de infecciones bacterianas del tracto respiratorio, como sinusitis, neumonía adquirida en la comunidad y bronquitis crónica complicada en pacientes inmunocomprometidos (p.90).

En las infecciones del pie diabético, que a menudo son causadas por una mezcla de bacterias incluidos bacilos gramnegativos, anaerobios, estreptococos y estafilococos, una opción razonable es una fluoroquinolona combinada con un fármaco con actividad antianaerobia; también se han empleado como quimioprofilaxis en pacientes neutropénicos, post-quirúrgicos y cirróticos con riesgo de desarrollar peritonitis bacteriana espontánea, se pueden utilizar en los regímenes con fármacos múltiples para el tratamiento de la tuberculosis multirresistente y las infecciones mico bacterianas atípicas y cabe recordar que se encuentran contraindicadas en embarazo (Álvarez, Garza, y Vázquez, 2015).

Reacciones adversas.

Por lo general las quinolonas y fluoroquinolonas se toleran bastante bien dentro de sus reacciones adversas más frecuentes según Goodman y Gillman (2012) “son anomalías del aparato digestivo, donde los pacientes manifiesta náuseas leves, vómito y/o dolor abdominal, en otros se observan efectos secundarios en el SNC, principalmente cefalea leve y mareo. Rara vez provoca alucinaciones, delirio y convulsiones” (p.1474), los efectos secundario abarcan desde el sistemas gastrointestinal cuyos efectos secundarios ocurrirán con la administración oral del antibiótico en cuanto a los que se dan en el nivel del sistema nervioso central son efectos leves y ocurren ya que cierta parte del medicamento logra acceder en este y causa este tipo de alteraciones indeseadas.

En algunos casos también aparecen exantemas, como las fluoroquinolonas exhiben afinidad por el tejido conectivo, se ha reportado casos con muy poca frecuencia de aparición tendinitis y ruptura del tendón de Aquiles, con mayor riesgo en pacientes mayores de 60 años y deportistas; los factores predisponentes incluyen el tratamiento con corticoesteroides, insuficiencia renal y receptores de trasplantes de órganos sólidos estos síntomas se alivian en poco tiempo tras retirar el fármaco, pero en 10% de los pacientes pueden persistir varias semanas. Debido a que algunas fluoroquinolonas tienen el efecto potencial de producir arritmias por alargamiento del QT corregido (QTc), los pacientes susceptibles a este evento adverso son del sexo femenino y con tratamiento concomitante con amiodarona o macrólidos (Carrillo, Flores , y Rodríguez, 2018, p.95).

Resistencia a las quinolonas.

Hasta el momento la resistencia bacteriana mayoritariamente descrita ha sido a través de mutaciones cromosómicas, según Maguiña y Solari (2002), “tales como deleciones, duplicaciones, inversiones o traslocaciones y mutaciones en los plásmidos (moléculas de ADN)” (p.159), estos mecanismos estan directamente relacionados con modificaciones de relevancia como la ADN-girasa, o disminución del número de porinas en la membrana así como en el sistema de eflujo que saca la droga fuera de la célula, lamentablemente, la resistencia puede aparecer rápidamente, incluso durante un curso de tratamiento.

Recientemente se han descrito ciertos genes resistentes hacia las quinolonas el primero de ellos se les atribuye a genes codifican para la formación de una proteína de aminoácidos de repetición de pentapéptidos, la cual protege a ADN girasa y a topoisomerasa IV de la inhibición de las quinolonas la presencia de estos genes puede aumentar el número de mutaciones que causan resistencia a quinolonas; además suelen combinarse con otros genes dentro del mismo plásmido, generando resistencia cruzada entre quinolonas y otros antimicrobianos a los que no se era previamente resistente; como segundo mecanismo (Álvarez, Garza, y Vázquez, 2015, p.502).

Tabla 2. Mecanismos de resistencia a quinolonas y sus características.

Mecanismo	Características		
Mutaciones cromosómicas	Afectan las regiones determinantes de resistencia a quinolonas de ADN girasa (GyrA y GyrB) y topoisomerasa IV (ParC y ParE). Se dan por errores de transcripción durante la replicación cromosómica y ocurren en rangos tan altos como 1 en 10 ⁶ -10 ⁹ en bacterias silvestres.		
Reducción de la concentración intracelular de las quinolonas	Se da principalmente por dos mecanismos: Pasivamente: Reducen la permeabilidad por “downregulation” de proteínas extra-membranas que forman canales	Activamente: Sobre-expresan sistemas de eflujo multidroga pertenecientes a la super-familia de división de resistencianodulación (DRN), AcrAB-TolC	
Genes de resistencia a quinolonas mediados por plámidos	Se da principalmente por tres mecanismos: Qnr: Son genes transferibles que pueden aumentar el número de mutaciones que causen resistencia a quinolonas	Gen aac(6′)-Ib-cr: Es una variante de aminoglucósido acetiltransferasa o aac(6′)-Ib que reduce la actividad antimicrobiana de algunas quinolonas	Genes qepA y OqxAB: Codifican para generar una bomba de eflujo tipo QepA que confiere resistencia a quinolonas hidrofílicas

Nota: Obtenido de Álvarez, Garza, y Vázquez (2015, p.503)

Ciprofloxacina

Además de actuar sobre la ADN girasa y topoisomerasa IV, su accionar abarca al menos a dos enzimas, algunas también actúa en la membrana celular bacteriana, desintegrando las membranas interna y externa, cuando se encuentran en altas concentraciones teniendo un efecto proporcional a la dosis administrada, que permite generar grandes concentraciones inhibitorias, la semivida sérica de ciprofloxacina es de tres a cuatro horas, además como parte de su excreción, se ha detectado en la leche materna humana, por lo que su uso se debe valorar en caso de ser administrado durante la lactancia, en cuanto a su biodisponibilidad alcanzar hasta un 70 % (Álvarez, Garza, y Vázquez, 2015, p.500).

Tabla 3. Microorganismos bacterianos sensibles a ciprofloxacino (actividad antimicrobiana in vivo e in vitro).

<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	<i>Peptostreptococcus species</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus pneumonia</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Stapylococcus saprohyiticus</i>
<i>Haemophilus influenzae y parainfluenzae</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Providencia stuartii y rettgeri</i>	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>
<i>Morganella morganii</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Citrobacter freundii y diversus</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Staphylococcus aureus y epidermidi</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>S. f, s, d, b</i>	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Clostridium perfringens</i>

Nota: Obtenido de Carrillo, Flores y Rodríguez (2018, p.95)

Nanotecnología

En ciencias de salud poco a poco se ha ido innovando en el desarrollo de sistemas para terapia y diagnóstico de enfermedades, transporte o liberación de fármacos e inclusive en la ingeniería de tejidos, biosensores, todos estos han sido objeto de enorme interés y su investigación ha crecido enormemente permitiendo conocer más acerca de nuevas herramientas para obtener una mejor respuesta en el tratamiento de diversas patologías; uno de estos temas ha sido la implementación de la nanotecnología dentro del ámbito de salud, están creando nuevas oportunidades para la administración de drogas como alternativa a la administración oral y parenteral en cuanto al transporte y liberación.

El término tal como lo menciona Villafuerte - Robles (2012) “es el estudio y fabricación de estructuras y dispositivos en una dimensión de nanómetros donde el prefijo “nano” significa 10^{-9} . En otras palabras, significa la ingeniería de máquinas complejas, de materiales y de circuitos formados átomo por átomo o molécula por molécula”(p.3), según esta definición se busca poder desarrollar y trabajar en el nivel nanomolecular innovado con la tecnología al implementar procedimiento a través de complicadas máquinas o por lo menos diferentes a las utilizadas

convencionalmente, este campo utiliza tecnología basada en interacciones entre el cuerpo humano y materiales, estructuras o dispositivos, cuyas propiedades son fundamentales y se reflejan en una escala nanométrica, comprende un área en la cual falta adentrarse cada vez más, ya que no es muy empleado, principalmente por aquellos investigadores que cuentan con un aporte económico que les permita desarrollar e investigar al respecto.

Básicamente, se habla de la manipulación de nanosistemas y nanopartículas creadas de un tamaño tan pequeño ya que son nanométricas pero capaces de aplicarse y generar nuevos aporte o mejorar sistemas actualmente empleados, comprende la aplicación de la materia en donde se enfoca no solo a materiales sino que también dispositivos, sistemas, partículas, entre otros. Se busca expandir sus propiedades para su implementación en el nivel físico, químico y biológico, con el propósito de desarrollar elementos con mejor funcionalidad y así tener un prometedor futuro en el área de salud u otras áreas en donde pueda implementarse, específicamente si se refiere a farmacia engloba el estudio de biotransportadores para liberación controlada de fármacos de esta manera se optimiza su biocompatibilidad.

A su vez existe una definición similar del autor aunque la idea no cambia mucho este explica que la nanotecnología va de la mano con el diseño, la caracterización, producción y la aplicación de diversos materiales, sistemas así como estructuras, mediante el control o manipulación de su tamaño y forma a un nivel realmente diminuto, la aplicación de esta involucra conocimiento de varias disciplinas para poder generar todo tipo de estructuras o partículas con las cualidades que se requieren, así el potencial que este es capaz de llegar a generar es de gran relevancia en campos en pro de la medicina y la farmacia, ya que sus aplicaciones irían desde monitoreo, curación, tratamiento entre otros (Torres Suárez, 2016, p.33).

La nanotecnología utiliza propiedades del sistema de nanoescala de tamaños, como mencionan, Navarro, Cabral, Malanga y Savio (2008), “esta tecnología ofrece la posibilidad única de preparar nanosistemas o nanopartículas de liberación controlada capaces de circular en el torrente sanguíneo o de atravesar la piel o mucosas para ingresar a determinados grupos celulares o al sitio de acción de manera selectiva” (p.213), se utiliza como herramienta para diseñar, construir e implementar en la liberación controlada de medicamentos, según la nanopartícula requerirá algún tipo de señal interna como pH, temperatura u otros para que estas nanopartículas respondan descargando el fármaco en un sitio de acción o induciendo una respuesta celular determinada.

El autor anterior lo menciona claramente, la nanotecnología aprovecha las características de las nanopartículas para utilizarlas como sistemas que permitan transportar medicamentos, una vez que se logra acceder al sitio deseado este lo libera mediante la señalización que el tipo de nanopartícula requiera, mediante esta acción es posible conseguir un aumento de selectividad, ya que logra acceder al sitio específico de origen permitiendo que se libere la cantidad completa del fármaco en el lugar electo además de eso protege frente a la metabolización o eliminación innecesaria, en otras palabras reacciones o pasos metabólicos antes de lo necesario y por supuesto un bloqueo de acceso a tejidos, donde no es requerido, lo que podría dar a origen a los efectos secundarios que se les atribuye a los medicamentos al administrarse, en otras palabras, es posible aumentar el índice terapéutico del fármaco original.

Nanomedicina

Este término surge a partir de la combinación de la nanotecnología y la medicina, o más bien en la aplicación de una sobre otra, esta permite obtener avances tecnológicos enfocados o dirigidos a la salud de los pacientes, la curación de enfermedades en el cuerpo ya sea a nivel celular o molecular, siendo uno de los campos más prometedores dentro de los nuevos avances tecnológicos potenciales en medicina; esta tecnología también está revolucionando áreas médicas como el seguimiento médico, la reparación de tejidos, el control de la evolución de enfermedades, y el mejoramiento de los sistemas biológicos humanos, sin dejar de lado el diagnóstico, tratamiento, prevención y el suministro de medicamentos a las células (Torres Suárez, 2016, p.33).

El fin de la nanomedicina es más que claro, sin embargo, como nos indica Dhakad *et al* (2013) “el objetivo de la nanomedicina es monitorear, controlar, construir, reparar nanoestructuras para lograr beneficios médicos” (p.16), todo apunta a medir la eficacia o los resultados al utilizarse implementos nanotecnológicos, a su vez se examinar con el fin de controlar y en caso de producirse fallas o contratiempos fuera de lo esperado y que no resulten en beneficio del objetivo, reparar o aplicar estrategias que permitan corregir dicho inconveniente y buscar una solución pertinente que evite utilizar nuevamente la nanoestructura, todo esto con el objetivo de producir resultados para el constante desarrollo de aporte médicos.

Encapsulación

La encapsulación es un proceso empleado en la formulación de algunos medicamentos para poder contenerlos dentro de alguna partícula con ciertas características, Sandoval y otros (2016) hacen referencia a este como “un proceso tecnológico que permite contener una sustancia o agente activo en el interior de otra que constituye el recubrimiento; implica el atrapamiento de agentes bioactivos dentro de materiales de soporte con una dimensión a nanoescala que en este caso sería en un liposoma” (pp.188-189), como bien estos autores lo explican consiste en retener una sustancia bien sea un fármaco u otros dentro de algún material que servirá como una capa externa dentro de la cual se encontrara confinado la sustancia de interés que se desea transportar o proteger de un medio con el cual se encontrara en contacto o ya sea para que este atrapamiento permita que la totalidad de la sustancia encapsulada llegue al lugar o sitio que se desea.

Este es un proceso utilizado para atrapar sustancias dentro de diversas nanopartículas permitiendo que estas se distribuyan adecuadamente dentro, además mejora la incorporación de moléculas bioactivas, este proceso proporciona una barrera física entre los compuestos bioactivos sensibles y el medio; a raíz de esto que permite estabilizar y mantener integro la sustancia recubierta, ahora bien al evitar contacto por medio del recubrimiento se evitan procesos de degradación como la oxidación o la hidrólisis, lo que incrementa la biodisponibilidad de los principios activos. Además, permite un transporte íntegro del contenido y la liberación del mismo a una velocidad controlada a lo largo del tiempo o bajo condiciones específicas en el sitio deseado esto dependerá del tipo de partícula o sistema de transporte empleado (Nedovic *et al*, 2011).

Existe un término que se conoce como nanoencapsulación la idea general no se pierde que implica como tal contener un agente dentro de otro, según, Sandoval *et al* (2016) “la nanoencapsulación es un proceso que implica el atrapamiento de agentes bioactivos dentro de materiales de soporte con una dimensión a nanoescala” (p.189), prácticamente se especifica un poco más que el material que sirve de contenedor, posee características milimétricas de muy poco medida a nivel nanomolecular, pero que a su vez este es capaz de actuar como soporte para poder rodear en su totalidad a la sustancia bioactiva que se desea encapsular permitiendo el desarrollo y mejoramiento al utilizar herramientas en procesos de nanoescala.

Muchas sustancias se emplean para recubrir o encapsular sólidos, líquidos o gases, de diferentes tipos y propiedades, por lo tanto, el tamaño y la forma de las micropartículas contenidas en la encapsulación esto depende de las propiedades fisicoquímicas del material de la pared, de su composición y de la técnica de encapsulación utilizada, la técnica depende del material que se desee recubrir.

Factores limitantes.

Independientemente, del proceso electo para la encapsulación, deben de tomarse en cuenta ciertos factores que puedan afectar el proceso e inciden directamente, entre los más destacables se encuentran, según Sandoval *et al* (2016): la concentración del agente encapsulador ya que dependencia del porcentaje en que se encuentre pueden variar la fijación o capacidad de conservar la encapsulación; pH del medio debe conocerse si este factor afecta la integridad del material que encapsula o bien modifique las cargas del medio y genere reacciones de repulsión o atracción no deseadas; temperatura de reacción esto con el fin de evitar reacciones intermedias indeseables en el proceso y el tamaño de partícula según la cantidad de partículas a encapsular (p.204).

También se debe considerar la liberación del principio activo encapsulado, se realiza por difusión a través de la pared exterior para cierto tipo de sustancias como los polímeros, y en el caso de liposomas por destrucción de la membrana con altas concentraciones de iones divalentes, así menciona, Sandoval y colaboradores, sustancias como el calcio, tensioactivos, cambio de pH o de temperatura, los liposomas suelen utilizarse para el encapsulamiento de sustancias activas solubles en agua, y en particular, se han utilizado frecuentemente para la encapsulación de sistemas enzimáticos.

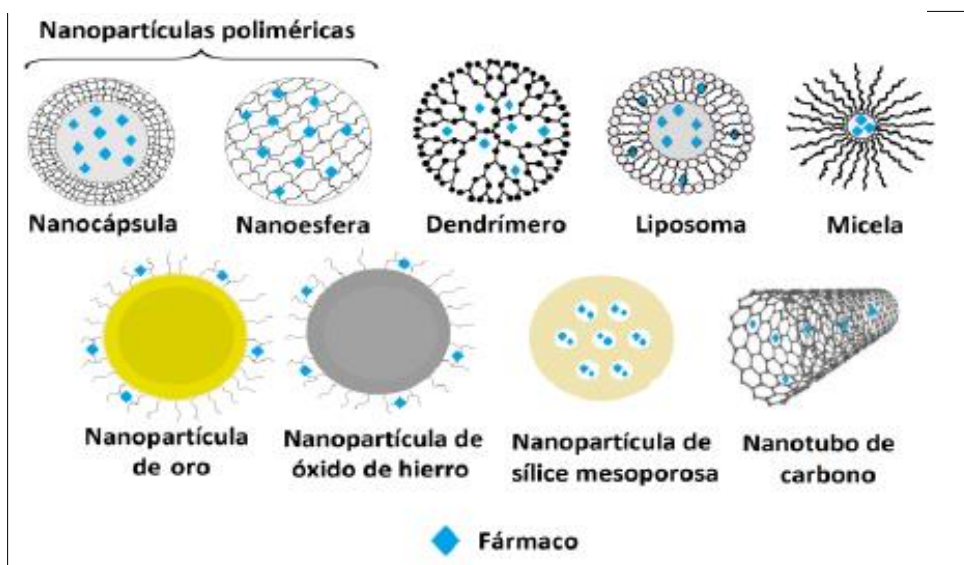
Nanopartículas

Dentro de la nanotecnología se puede encontrar diversas nanopartículas las cuales son sintetizadas, con lo que se busca obtener como lo señalan: Roblero Bartolón y Ramón Gal “ofrece la posibilidad de manipular aquellas de sus propiedades físicas y químicas necesarias para lograr el objetivo de diseñar moléculas que proporcionen una interacción biológica altamente específica” (2015, p.86), debido a la composición y demás características que poseen, como tal, cada una de los diversos tipos de nanopartículas, se pueden aprovechar las propiedades físico-químicas con el fin de optimizar su funcionamiento y así tener una especificidad deseada, con esto se mejoraría la cantidad de medicamento que logra acceder al lugar de acción que se necesita, y a su vez se podría mejorar la biodisponibilidad del fármaco encapsulado en la nanopartícula.

A parte de lo anterior con la administración de este tipo de nanopartículas o nanosistemas como menciona Torres Suárez (2016) pueden “aumentar eficacia, reducir los efectos secundarios derivados de su distribución sistémica en forma libre o incluso favorecer su acceso a biofase”(p.34), estos beneficios se deben o son los esperados al utilizar vehículos farmacológicos esto según la especificidad de localización que se les acredita, ya que de esta manera se evita que parte del medicamento se destruya sin especificidad alguna, se evita que interactúe con tejidos sanos y provoque efectos adversos además por la estabilidad del sistema que lo conforma se considera que no provocará efectos adversos por el vehículo como tal.

La conformación de las nanopartículas varía así lo mencionan los autores: Navarro, Cabral, Malanga y Savio (2008), “pueden estar ser agregados supramoleculares o productos de síntesis cíclica, obtenidos a partir de bloques de átomos de carbono, oro, péptidos, lípidos (liposomas, arqueosomas, nanopartículas lipídicas sólidas), etilendiamina o alquilacrilatos (dendrímeros), en un proceso denominado bottom-up, es decir, construcción desde lo más pequeño hasta lo de mayor tamaño”(p.214), los materiales base para la conformación varían pero presentan algo en común y es que todas las nanopartículas están formadas por la agrupación de varios átomos o estructuras en donde acorde con sus propiedades le dan la forma final a la misma, la selección adecuada de los componentes y la técnica de preparación permite controlar y modificar el tamaño, la forma, las propiedades superficiales y la capacidad de respuesta frente a señales.

Figura 9. Principales tipos de nanopartículas.



Nota: Obtenido de Lafuente Gómez (2017, p.3)

Dendrímicos

Este tipo de partícula, según La fuente (2017) “son polímeros sintéticos ramificados forman una estructura tipo árbol, en el un fármaco puede encapsularse en las cavidades internas o incorporarse en la superficie externa por enlaces covalentes o interacciones electrostáticas” (p.5), como bien menciona los dendrímicos es un tipo de macromoléculas formadas por la unión mediante enlaces de varias unidades simples llamadas monómeros, los polímeros presentan una estructura regular bien definida y altamente ramificada y cuya originalidad radica en el hecho de que su tamaño y geometría pueden ser específicamente controladas en su síntesis, con el fin de que posean propiedades físicas y químicas prediseñadas y específicas, a medida que las capas se van formando alrededor del núcleo inicial, surge la naturaleza dendrítica de su estructura molecular.

Micelas poliméricas

Estas poseen un núcleo hidrofóbico que permite incorporar fármacos liposolubles rodeado de una corteza de polímeros hidrófilicos que lo estabilizan, la parte hidrofóbica se asocian para formar un dominio interno denominado núcleo micelar capaz de solubilizar y albergar fármacos liposolubles, mientras que la parte hidrofílica conforman una corona que se encuentra en contacto directo con el medio externo, usualmente acuoso, estabilizando físicamente la micela; esto les atribuye una combinación de características únicas que las convierten en nanotransportadores de

fármacos muy versátiles, pueden alcanzar tamaños de hasta varios cientos de nanómetros las principales aplicaciones de las micelas poliméricas se centran en mejorar solubilización, estabilización y liberación de fármacos de naturaleza hidrófoba (Hernández, Moreno, Porras y Zaragoza, 2010, p.140).

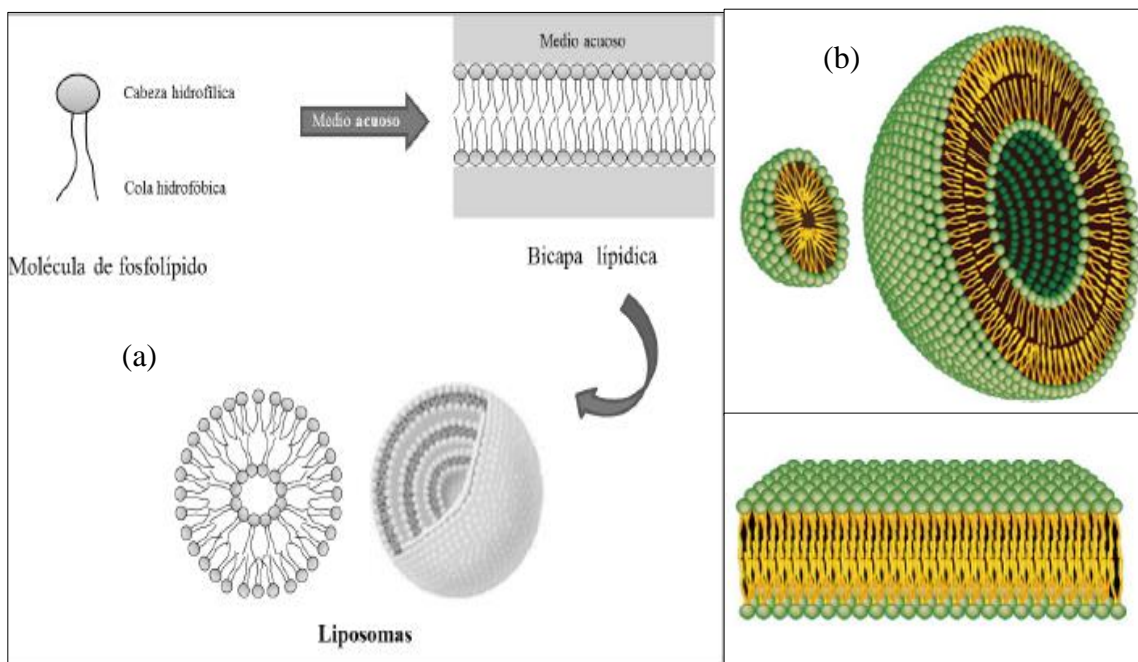
Nanotubos de carbono

Estructura tubular funcionalizada, la cual es soluble y biocompatible en los cuales los fármacos se conjugan con las moléculas usadas en la funcionalización, están formadas por redes hexagonales cerradas de átomos de carbono esta disposición hace que sean ligeros, huecos y porosos (Lafuente, 2017, p.5)

Liposomas

Los liposomas se definen, según menciona Lorenzo y otros (2015) como “ vesículas sintéticas formadas por una o más bicapas concéntricas de fosfolípidos, que pueden albergar en su interior fármacos hidrosolubles o liposolubles, macromoléculas, material genético y otros agentes, son captados principalmente por células reticuloendoteliales, sobre todo las hepáticas.” (p.19), este tipo de partículas tiene características tanto hidrosolubles como liposolubles debida a los compuestos, son estructuras esféricas formadas por una o más bicapas lipídicas concéntricas, una forma circular, tienden a organizarse según la polaridad de la estructura que lo conforma, haciendo posible presentar una fase acuosa hidrosoluble y otra liposoluble, esta disposición permite la incorporación de sustancias con diversas características de solubilidad, ya que les ubicará en alguna de las fases al momento en que incorpore en un liposoma ya preparado; pueden encapsular moléculas hidrofílicas en el espacio acuoso interno o de carácter anfifílicas o lipofílicas que se acomodan en las bicapas concéntrica.

Figura 10. Estructura del liposoma.



Nota: Obtenido de (a) Vázquez González, 2015,p.14 y (b) Bozzuto Molinari (2015, p.976)

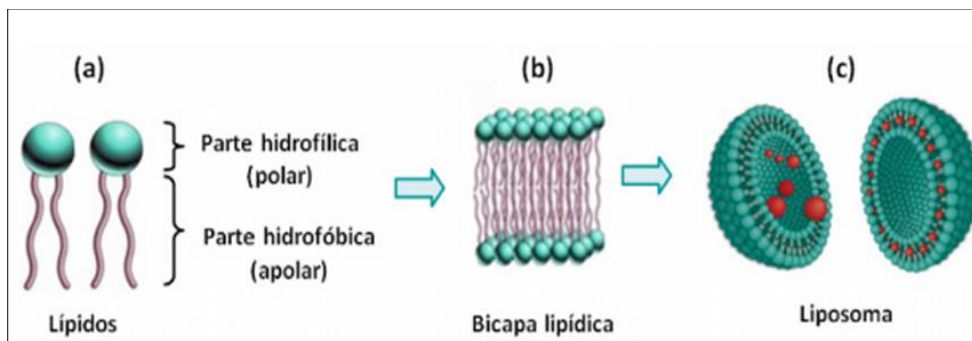
El liposoma es uno de los sistemas de administración de fármacos más exitosos que aplican la nanotecnología para potenciar la eficacia terapéutica y reducir la toxicidad de los medicamentos convencionales, los agentes terapéuticos se encapsulan en el núcleo acuoso o bicapas lipídicas de los liposomas para mejorar su suministro al tejido seleccionado ya que según la característica de solubilidad el compuesto bioactivo a transportar se ubicará para posteriormente permitir su transporte, así es como se implementa esta herramienta nanotecnología permitiendo desarrollar mejor vehículos con características adecuadas para su utilización (Fan y Zhang, 2013, p.81).

Los liposomas son vesículas microscópicas que se fabrican mezclando agua con compuestos dipolos como los fosfolípidos, ellos tienen un centro hidrófilo en el que una o más bicapas de fosfolípidos están alrededor de ellas, las formulaciones con fármacos empaquetados en liposomas pueden llegar a presentar una mejor acción que otras convencionales, sin embargo su implementación resulta un poco costosa, esta forma de administración permite además la posibilidad de conseguir la liberación selectiva en un tejido, pues los liposomas pueden concentrarse en determinadas células según las características que posean o más bien la conformación de fosfolípidos con la cual se sintetizaron (Sebaaly *et al*, 2016).

A los liposomas se le atribuye que son cinéticamente estables, tienen como beneficios la posibilidad de producción a gran escala con ingredientes, ya sea de origen naturales o combinaciones de fosfolípidos específicos según se considere necesario en su fabricación; como se había mencionado con anterioridad según Fathi *et al* (2012) “los liposomas permiten el atrapamiento, transporte y liberación de materiales solubles en agua, lípidos y materiales anfifílicos” (p.81) así mismo la capacidad de direccionar a un blanco específico dentro del cuerpo”; los liposomas son adecuados para la encapsulación de sustancias hidrófilas, hidrófobas y también anfifílicas; las sustancias hidrófilas pueden incorporarse en la parte interior, las sustancias hidrófobas pueden atraparse dentro de la bicapa hidrófoba y los compuestos anfifílicos pueden ser incorporado en la interfase lípido - agua.

En palabras más sencillas se podría describir a los liposomas como burbujas redondas, consisten en un fosfolípido acuoso, esta estructura convierte a los liposomas en portadores de fármacos ideales, son estructuras micro o nanoscópicas consistentes en una o varias esferas concéntricas de bicapas fosfolipídicas que encierran compartimentos acuosos, sin embargo son de carácter anfifílico lo que les permite contener diversos tipos de sustancias, esto a su vez les proveen atributos únicos que los convierten en vehículos adecuados de fármacos tanto hidrofílicos como lipofílicos, esto debido a los fosfolípidos que lo componen permitirá que los fármacos hidrófilos tiendan a quedar atrapados en el núcleo o compartimiento centra de este tipo de nanopartícula; mientras que los hidrófobos quedarán atrapados dentro de las bicapas lipídicas o mejor dicho las capas externas dependiendo de cuantas presente según composición (Fan y Zhang, 2013).

Figura 11. Representación gráfica de (a) molécula anfifílica, (b) conformación de bicapa lipídica y (c) formación de un liposoma.



Nota: Obtenido de Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos (Ramírez Ortiz, 2015, p.226)

Se trata, entonces de reservorios de fármaco que lo conducen al interior del organismo por lo que su reconocimiento incluye únicamente a la nanopartícula y no a la sustancia que transporta como indica Navarro, Cabral, Malanga, y Savio (2008), “a nivel sistémico, sólo son reconocidos los liposomas y no la molécula activa libre, de modo que el perfil farmacocinético del principio activo lo determinan las propiedades fisicoquímicas de los liposomas”(p.214), la respuesta que el cuerpo presente da hacia el liposoma, ya que es el que estará en contacto directo con el organismo, de esta manera la cinética que mediará el proceso será diferente a la que normalmente se presenta, cuando el medicamento administrado de manera convencional.

Los sistemas de administración de fármacos liposómicos son bien conocidos como una forma de mejorar la biodistribución de muchos compuestos médicos mediante la superación de las dificultades en su absorción celular en los tejidos diana o el aumento de la estabilidad de los productos farmacéuticos al proteger su integridad (de los compuestos terapéuticos) al transportarlos hasta el sitio deseado en el organismo, ya sea de la luz, reacciones de primer paso o tener un impacto en la forma en que se encuentran permitiendo de esta manera que mayor cantidad o la totalidad del medicamento logre acceder correctamente (Zgadzaj, Giebułtowicz, Podbielska, y Gubernator, 2018).

Los sistemas liposomales pueden ser modificados en su composición para ajustar su afinidad por determinado sitio blanco, así lo mencionan Rezaei, Fathi, y Mahdi (2018) “de este modo se aumenta así la tasa de liberación del principio activo, disminuyendo los efectos secundarios ocasionados por la escasa liberación en otros tejidos” (p.156), este direccionamiento puede llevarse a cabo por el diseño de liposomas con características particulares que permitan transportar la cantidad requerida hasta el sitio de acción sin pérdida durante el trayecto hacia este, a su vez aumentar la estabilidad de los compuestos sensibles contra la luz, el oxígeno, la temperatura y la volatilidad básicamente los protege del medio al cual serán expuestos, también aumentan la solubilidad de los compuestos poco solubles y por lo tanto mejoran su biodisponibilidad.

A pesar de las prometedoras aplicaciones y ventajas que nos ofrece este tipo de nanopartículas, los liposomas no están exentos de presentar algunas limitaciones a la hora de implementarse, así lo manifiestan los autores Rezaei, Fathi y Madhi (2018), “los liposomas tienen algunas limitaciones, como la inestabilidad física y química, como en la degradación, oxidación,

hidrólisis y agregación de fosfolípidos” (p.156), sin embargo, esto puede deberse a la composición que posea el liposoma lo que le impida mantenerse química y físicamente estable, muchas variables pueden ser las causante de dichas limitaciones, en este campo la investigación no es mucha pero como cualquier otra nanopartícula pueden sufrir reacciones metabólicas, una vez que sean administradas ya que el cuerpo al realizarla para poder eliminar el liposoma de alguna manera como ocurre con cualquier sustancia que se ingiere, sin embargo, cualquier efecto secundario indeseable del fármaco encapsulado se reduce sustancialmente, en comparación con la forma libre.

Debido a sus constituyentes, los liposomas tienen baja toxicidad intrínseca y brindan protección al fármaco de la degradación sistémica, ya que su conformación son de estructuras que como tal ya se encuentran dentro del organismo, son buenos candidatos a mejorar la biodisponibilidad de varios tipos de sustancias ya sean hidrófobos, hidrófilo o anfífilos con escasa solubilidad para encapsularlas y transportarlas a través de esas vesículas e internalización en membranas celulares, los liposomas son capaces de circular por la sangre, atravesar la piel, anclarse o traspasar mucosas para inducir una respuesta celular determinada o simplemente liberar la sustancia que transporta debido a la similitud que comparte con las células (Navarro, Cabral, Malanga, y Savio, 2008)

A fin de lograr el vehículo adecuado en cuanto a porcentaje de incorporación, estabilidad, biodistribución y liberación del principio activo, según el objetivo propuesto, la formulación y el proceso de preparación deben ser diseñados y optimizados, específicamente para cada fármaco, es decir, que no son extrapolables entre diferentes sistemas liposomales, a su vez, como indica Clares (2010) el tamaño juega un gran rol ya que este va a tomarse en cuenta al momento de eliminarse en general un liposoma formulado a partir de diversos lípidos se elimina en dos fases, una inicialmente rápida y posterior de manera lenta, sin embargo si el liposoma posee un tamaño en particular de lípidos la eliminación de la circulación es monofásica ya sea lenta, intermedia o rápida varía mucho lo que si se sabe es que los liposomas pequeños son degradados más lento que lento que los grandes (p.36).

Componentes.

Lípidos.

Para lograr comprender mejor la conformación de un liposoma es necesario conocer la conformación de su estructura base, que en este caso son los lípidos, los cuales indican los autores Hoyos Serrano y Rosales Calle (2014) como: “compuestos orgánicos de origen biológico, formados en su mayoría por átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno, y con la característica en común de ser solubles en disolventes orgánicos como cloroformo y metanol por tanto fáciles de separar” (p.2144), estas estructuras son una de las cuatro principales del organismo cuyo origen orgánico se debe a la presencia de carbono enlazados a hidrógeno y oxígeno, principalmente formado cadenas con la presencia de diferentes tipos de enlaces y a las cuales se les puede adherir grupos químicos, debido a las características que poseen estas estructuras son escasamente solubles en agua, ya que carecen de átomos ionizables; también son llamados grasas en su estado sólido y aceites, cuando se encuentran líquidos a temperatura ambiente; con frecuencia, se usa el término grasas para referirse en general a los lípidos.

Los lípidos son el cuarto grupo principal presente en todas las células, así lo indica Voet, Voet, y Pratt (2007), al ser una de las cuatro principales estructuras del organismo cumple una serie de funciones que son de gran importancia; la primera de ellas es que son una gran fuente de combustibles, el aporte energético que generan al cuerpo representa una gran reserva en un ser vivo, dentro de los lípidos se clasifican en varios tipos en donde algunas de estas pueden almacenarse para posterior mediante procesos biológicos poder ser fuente de dicho aporte energético, la segunda función es en la señalización intracelular que involucren moléculas lipídicas y la tercera función es como materia estructural esto a nivel de las membranas celulares, sirven de componentes esenciales los encargados de esta función corresponden a los fosfolípidos, glucolípidos y colesterol ya que ayudan a mejorar la fluidez de las membranas (p.234).

Los lípidos se caracterizan por presentar una parte polar (cabeza) y otra parte hidrófoba (cola), esto según Ruano (2013) “les confieren propiedades anfífilas, es decir poseen una parte soluble o a fin al agua y la cola, que está formada de una larga cadena hidrocarbonada” (p.20), es decir la cabeza se siente atraída por el agua, y la otra parte es rechazado por el agua, al igual que cualquier otra molécula de carácter anfílico pueden clasificarse según la carga que presente en la cabeza polar como: aniónicos (cabeza polar negativa), catiónicos (cabeza polar positiva),

zwiteriónicos y no iónicos (cabeza polar sin carga), es la cabeza polar del lípido la que proporciona el valor de la carga al agregado formado o la estructura como tal, el resto que lo compone, es decir, la cadena hidrocarbonada varía en su longitud y grado de insaturación (enlaces dobles existentes en las cadenas) estos son factores importantes que ayudarán a contribuir en la flexibilidad o rigidez del lípido al conformar una membrana, esto ya que las insaturaciones aumentan la rigidez y limitan la movilidad.

Estabilidad de los lípidos.

La estabilidad de los lípidos se ve afectada por varias reacciones químicas que se pueden producir en disolución, entre ellas según Ruano (2013) “esterificación y saponificación por un lado, y degradación hidrolítica por otro” (p.20), la esterificación es la cual un ácido graso se une a un alcohol mediante un enlace covalente, formando un éster y liberando una molécula de agua; en la saponificación el ácido graso se une a una base para dar lugar a una sal de ácido graso o jabón liberando agua, es la reacción inversa a la esterificación, solamente son saponificables aquellos lípidos que poseen ácidos grasos en su estructura molecular y por último la hidrólisis depende de varios factores, como el pH, temperatura, tipo de tampón o tipo de cabeza polar.

La peroxidación es la degradación oxidativa de los lípidos y los liposomas, tiene lugar en su cadenas insaturadas, principalmente ácidos grasos poliinsaturados, está mediada por radicales libres incluso en ausencia de oxidantes específicos, la peroxidación lipídica implica la formación de conjugados que producen modificaciones en la membrana, como la permeabilidad, la rigidez y los cambios conformacionales, esta es un arma de doble filo, sin embargo es inevitable que se pueda dar inclusive pueden reducir la vida útil de los liposomas, este ha sido un problema en la preparación y conservación de las formulaciones a base de lípidos (Maherani *et al*, 2011, p.445).

Además desde un punto de vista químico los fosfolípidos pueden auto oxidarse especialmente aquellos que contienen ácidos grasos con dobles enlaces, esta puede verse favorecida por influencia de la luz, pH elevado, presencia de metales o agentes quelantes, la reacción de lípidos con el oxígeno se conoce como peroxidación lipídica, después de un cierto período de inducción, se detectan los primeros productos de oxidación que van aumentando con el tiempo, la duración y la velocidad de oxidación dependerán de la naturaleza del ácido graso oxidable (Clares Naveros, 2010, p.31).

Fenómeno de agregación.

Otro proceso que sufren los lípidos es el de la agregación, según Ruano Aldea (2013) “las moléculas anfifílicas como los lípidos poseen una característica estructural: una parte de la molécula (polar) tiene afinidad por el agua, mientras que la otra parte de la molécula (apolar) es insoluble, siente repulsión, por el agua, esta esquizofrenia molecular es la responsable del fenómenos de auto asociación” (p.22), da lugar a una multitud de estructuras organizadas, en gran medida detrás de este fenómeno están las peculiares propiedades del agua como disolvente, este modifica las características de permeabilidad de los lípidos y por consiguiente la liberación del principio activo encapsulado, es decir pone en riesgo la integridad de la bicapa lipídica.

Los liposomas son un sistema coloidal formado por lípidos, por lo que se consideran termodinámicamente inestables según: Toh y Chiu (2013) tienden a agregarse con el tiempo y esta acción esta mediada por las fuerzas atractivas de Van der Waals, que son más fuertes que las fuerzas repulsivas eléctricas de doble capa, que existen entre los lípidos que conforman las vesículas cercanas entre sí, los factores que pueden afectar el grado de agregación incluyen la temperatura, la fuerza iónica y la carga superficial, la agregación de los liposomas también conducirá a la fusión y precipitación de las vesículas, por lo tanto, la desestabilización del producto. (p.90).

La agregación de vesículas lipídicas puede controlarse aportando cargas eléctricas negativas al liposoma, mediante la adición de pequeños lípidos aniónicos o catiónicos, sin embargo hay que tener cuidado de no sobrecargar al liposoma de lo contrario podría resultar toxico, por ello una mejor opción es la incorporación del colesterol a la bicapa lipídica sin embargo también hay que tener presente que dependiendo del estado en que se encuentren los lípidos este podría aumentar o disminuir la permeabilidad y rigidez (Clares Naveros, 2010, p.33).

Clasificación.

Los lípidos mediante adiciones de grupo se clasifican desde lo sencillo hasta estructuras más grandes, en: ácidos grasos, acilgliceroles, fosfoacilgliceroles, esfingolípidos y esteroides.

Ácidos grasos.

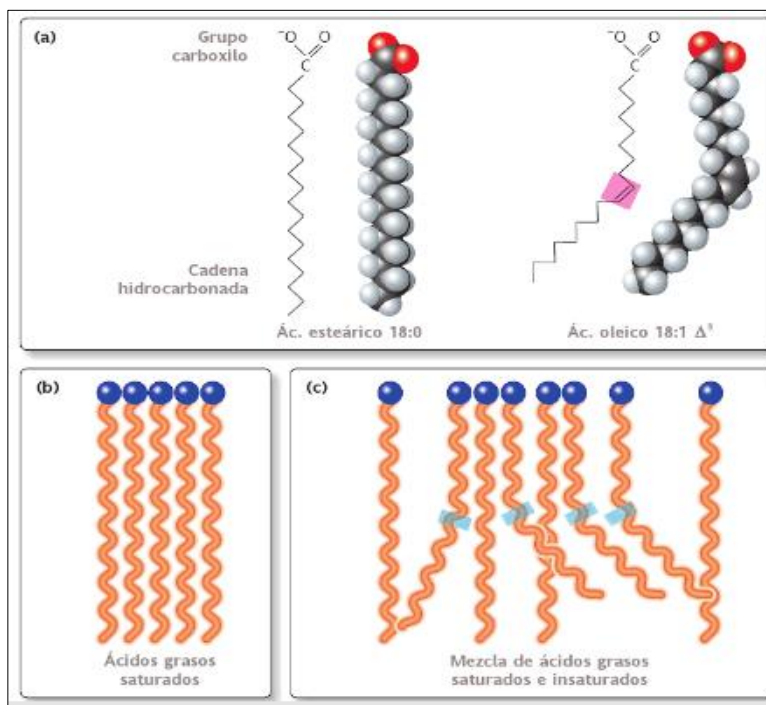
Este tipo de lípidos según Voet, Voet, y Pratt, (2009) con “ácidos carboxílicos con grupos laterales hidrocarbonados de cadena larga” (p.234), básicamente corresponden a cadenas alifáticas con grupos carboxilo en un extremo, estas cadenas pueden estar conformadas de cuatro a veinticuatro átomos de carbono las cuales no presentan ramificaciones, es decir, cadenas secundarias a la principal, el número de átomos será de un número par, el predominio con número par de átomos de carbono se debe a que estos compuestos se sintetizan en las células a partir de unidades de dos carbonos; se pueden presentar dos tipos de enlace, entre los átomos de carbono adyacentes, dando una clasificación dentro de los ácidos grasos, si estos únicamente presentan enlaces simples se denotarán ácidos grasos saturados.

Debido a la presencia de enlaces sencillos le proporciona una gran estabilidad y la característica de ser sólidos a temperatura ambiente, esto a causa del ordenamiento que se da entre uno y otro ácido graso saturado por el esqueleto lineal y número par de carbonos, para referirse a este tipo de moléculas suele realizarse con una abreviatura que incluye en número de átomos de carbono y un cero después de dos puntos por ejemplo C#:0, lo que hace referencia a que posee un número de átomos de carbono y ningún enlace doble dentro de la cadena, son moléculas muy flexibles debido a la libre rotación alrededor de cada uno de sus enlaces C-C.

Ahora bien si además de los enlaces sencillos también cuenta con enlaces dobles a lo largo de su cadena hidrocarbonada reciben el nombre de ácidos grasos insaturados, si poseen solo uno son monoinsaturados y si tiene dos o más son poliinsaturados, la existencia de dobles enlaces implica la existencia de isómeros geométricos, esto quiere decir que el enlace doble puede tener una configuración cis o trans, lo que depender de la ubicación de los enlaces adyacentes de carbono al enlace doble.

En la configuración cis, se encuentran en forma menos empaquetada, tienden a ser líquidas a temperatura ambiente, por su parte, los dobles enlaces trans tienen una configuración más rígida, están más empaquetados, la posición de doble enlace se designa por el número del carbono que está más cerca del carboxilo, se muestra de la siguiente abreviatura C18:1 Δ ⁹, el número que le sigue a la C de indica la cantidad de carbonos, posterior a los dos puntos indica el número de enlaces dobles y el número en el símbolo me indica la posición del enlace doble, según el número, contando la aparición de su cercanía al carboxilo.

Figura 12. Estructura, disposición y empaquetamiento de ácidos grasos.

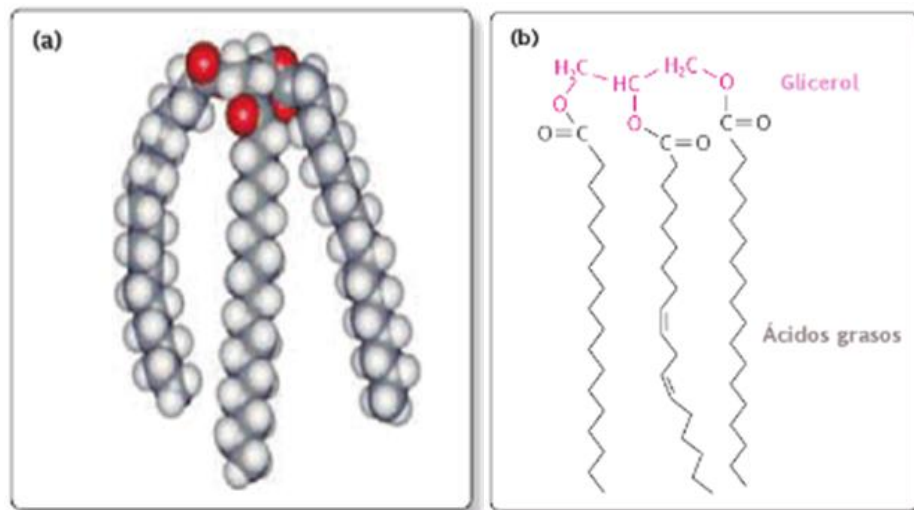


Nota: Obtenido de Feduchi, Blasco, Romero y Yáñez (2014, p.45).

Acilgliceroles.

Son lípidos simples formados por la esterificación de una, dos o tres moléculas de ácidos grasos con una molécula de glicerina también llamada glicerol, cuando la glicerina reacciona con tres ácidos grasos para dar lugar a un triacilglicérido, esta reacción de esterificación es reversible en determinadas condiciones, es decir, los triacilglicéridos pueden sufrir hidrólisis cuando reaccionan con el agua para rendir de nuevo la glicerina y los ácidos grasos libres, la polaridad típica de los grupos hidroxilo de la glicerina y carboxilo de los ácidos grasos desaparece por completo cuando éstos reaccionan para formar un enlace éster, por ello aunque la glicerina es una sustancia polar y los ácidos grasos son sustancias anfífilas, los triacilglicéridos son totalmente apolares y por lo tanto insolubles en agua (Feduchi, Blasco, Romero y Yáñez, 2014, p.46).

Figura 13. Estructura tridimensional y esquemática de



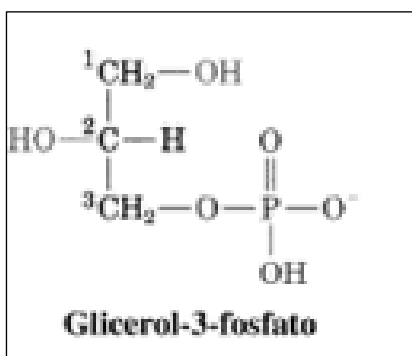
Nota: Obtenido de Feduchi, Blasco, Romero y Yáñez (2014, p.46).

Fosfoacilgliceroles.

Son los componentes lipídicos principales de las membranas biológicas, están formados por cadenas de ácidos grasos unidos a un glicerol que contiene un grupo fosfato en su carbono o cuyas posiciones en el carbono 1 y 2 se encuentran esterificadas con ácidos grasos (Voet, Voet, y Pratt, 2007, p.237).

Ejemplos de fosfoacilgliceroles son las lecitinas o fosfatidilcolinas pertenecen al grupo de son las comúnmente empleadas para la elaboración de liposomas por ser el principal lípido estructura en membranas biológicas, pueden ser obtenidas de manera sintética o de fuentes naturales como de los animales o de origen vegetal; la lecitina de soya posee un 21% de fosfatilcolina, 22% de fosfaridiletanoalmina y un 19% de fosfatidilinositol, todos estos son muy buenos porcentajes que permiten obtener fácilmente este tipo de lípidos, su parte hidrofóbica se une a la cabeza polar hidrofílica que puede contener un grupo fosfato originando de esta manera la estructura de los liposomas, es considera un agente tensoactivo no tóxico, aprobado por la FDA para el consumo humano con el estatus de GRAS (generally recognized as safe) (Ramírez Ortiz, 2015, p.223).

Figura 14. Estructura química de glicéol-3-fosfato.

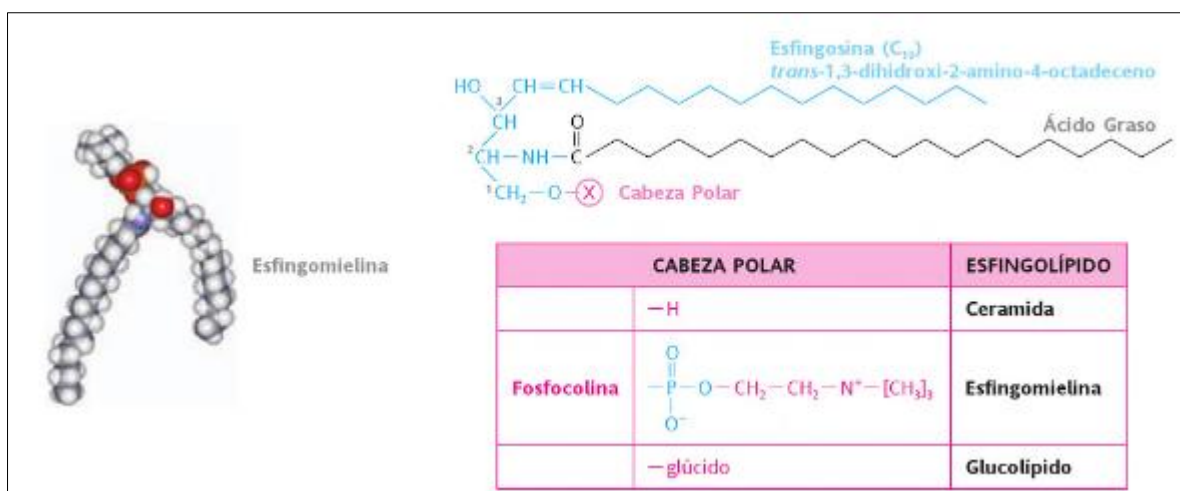


Nota: Obtenido de Voet, Voet, y Pratt (2007, p.237)

Esfingolípidos.

Son otros de los componente lipídicos presentes en membranas biológicas, inicialmente se desconocía el rol que desempeñaban, la mayoría de los esfingolípidos son derivados del aminoalcohol C18 esfingosina, cuyo enlace doble posee configuración trans, este tipo de estructuras se originan a partir de las ceramidas, son fuente de lípidos pequeños que poseen una discreta actividad de señalización, El grupo amino de la esfingosina puede reaccionar con el grupo carboxilo de un ácido graso para formar entre ellos un enlace tipo amida dando lugar a un compuesto denominado ceramida. (Voet, Voet y Pratt, 2007, p.242).

Figura 15. Estructura tridimensional y esquemática de un esfingolípido.



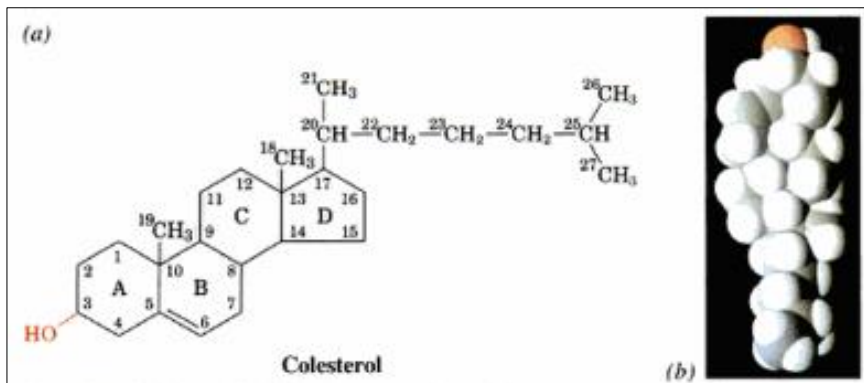
Nota: Obtenido de Feduchi, Blasco, Romero y Yáñez (2014, p.48).

Esteroides.

Son derivados del ciclopentanoperhidrofenantreno así lo indica Voet, Voet, y Pratt (2007) “un compuesto que presenta anillos fusionado, no planares, es el esteroide más abundante, se clasifica como esteroide debido a su grupo C3-OH, es el otro componente principal en las membranas plasmáticas de animales, su grupo polar OH le otorga un débil carácter anfifílico” (p.242), estas características estructurales le permiten ser una estructura biológicamente relacionada con los terpenos, de los cuales derivan, el colesterol para la síntesis de un amplio grupo de sustancias con actividades biológicas importantes, además presenta un sistema de anillos fusionados le proporciona mayor rigidez.

Un ejemplo de un esteroide es el colesterol, según Ramírez Ortiz (2015), está constituido por cuatro carboxilos condensados denominados A, B, C y D, que presentan varias sustituciones, posee una parte polar constituido por el grupo hidroxilo y otra parte apolar formada por los anillos y sustituyentes alifáticos, debido a su estructura como tal es una molécula hidrófoba soluble en disolventes apolares u orgánicos como el cloroformo; puede ser incluido en liposomas para mejorar las características de las bicapas aumentando la rigidez de las membranas en estado cristalino ya que es capaz de insertarse entre las cadenas hidrocarbonadas de los lípidos aumentando el empaquetamiento y disminuyendo la permeabilidad y rigidez sin embargo si la membrana no se encuentra en forma de gel este se inserta en las cabezas polares de los lípidos aumentando la permeabilidad y fluidez de las membranas, de alguna y otra manera logra infiltrarse en la composición de un liposoma (pp.227-228).

Figura 16. Estructura molecular del colesterol y modelo de proyección tridimensional (H, C y O de color blanco, gris y rojo respectivamente).



Nota: Obtenido de Fundamentos de bioquímica (Voet, Voet y Pratt, 2007, p.243)

Tipos de liposomas.

Atendiendo a sus características fisicoquímicas o al proceso por el que han sido elaborados es posible realizar otra clasificación teniendo en cuenta, más bien, al comportamiento que previsiblemente, tendrán los liposomas como consecuencia de las modificaciones en su estructura, estos se describirán a continuación:

Liposomas convencionales.

Este tipo de liposomas, según Ruano Aldea (2013) “son liposomas clásicos de superficie hidrofóbica, constituidos por ejemplo por fosfatidilcolina y colesterol que, tras su introducción en la membrana celular son rápidamente recubiertos por las proteínas plasmáticas y a continuación eliminados de la circulación” (p.47), estos son descartados del torrente sanguíneo por las células del sistema retículo endotelial, típicamente están constituidos de fosfolípidos y colesterol necesarios para conferirle las características clásicas de los liposomas mayoritariamente empleados, no posee adiciones especiales ni procesos de gran complejidad.

Liposomas termosensibles.

Según el autor Hernández *et al* (2010) son sistemas que poseen membrana fosfolípidica estable a 37°C, aunque presenta una temperatura de transición de fases en torno a los 40°C, esta temperatura es la que puede existir en el interior de tumores o puede alcanzarse en áreas externas locales expuestas a fuentes de calor, por ello este tipo de liposomas se encuentran en aplicación clínica en el tratamiento de determinadas patologías antitumorales aunque se les alude la imposibilidad de tratar metástasis profundas además de algunas dificultades de retener el fármaco (p.136).

Liposomas de circulación prolongada.

Este tipo particular de liposomas fueron desarrollados, según Maherani¹, Arab, Mozafari, Gaiani y Linder (2011) “con el fin de obtener sistemas portadores que pueden evitar la fagocitosis y así circular más tiempo en la sangre como resultado de estos estudios, ha surgido un tipo de liposoma llamado partículas sigilosas” (p.436), consiste en un liposoma cubierto con cierta sustancia que lo hace ser invisible ya que se fabrica cubriendo la superficie del portador con

cadenas hidrófilas como el polietilenglicol u otro agente similar que favorezca a que este pase desapercibido y evite ser captado rápidamente al ingresar al torrente sanguíneo o de ser fagocitado rápidamente por células de retículo endotelial, impidiendo que accedan al tejido que se desea o que inicie su proceso de eliminación antes de lo esperado, afectando así su cinética.

También conocidos como liposomas sigilosos, según Ruano (2013) estos tiene la particularidad de tener la presencia de polietilenglicol (polímero) en su superficie lo que hace incrementa su hidrofilia ya que este como tal es soluble en agua, dando lugar a una reducción en la interacción con proteínas plasmáticas y lipoproteínas debido a que se repelen, esta modificación de los liposomas se le llama pegilación, sirve para conseguir dos funciones muy importantes: la primera, un incremento en la biodisponibilidad de los fármacos encapsulados y la segunda que el proceso de liberación sea más lento y que se minimice la toxicidad y los efectos secundarios (p.47).

Aparte de este polímeros otros son empleados así lo menciona Dolores y Begoña (2011), otros polímeros como la poliacrilamida, el alcohol polivinílico o la polivinilpirrolidona, han sido utilizados para lograr los mismos objetivos, esta modificación es especialmente destacable ya que modifica el comportamiento de estos liposomas además altera su capacidad para experimentar un proceso de extravasación en determinados lugares en los que se produce un incremento en la permeabilidad de la pared de los vasos sanguíneos, como puede ocurrir por ejemplo en zonas en las que hay un proceso infeccioso o una inflamación , estos liposomas se utilizan preferentemente para la liberación de fármacos en zonas en las que hay un proceso infeccioso o una inflamación (p.139).

Inmunoliposomas.

Estos son sistemas especiales como mencionan Hernández, Moreno, Porras y Zaragoza (2010) “son desarrollados para permitir la incorporación de anticuerpos en la composición lipídica del liposoma, para conseguir una vectorización selectiva al incorporar anticuerpos funcionales permitiéndoles de esa manera dirigirse y reconocer específicamente algunas células, órganos o dianas del organismo” (p.138), esto se consigue mediante la presencia de determinados elementos introducidos en el diseño de su estructura (anticuerpos o fragmentos de ellos), por otra parte la fijación de cada anticuerpo requiere una formulación específica ya que la función de este y el tipo de entrecruzamiento utilizado para lograr su unión a la superficie, son factores que requieren un

análisis exhaustivo en el diseño de este tipo de liposomas; las limitaciones que representa estos liposomas se centran en que deben tener una semivida biológica prolongada en plasma y en qué proceso de liberación del fármaco debe iniciarse cuando se produce la fijación del sistema sobre la célula diana.

Liposomas catiónicos.

Como su nombre lo indica estos liposomas se encuentran cargados positivamente, su principal aplicación es la vehiculización de material genético, los lípidos catiónicos como lo describe Ruano (2013) “estos liposomas neutralizan la carga negativa del ADN, formando así una estructura compacta aunque diferente de la estructura vesicular típica de los liposomas, estos complejos resultantes de la interacción entre el ADN y los lípidos catiónicos” (p.48), en general se podría decir que la carga que poseen les provee de una interacción con el material genético, por lo que este tipo de liposomas podría emplear en terapias más dirigidas a procesos cuyo objetivo sea el ADN.

Liposomas aniónicos.

Este tipo de liposomas poseen una mezcla particular en su estructura, según Hernández, Moreno, Porras y Zaragoza (2010), “contiene lípidos empleando mezcla de 1,2 dimistoil fosfatidilglicerol (DMPG) como lípido aniónico y DOPE como lípido zwitterión, a esta mezcla se le incorpora un complejo formado por ADN y calcio, demostrándose con estos sistemas una eficacia”(p.138), lo que buscan es utilizar lípidos con cargas negativas para atribuirles la propiedad de aniónico, a la vez describen eficacia, tanto in vitro como in vivo en células de mamíferos, también se ha propuesto como alternativa a los liposomas catiónicos para tener otras líneas de liposomas que acceda a líneas celulares en donde los liposomas aniónicos han mostrado toxicidad.

Liberación liposomal.

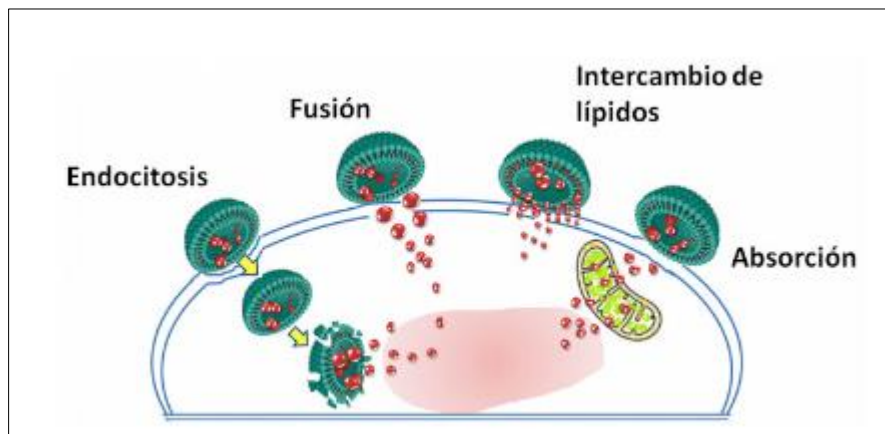
Se ha estudiado que la liberación del principio activo encapsulado se realiza por destrucción de la membrana del liposoma utilizando concentraciones altas de iones divalentes como el calcio, tensioactivos, cambio de pH o de temperatura, los liposomas suelen utilizarse para el encapsulamiento de sustancias activas solubles en agua y en particular se han utilizado frecuentemente para la encapsulación de sistemas enzimáticos, las características en general que

vaya a presentar el liposoma varían según los fosfolípidos que lo conformen sin embargo el tamaño o morfología pueden adecuarse o controlarse según el método de preparación que se emplee, ahora bien también es necesario conocer acerca de la conformación base de los liposomas que en este caso corresponde a los liposomas (Ruano Aldea, 2013, p.17).

La biodisponibilidad, la cual Ramírez Ortiz (2015) define como: la fracción y la velocidad en que se absorbe un principio activo y se hace disponible en el sitio de acción, para poder llegar a alcanzar dicha disponibilidad del compuesto activo este se debe de liberar del sistema que los transporte, es decir, del liposoma, este tipo de nanopartícula utiliza o se le atribuye cuatro mecanismo principales unos ya mencionados; uno de ellos es la absorción para esto debe adherirse a la superficie de la membrana lipídica y posterior difundir lentamente hacia su interior liberando la sustancia que contiene; otro mecanismo es la fusión básicamente el liposoma funde con la membrana de fosfolípidos y libera el contenido en el interior (p.200).

Otros dos mecanismo utilizados serían el intercambio de lípidos y endocitosis, cuando los liposomas acceden a su órgano blanco o diana las interacciones que se establecen con las células son mediadas por intercambio de lípidos o proteínas con las membranas celulares debido a la similitud en su conformación y el último mecanismo por el cual el liposoma puede acceder a la membrana es por endocitosis o fagocitosis, siendo estas últimas las interacciones celulares más importantes que los liposomas logran realizar, esto ocurre entre la pared celular y la bicapa lipídica liberando el compuesto activo en el interior; estas interacciones dependen fundamentalmente de la composición de lípidos del liposoma, el tipo celular y la presencia de receptores específicos, entre otros parámetros (Navarro, Cabral, Malanga, y Savio, 2008, p.215)

Figura 17. Mecanismo de liberación de sustancias transportadas por liposomas hacia la célula.



Nota: Obtenido de Ramírez Ortiz (2015, p.221)

Métodos de preparación.

Métodos existen varios, sin embargo según Ramírez Ortiz (2015) “su formación se produce de manera espontánea cuando moléculas anfifílicas como los fosfolípidos se mezclan con agua, provocando que su parte polar interactúe con el agua y que las cadenas laterales lo hacen con sus homólogos moleculares formando así bicapas” (p.202), esto quiere decir, que la cabeza con características hidrofílicas interactúen entre sí y a su vez lo realicen las cadenas hidrocarbonadas laterales que conforman al fosfolípidos, formando así una estructura esférica donde se pueden depositar sustancias lipofílicas en las capas y en el núcleo de estas sustancias hidrofílicas.

Preparados por diferentes métodos, los liposomas varían en tamaño, laminaridad y la carga superficial, aunque también existen métodos de preparación que incluyen métodos mecánicos tales como extrusión, sonificación, homogeneización a alta presión, microfluidización y molienda coloidal, los métodos no mecánicos como evaporación de fase inversa y agotamiento micelar de mezclas de detergente-lípidos, todos son métodos que permiten obtener liposomas ya sean unilaminares o plurilaminares, indistintamente del método que se utilice hay que tener en cuenta que la composición lipídica determinará la facilidad de formación y el tipo de liposoma, la elección de un lípido o mezcla de lípidos debe realizarse en base al conocimiento de sus propiedades (Fathi *et al*, 2012).

Existen varios métodos conocidos hasta el momento para la obtención de liposomas en general lo que se debe respetar es la composición base, ya que en su elaboración se requieren fosfolípidos mediante la incorporación o no de colesterol esto ya que a los liposomas se les asímila a la composición que poseen las membranas celulares, por ello en ocasiones se suele incorporar este lípido así como otros, además se incorporan materiales que se consideren necesarios para optimizar, estos son introducidos en la bicapa para poder dotar a la vesícula resultante con características o propiedades mejoradas, entre ellas se pueden mencionar la carga superficial, una mejor permeabilidad para acceder a células o incrementar la estabilidad de los lípidos en la bicapa, es por ello que poseen un gran potencial para incorporar estructuras moleculares ya sean hidrofílicas, hidrofóbicas y también las de carácter anfifílico y esto lo permite la doble polaridad de los lípidos permitiendo que la sustancia a incorporar se ubique dentro del liposomas según su afinidad. (Ruano Aldea, 2013, p.22).

Para la preparación de liposomas se pueden utilizar varios métodos, como la evaporación en fase inversa, la hidratación con película fina y los métodos con fluidos supercríticos, el paso común de los métodos para preparar liposomas consiste en evaporar el solvente orgánico en el cual los lípidos están disueltos y posteriormente dispersar los lípidos en una solución acuosa (tamponada o no); los procedimientos de preparación de liposomas que contienen más de un fosfolípido utilizan solventes orgánicos para lograr su adecuada distribución en las vesículas liposomales, sin embargo los solventes orgánicos debido a su toxicidad y inflamabilidad, son reactivos no deseables desde un punto de vista industrial por sus repercusiones negativas en costes de producción, seguridad e higiene laboral y medioambiente (Rezaei, Fathi, y Mahdi, 2018)

Antes de iniciar con cada uno de los métodos es necesario entender el significado de algunos términos que se utilizaran a continuación, se entiende por temperatura de transición a aquella temperatura que permite pasar del estado gel al líquido-cristalino o mejor dicho fluido; la formación de liposomas se realiza cuando se alcanzan temperaturas superiores en donde las cadenas de los fosfolípidos se vuelven a estado líquido, la temperatura de transición crítica es propia de las bicapas lipídicas y se asocia al cambio de un estado a otro, específicamente de estar en estado gel a cristal- líquido o fluido (de un estado ordenado a uno menos ordenado) (Clares Naveros, 2010, p.28).

Un importante parámetro por considerar en lo concerniente a la formación de liposomas es la rigidez de la bicapa lipídica, el fosfolípido hidratado que forma parte de la bicapa puede estar en estado líquido-cristalino (fluido) o gel; al incrementar la temperatura, el estado gel se convierte en líquido-cristalino, esto ocurre a una temperatura conocida como temperatura de transición, específica para cada fosfolípido, la temperatura de transición es directamente proporcional al largo de cadena e inversamente proporcional al grado de insaturación de los ácidos grasos y depende de la naturaleza del grupo polar, esto básicamente significa que la temperatura necesario para pasar del estado gel al líquido cristalino será mayor conforme el o los fosfolípidos utilizados presenta una gran cadena hidrocarbonada y disminuirá ante el número de dobles enlace presentes (Procedimiento de preparación de liposomas, 2007).

Se entiende por gel a un sistema coloidal que presenta dos fases, la fase continua es sólida y la dispersa es líquida, posee naturaleza semisólida y líquida al mismo tiempo; un medio acuoso a un medio que no contiene solventes orgánicos, el medio acuoso está constituido por agua y opcionalmente, solutos tales como agentes reguladores de pH o buffers, sustancias reguladoras de osmolaridad y agentes quelantes (Procedimiento de preparación de liposomas, 2007). Se debe recordar que si se utiliza la liofilización el primer paso por tener en cuenta es la congelación, al disminuir la temperatura del sistema, el agua cristaliza y los demás componentes se concentran en los intersticios (lo espacio pequeño entre dos cuerpos) que se forman entre los cristales de hielo.

Una óptima distribución de tamaño liposomal se puede realizar por medio de los siguientes procesos, extrusión y sonicación; la extrusión es un manera de purificar los liposomas utilizando un aparato en el proceso (un extrusor), el cual permite la fabricación a pequeña escala de productos farmacéuticos liposómicos, este proceso es relativamente suave expone las formulaciones a presiones moderadas de psi (siglas en inglés de una unidad de presión que significa libra de fuerza por pulgada cuadrada), lo que contrasta con la homogeneización donde las temperaturas fluctúan y se exponen a diversas presiones, en algunos extrusores las membranas de policarbonato y los soportes de filtro están diseñados para usarse en una sola preparación de liposomas y no deben reutilizarse.

Figura 18. Algunos extrusores disponibles en el mercado. (a) Lipex varían según la capacidad, (b) Avanti (mini extrusor) y (c) Nano sizer mini.



Nota: Imágenes obtenidas de (a) Transferra Nanosciences Inc.; (b) Avanti Polar Lipids, Inc. y (c) Ttscientific corporation (2019)

El otro proceso es la sonicación que consiste en la rotura de la membrana celular, mediante ultrasonidos, una herramienta eficaz para preparar y formar los liposomas para el atrapamiento de agentes activos, los pasos fundamentales de este método son la sonicación, que resulta en una emulsión agua en aceite, seguida por un secado parcial a un gel semisólido que es finalmente convertido en una suspensión concentrada de vesículas, mediante agitación vigorosa.

Figura 19. Modelos de sonicadores marca Fisher.



Nota: Imágenes obtenidas de fisher scientific (2019)

Se deben tomar en cuenta varios aspectos a la hora de seleccionar los componentes y el método de preparación, para poder obtener liposomas con las características deseadas, como primer punto cuanto más elevada es la concentración de los lípidos una mayor proporción de la fase acuosa puede ser atrapada, además la vida media de un liposoma se incrementa cuando aumenta la dosis de lípido sin embargo no se debe de perder de vista una proporción adecuada si se utilizan combinaciones lipídicas, el índice de encapsulación aumenta al realizar la hidratación más lentamente y por último la adición de fosfolípidos cargados incrementa la distancia entre las membranas lipídicas punto a considerar según las dimensiones del tipo de vesícula laminar que se desee obtener (Clares Naveros, 2010).

Continuando con conceptos está el pH, es el logaritmo de la concentración de hidrogeniones cambiado de signo, este me indica si una sustancia es de carácter ácido, alcalino o neutro donde toda sustancia con pH 7 es neutra, las de valor inferior a 7, se consideran ácidas y las superiores a 7 básicas o alcalinas; el siguiente es el término de solución tampón: estos son sistemas encargados de evitar grandes variaciones del valor de pH son los denominados amortiguadores, buffer, o tampones". Son por lo general soluciones de ácidos débiles y de sus bases conjugadas o de bases débiles y sus ácidos conjugados, los amortiguadores resisten tanto a la adición de ácidos como de bases (Túnez, Galván, y Fernández, 2005).

Obtención de Liposomas tipo SUV (Vesículas láminares de pequeñas dimensiones).

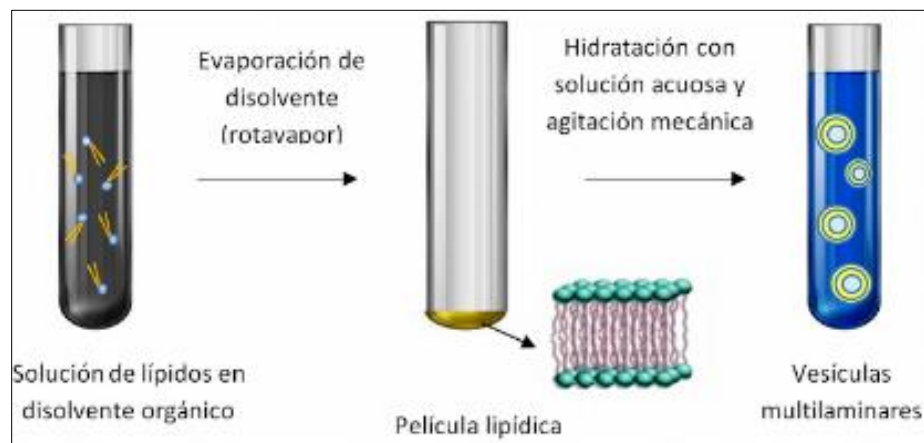
Son tres los principales métodos utilizados para obtener este tipo de liposomas, estos son: método de dispersión simple (el más conocido y sencillo), inyección de etanol y diálisis del detergente:

Dispersión simple.

También conocido como método original de Bangham, el procedimiento inicia buscando obtener la bicapa lipídica a partir de lípidos en medios polares, se parte de lípidos disueltos en líquidos orgánicos como el cloroformo, ciclohexano, metanol, etano u otro; las disoluciones de los distintos lípidos que pretenden utilizarse se mezclan en proporción adecuada, posterior el disolvente orgánico se evapora mediante una bomba de vacío o algún método que permita realizar la eliminación ya sea por evaporación por rotavapor, al vacío o liofilización del disolvente, e

inclusive se utilizan pasos o técnicas extras en caso de quedar residuos del disolvente orgánico, de esta manera se obtiene una película fina formada sobre las paredes del recipiente en que se este trabajando, en este punto parte de la estructura ya se encuentra formada (Ruano Aldea, 2013, p.42).

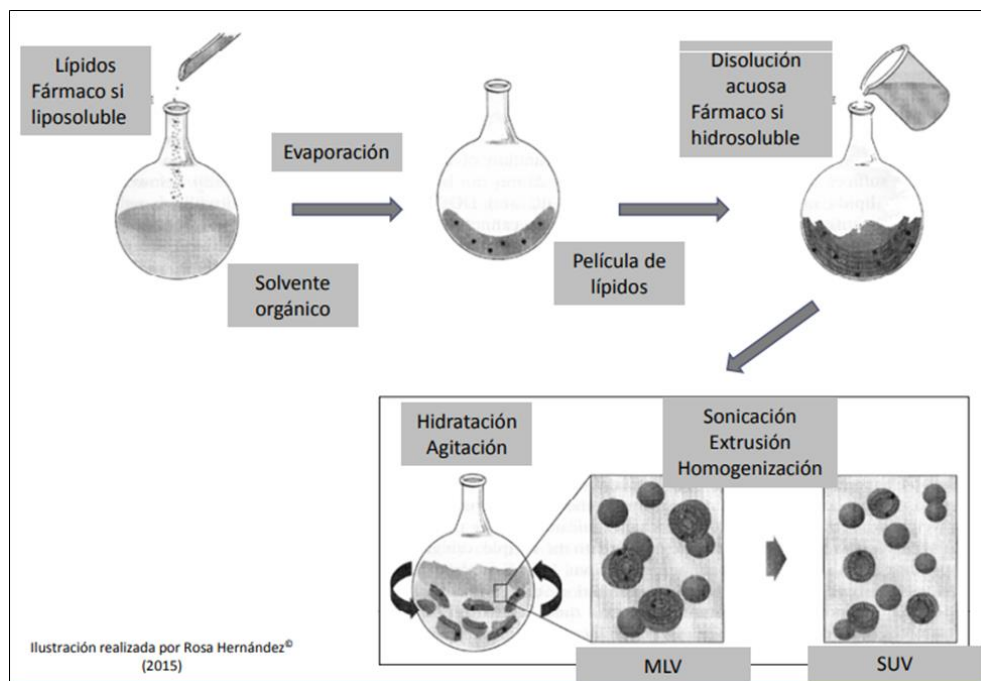
Figura 20. Método de preparación por dispersión simple (método Bangham).



Nota: Obtenido Ramírez Ortiz (2015, p.229)

Posterior se procede a la hidratación de la bicapa lipídica y dispersión en medio polares como el agua o la solución tampón, generalmente se regula la fuerza iónica para que la disolución adquiera la conductividad eléctrica adecuada, la hidratación debe llevarse a cabo por encima de la temperatura de transición de los lípidos utilizados durante al menos 30 minutos con agitación constante durante eses intervalo de tiempo, de esta forma parte del agua queda atrapada en la bicapa lipídica y el resto queda inmerso en el interior del liposoma, el cual se forma espontáneamente en contacto con la disolución acuosa, los liposomas obtenidos de esta forma son fundamentalmente vesículas laminares de pequeñas dimensiones pero como al formarse espontáneamente no existe un control directo del tamaño obtenido, por ello hay que utilizar posteriormente la técnica de la extrusión para que el tamaño de los liposomas sea más homogéneo. (Ruano Aldea, 2013, p.42).

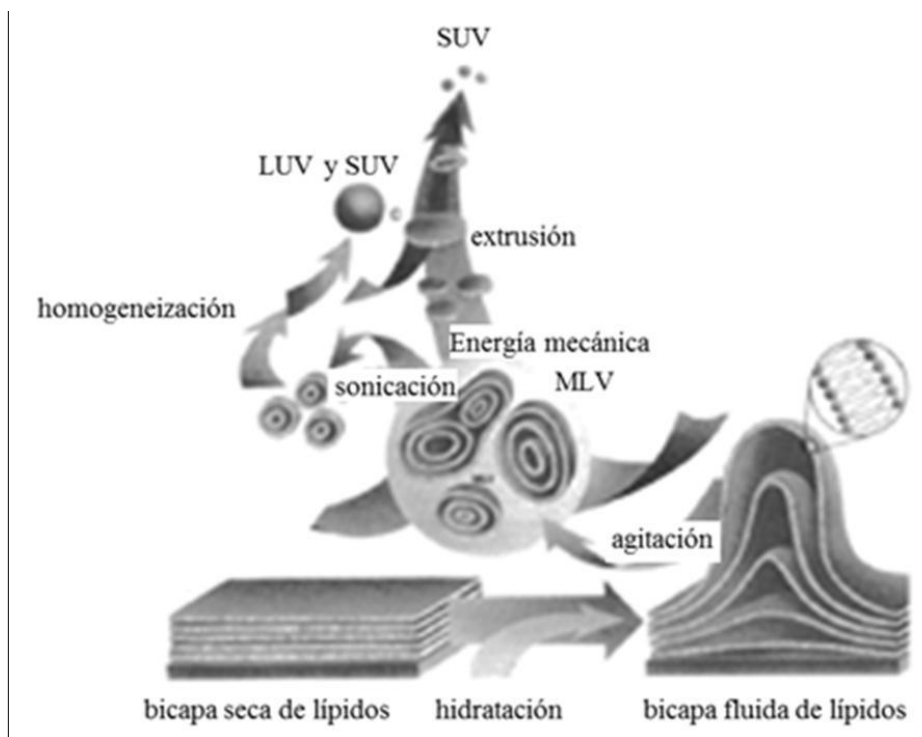
Figura 21. Método de preparación por dispersión simple.



Nota: Obtenido de Hernández (2015)

En la extrusión de fosfolípidos, las vesículas unilamelares y multilameres se hacen pasar por un filtro o membrana de policarbonato de un tamaño de poro definido para obtener liposomas según los nanómetros que se requieran, para tener un mejor control de lamelaridad y homogeneidad del tamaño de liposomas, al final quedarán retenidas únicamente las bicapas que no han formado vesículas; la mayoría de los liposomas de la disolución serán unilamelares, así el número de veces que se repita esta operación así como el diámetro de la membrana determinará la lamelaridad y los tamaños de los liposomas finales.

Figura 22. Método de dispersión simple para obtener MLV, A partir de ellos, el método de extrusión para obtener SUV o el método de sonicaciónA homogeneización para obtener LUV



Nota: Obtenido de Ruano (2013, p.44)

Inyección de etanol o éter.

Este método lo explica Clares Naveros (2010) “los lípidos de partida se disuelven en un compuesto orgánico ya sea etanol o éter, seguido con la ayuda de una jeringa la disolución se inyecta rápidamente en una disolución tampón con la que se quiere trabajar o bien en otra solución acuosa del agente activo a la temperatura de 55-66°C o, a 30°C a baja presión” (p.45), al igual que en el método anterior se forma espontáneamente las vesículas lipídicas, luego se elimina el disolvente por evaporación o ultrafiltración para eliminar los posibles restos de etanol o éter según sea el caso y así finalmente se obtiene una cantidad heterogénea de vesícula laminares ya sea de pequeña o gran dimensión, por ello se recurre generalmente a la filtración para conseguir vesículas uniformes, las temperaturas son un parámetro que se debe cuidar en el proceso.

Eliminación del detergente.

Este es otro método, en este las vesículas se preparan mezclando un detergente y fosfolípidos, lo que inicialmente da lugar a la formación de micelas mixtas, de forma que una vez que se dializa el detergente se obtienen liposomas unilamelares, el principio del método consiste en la dispersión de los fosfolípidos en agua en donde se forman micelas con ayuda de agentes tensioactivos, la eliminación del detergente se realiza por centrifugación, diálisis o filtración a través de geles, esto se realiza a una velocidad constante permitiendo obtener sistemas homogéneos (Ruano Aldea, 2013, p.43).

Obtención de Liposomas tipo LUV (vesículas unilaminares de grandes dimensiones).

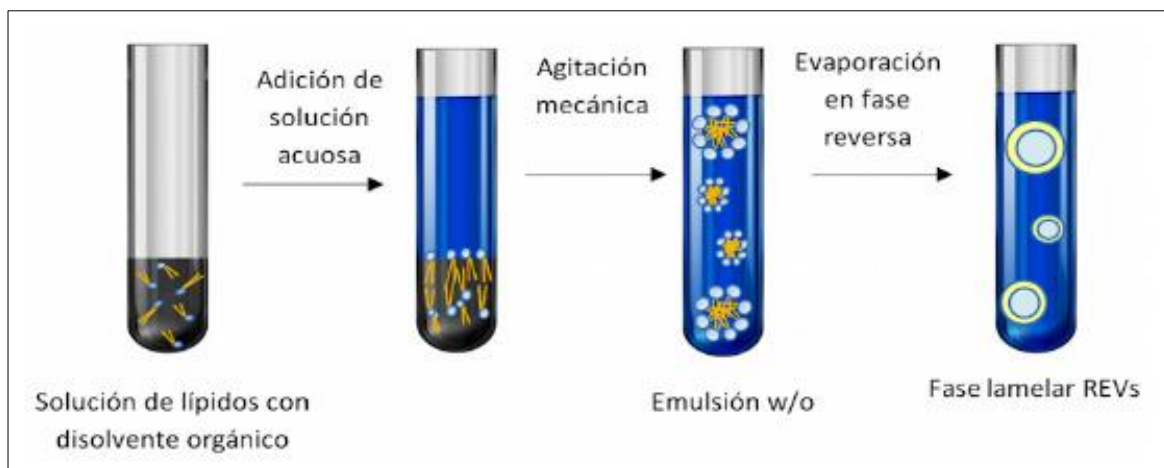
Evaporación en fase reversa.

Este método se desarrolló en el año 1978 por Szoka y Papahadjopoulos permitiendo desarrollar liposomas o vesículas con un espacio central acuoso más voluminoso, esto según, Ramírez Ortiz (2015), ya que se mantiene la forma esférica pero con mayor espacio en el núcleo del liposoma; en este método se parte de una disolución de los fosfolípidos en un solvente orgánico los cuales se mezclan con una fase acuosa, posterior se elimina el solvente lo que genera que se formen micelas debido al proceso de agregación que tienden a tener, formando estructuras tipo gel los cual se rompen conforme se aplica vacío para eliminar completamente el disolvente (pp.229-230).

El método utiliza un volumen pequeño de fase acuosa, en la solución orgánica están los fosfolípidos con cierta relación molar, tras la adición de la fase acuosa por encima de la temperatura de transición del lípido, la mezcla se sonifica dando lugar a una emulsión, es este método también se elimina la fase orgánica formandose los liposomas en una fase de gel intermedia, finalmente tras una fuerte agitación se obtiene una disolución concentrada de vesículas muy diversa en cuanto a composición y concentración de los lípidos, la temperatura, fuerza de sonicación y tiempo; un problema asociado a este método es que las condiciones de trabajo son difícilmente reproducibles (Ruano Aldea, 2013, p.44).

El autor Ramírez Ortiz describe que este proceso “las monocapas lipídicas que se generan se sitúan lo suficientemente cerca unas de otras, como para dar lugar a las bicapas lipídicas que constituyen la pared de los liposomas, estas vesículas formadas son de tipo unilaminares” (p.230), estas vesículas son adecuadas para encapsular moléculas hidrosolubles ya que la meta es lograr un alto valor en la relación del volumen de atrapamiento en el lípido, este tipo de vesículas poseen mayor capacidad de albergar alguna sustancia en el núcleo siempre y cuando sea polar; la limitación o desventaja que presenta este tipo de liposomas es que puede existir una debilidad mecánica en la única capa lipídica, la cual podría sufrir alguna ruptura y con ello la pérdida parcial o total del material que se encuentre en su interior, es decir, la capa puede ser muy tenue sino se utilizan componentes lipídicos y técnicas que permitan obtener un liposoma eficaz.

Figura 23. Método de preparación por evaporación en fase reversa.



Nota: Obtenido Ramírez Ortiz (2015, p.230)

Inyección de solvente.

En este método de fabricación los lípidos son disueltos en un solvente orgánico, posterior se inyectan lentamente en una solución acuosa, en el caso de querer incorporar más de un fosfolípido se debe cuidar que estos queden distribuidos de forma homogénea en las vesículas liposomales, se debe conocer la proporción adecuada según la cantidad de lípidos que se deseen incorporar; normalmente esto se logra disolviendo previamente los fosfolípidos en un solvente orgánico y utilizando la solución orgánica resultante para preparar los liposomas. (Procedimiento de preparación de liposomas, 2007)

Por otra parte, en caso de que se desee incorporar al menos un agente activo, los inventores han encontrado que partiendo de suspensiones acuosas de fosfolípidos e incrementando la temperatura desde una temperatura menor a la temperatura de transición hasta una temperatura mayor a esta, es posible preparar liposomas donde el agente activo permanece eficazmente encapsulado durante el tiempo necesario para su preparación, almacenamiento, distribución y utilización. (Procedimiento de preparación de liposomas, 2007).

Fusión inducida por calcio.

Permite elaborar vesículas unilaminares a partir de lípidos de carácter ácido utilizando fosfolípidos como el ácido fosfatídico, fosfatidiglicerol, fosfatidilserina u otros, asociados o no a la molécula del colesterol, la base de este método se asienta en la fusión inducida por calcio, tras la adición de una solución acuosa del mismo a una suspensión de vesículas unilaminare de pequeñas dimensiones con la formación de estructuras multilaminares en disposición helicoidal, es decir, una disposición que resulta de combinar un movimiento de rotación en torno a un eje dado con un movimiento de traslación a lo largo de ese mismo, en donde posteriormente se adiciona EDTA (ácido etilendiaminotetraacético, agente quelante para crear complejos), este secuestra iones permitiendo obtener vesículas unilaminares de grandes dimensiones (Clares Naveros, 2010, p.48).

Fluidos supercríticos y método de descompresión







Este método fue propuesto por Castor y Chu quienes describieron las primeras técnicas de gases densos para la formación de liposomas, denominadas métodos de inyección y descompresión, en 1998 según Maherani *et al* (2011), en el método de fluidos una mezcla de lípido es inyectada a un disolvente orgánico y gas comprimido a través de una boquilla en una solución acuosa haciendo que la fase comprimida se pulveriza en agua; alternativamente el método de descompresión implica una mezcla de lípido, cosolvente orgánico, gas comprimido y solución acuosa que se descomprime a través de una boquilla para formar liposomas, de esta manera la fase acuosa se incorpora en la fase comprimida, que se pulveriza en el aire (p.440).

Independientemente del método que se utilice como mencionan Toh y Chiu (2013), los liposomas indierentemente del tamaño que sea y lamelaridad se forman espontáneamente cuando los componentes lipídicos se introducen en un ambiente acuoso, debido a la fuerza hidrófoba, las moléculas constituyentes anfifílicas se agrupan en agregados para minimizar el contacto entre sus porciones hidrófobas y el entorno acuoso que lo rodea, estos agregados pueden organizarse en liposomas si se les proporciona una cantidad adecuada de energía en forma de calentamiento, sonicación u homogeneización (p.89)

Clasificación de los liposomas.

Los liposomas se pueden clasificar en función de su tamaño y lameralidad o bien según el método de preparación que se utilice, en general los liposomas se pueden clasificar como unilamelares o multilamelares,

Figura 24. 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 compartimento 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) 

Nota: Obtenido de Torelló, Viscasillas, y Pozo (2002, p.190)

Unilaminares.

Los liposomas unilaminares se dividen en tamaño pequeño (SUV, 50 e 100 nm) o tamaño grande (LUV, 100 e 250 nm). SUV y LUV están compuestos por una sola bicapa lipídica y un gran núcleo acuoso, por lo que son adecuados para cargar fármacos hidrofílicos, este tipo de liposomas se caracteriza por estar formados por una única bicapa lipídica, conocidas como vesículas unilaminares de pequeñas dimensiones o sus siglas en inglés SUV, por lo general son las de menor diámetro oscilando entre los 50 a 100 nanómetros por lo que es capaz de albergar moléculas de bajo peso molecular o pequeñas y también existen los que van de 50 a 250 nm, en si este tipo de liposomas poseen un núcleo interno pequeño por lo que tendrá muy poco espacio para moléculas con características polares (Fan y Zhang, 2013).

Este tipo de liposomas unilaminares presenta un empaquetamiento diferente de lípidos por su alta curvatura, siendo especialmente susceptibles a la transferencia y degradación en presencia de moléculas biológicas, son adecuadas para moléculas hidrosolubles, otra desventaja de los liposomas muy grandes es la debilidad mecánica de su única membrana, que puede llevar a su ruptura y pérdida parcial de materia que se desea transportar, presentar una sola barrera entre lo que transportan y el medio aunque estén intactos (Navarro, Cabral, Malanga y Savio, 2008).

Plurilaminares.

A diferencia de los unilaminares los liposomas plurilaminares o multilaminares (MLV), generalmente con un diámetro de 1 a 5 μm , se componen de varias bicapas lipídicas y un espacio acuoso limitado, por lo tanto, adecuado para cargar fármacos hidrofóbicos además se caracterizan ya que poseen varios compartimentos acuosos concéntricos, es decir, varias bicapas fosfolipídicas, el diámetro que oscila se encuentra entre los 400 nanómetros extendiéndose hasta los 10 μm , si embargo eso puede variar según las condiciones de fabricación o lo que se desee transportar a través de este, la distancia que existe entre las capas depende de la naturaleza de los fosfolípidos que la componen y estas van a condicionar el espacio que a su vez tendrán las capas acuosas en el liposoma, también se les conoce como vesículas multilaminares básicamente consiste en varias capas una tras otra existen variantes de la misma según el método de fabricación que se utilice (Fan y Zhang, 2013).

Consisten en varias láminas o capas concéntricas una tras otra, entre las cuales se encuentran espacios acuosos, son apropiadas para la incorporación de material lipídico no sólo por estar constituidas por varias capas de fase lipídica, sino porque liberan de manera gradual y sostenida el material a medida en que se desprende o destruye capa por capa ya que sus membranas concéntricas pueden ser lentamente degradadas en el sitio de acción (Navarro, Cabral, Malanga, y Savio, 2008, p.215)

Aplicaciones de los liposomas.

Aplicación en farmacia.

Desde que se describieron por primera vez en la década de 1960, los liposomas han sido reconocidos como vehículos de administración de fármacos, son muy apropiados para este objetivo, debido a su biocompatibilidad y biodegradabilidad, publicaciones recientes demuestran el potencial de los liposomas basados en fosfolípidos para mejorar la biodisponibilidad de compuestos activos poco solubles, incluyendo péptidos y proteínas esto de la mano con la encapsulación de la forma activa de un medicamento en la bicapa lipídica lo protege contra fenómenos como la degradación enzimática y la inactivación química e inmunológica (Navarro *et al*, 2008).

En la industria farmacéutica, como comentan Toh y Chiu (2013) “los liposomas están diseñados como portadores para administrar agentes bioactivos en las células, adyuvantes inmunológicos y, más recientemente, agentes de contraste para imágenes moleculares” (p.89), el principal punto a destacar es el desarrollo de sistemas de administración de medicamentos que pueden actuar como un vehículo para transportar y guiar a los agentes bioactivos a su sitio de acción deseado, este tipo de tecnología presenta estrategias innovadoras al actuar en al menos una de la siguiente maneras, ya sea al conferir nuevas propiedades a un agente farmacéutico o dirigir al agente directamente al sitio de acción.

Según Barenholz (2012) “el primer producto farmacéutico en una formulación liposomal que recibió la aprobación de la FDA (1995) fue Doxil (100 nm), para el tratamiento del sarcoma de Kaposi refractario a la quimioterapia en pacientes con SIDA, y más recientemente para el cáncer epitelial de ovario recurrente” (p.120), para este tipo de terapias es más común la utilización de diversos tipos de nanopartículas; además liposomas compuestos de fosfatidilcolina de soya hidrogenada, así como de otros lípidos (dipalmitoilfosfatidilcolina, dimiristoilfosfatidilcolina y dimistoilfosfatidilglicerol), demostraron que son sistemas adecuados para la liberación de vacunas orales, además su presencia mejora su estabilidad y las protegen de la descomposición enzimática (Ramírez Ortiz, 2015).

Aplicación cosmética.

El área cosmética está utilizando liposomas esto según Clares (2003) “debido a sus posibilidades revolucionarias ya que desde una perspectiva ideal tras la aplicación de un preparado cosmético sobre la piel todos los coadyuvantes presentes en el mismo como fragancias o agentes tensioactivos deberían permanecer en la superficie ingresando solo los ingredientes activos a través de la piel” (p.82), los liposomas pueden contribuir a fin de conseguir dicho objetivo; ya que se ha comprobado que muchos ingredientes activos encapsulados en liposomas son mucho más eficaces que si se incorporan solamente a la base cosmética, además se debe tomar en cuenta que poseen una gran similitud en cuanto a su composición y la de la piel, por lo que la penetración a través de esta se vea favorecida.

Existen diferentes formas de preparaciones de liposomas, así lo menciona Maherani, Arab, Mozafari, Gaiani, y Linder (2011) “como soluciones, cremas, geles y pomadas pueden proporcionar compuestos a través del estrato córneo, los liposomas basados en un lípido marino natural se introdujeron recientemente para prevención y tratamiento de enfermedades de la piel” (p.438), estos tipos de liposomas proporcionan una materia prima valiosa para la regeneración, humidificación y suavizado de la piel además podrían evitar manchas de la edad, ojeras, arrugas y otros aspectos clínicos de la piel, sus aplicaciones son muchas y proveen de una mejores presentaciones cosméticas que ofrezcan buenos resultados.

Aplicación alimenticia.

Los liposomas se utilizan en la industria alimentaria para mejorar y desarrollar un nuevo sabor, controlar la liberación de sabor, mejorar el color del alimento y alterar la textura de los componentes del alimento, también pueden aumentar la absorción y biodisponibilidad de los suplementos nutraceuticos y desarrollar antimicrobianos para alimentos.

Los nanotransportadores desarrollados en la industria alimentaria según Ramírez Ortiz, (2015), son elaborado a base de hidratos de carbono, proteína o lípidos, en donde los vehículo lípidos tiene una mayor posibilidad de producción industrial así como de mayor eficiencia de encapsulación y baja toxicidad, entre los más prometedores se encuentran las nanopartículas lipídicas como lo son los liposomas, a estos se les ha atribuido una ventaja de biocompatibilidad, biodegradabilidad y producción a gran escala. (pp. 222-223).

Hay muchos nutrientes hidrofóbicos o poco solubles y compuestos bioactivos de alimentos, estos incluyen vitaminas insolubles en agua, compuestos fenólicos, ácidos grasos esenciales, aceites esenciales, sabores y componentes aromáticos, varios factores limitan la aplicación de estos ingredientes en los alimentos, incluida la baja estabilidad debido a la sensibilidad al oxígeno, la luz y la temperatura, la escasa solubilidad y la baja biodisponibilidad por lo que la implementación de sistemas que los transporte como de los liposomas es una práctica cada vez más frecuente (Clares Naveros, 2003, p.62).

Además la ventaja de los materiales usados en la producción de liposomas estos son biodegradables y no son tóxicos, según Maherani *et al* (2011) el liposoma le ofrece al agente activo protección de los cambios enzimáticos y químicos, así como las variaciones de temperatura y fuerza iónica, una de las primeras aplicaciones de liposomas reportadas en productos alimenticios fue en la fabricación de queso, para disminuir el tiempo y el costo de la maduración del queso agregando las proteinasas encapsuladas en liposomas a las mezclas de queso (p.437).

Vías de administración liposomal.

Piel.

La utilización de sistemas liposomales en la administración de fármacos posee un gran potencial, se han realizado investigaciones para poder determinar la viabilidad de poder implementar este tipo de sistema para el transporte de fármacos por vía tópica, la autora Vázquez González (2015), menciona que: al realizar modificaciones a los liposomas al momento de su síntesis o más bien que su composición sea de cierta forma permite utilizarlos por esta vía, para este caso se les atribuye a los niosomas, etosomas o invasomas (todos liposomas), los liposomas preparados a partir de lípidos del estrato córneo podrían tener mayor afinidad y biocompatibilidad para con dicho estrato, en comparación con aquellos elaborados con otros lípidos homólogos.

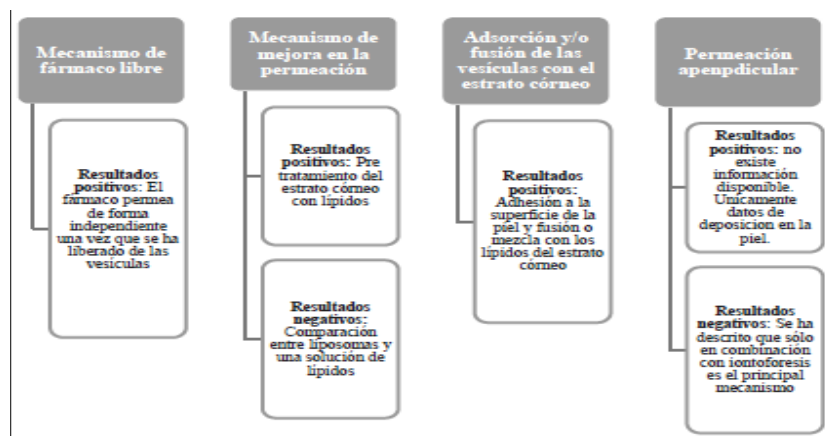
Tabla 4. Definiciones de niosoma, etosoma, invasoma.

Liposoma modificado	Definición
Niosomas	Vesículas combinada con surfactantes no iónicos.
Etosomas	Sistemas formados por fosfolípidos, etanol y agua.
Invasomas	Vesículas de fosfatidilcolina, etano y una mezcla de terpenos como potenciadores de penetración.

Nota: Obtenido de Vázquez González (2015)

A su vez se habla de los posibles mecanismos implicados en el proceso el primero es que el fármaco libre por si solo lo realice y que la vesícula liposomal solo sirva de vehículo que libere de forma controlada al fármaco, se menciona a su vez el mecanismo que mejore la permeabilidad al incorporar lecitina de huevo para disminuir el efecto barrera de la piel, sin embargo este mecanismo genera controversia, ya que se han descrito resultados de investigaciones, tanto con positivos y como negativos.

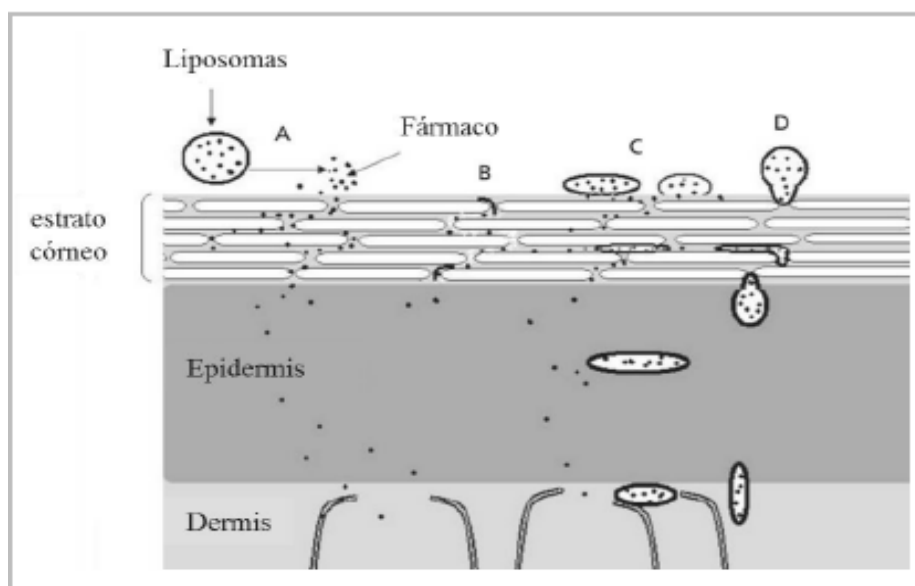
Figura 25. Principales mecanismos descritos de los liposomas para la aplicación tópica de fármacos.



Nota: Obtenido de Vázquez González (2015, p.21)

El tercer posible mecanismo es la adsorción fusión de las vesículas a la superficie de la piel con una posterior fusión con el estrato córneo, otro mecanismo que realmente se pone en duda es el de la permeación apenpdicular sin embargo su eficacia se ha demostrado al utilizar iontoforesis la cual implica el paso de una corriente eléctrica débil a través de la piel; a continuación se presenta un resumen de estos cuatro posibles mecanismo de los liposomas para aplicación tópica (Vázquez González, 2015, pp.17-18).

Figura 26. (A) Mecanismo de fármaco libe, (B) mecanismo de mejora en la permeación, (C) mecanismo de adsorción o fusión de las vesículas al estrato corneo y (D) mecanismoa de permeación apenpdicular.



Nota: Obtenido de Vázquez González (2015, p.22)

Inhalada.

Los liposomas inhalados pueden ser particularmente atractivos para proporcionar altas concentraciones sostenidas en los sitios de acción dentro del tracto respiratorio, esto lo mencionan Norville , y otros (2014), a su vez los efectos secundarios locales reducidos y una menor exposición sistémica, haciendo de esta manera una vía muy prometedora, además los liposomas pueden enmascarar el sabor de los compuestos amargos y reducir la irritación asociada con el fármaco, o el pH o las perturbaciones osmóticas que pueden ocurrir en el pulmón en respuesta a la deposición de aerosol, un beneficio importante de una formulación de liposomas inhalados es reducir la frecuencia de dosificación a una terapia más conveniente como una dosis diaria (p.11).

Oral.

Esta vía no es muy utilizada ya que la modificación superficial de los liposomas puede mejorar su aplicabilidad, sin embargo los liposomas tienen una rápida liberación de moléculas encapsuladas de la bicapa lipídica en condiciones gastrointestinales, lo que limita su aplicación para la encapsulación de sustancias poco solubles. (Maestrelli, González-Rodríguez, Rabasco, y Mura, 2005).

Intravenosa.

Los liposomas inyectados por vía intravenosa dependen de sus propiedades físicas así lo asegura Clares Naverros (2003) “como: el tamaño, fluidez y carga superficial, pueden persistir en los tejidos durante horas según su composición; por lo que su vida media en sangre puede verse comprometida entre minutos u horas, son rápidamente captadas por células fagocitarias” (p.56), estas células son del sistema retículo endotelial, esto no debe verse como una limitante ya que si existe una parasitosis o infección en este sistema el captarlos rápidamente permitirá liberar el fármaco directamente en el sitio de infección esto sucede ya que las bicapas de los liposomas captados serán digeridos y liberarán el principio activo dentro del macrófago los cuales tiene como blanco las propias células reticuloendoteliales; así enfermedades como leishmaniosis, brucelosis, tumores malignos, enfermedades micóticas entre otros pueden ser tratadas.

Esterilización de liposomas

Los liposomas se han investigado ampliamente como un sistema de administración y existen muchas técnicas de fabricación utilizadas en la producción de preparaciones liposomales, sin embargo, como menciona el autor Toh y Chiu, 2013 “debido a las propiedades únicas de los liposomas y su susceptibilidad a la degradación química y física, la esterilización sigue siendo un problema sin resolver en la fabricación de formulaciones basadas en liposomas” (p.88), es especialmente necesario en la industria farmacéutica, donde los liposomas se preparan para administrarse por varias vías como la administración intravenosa

Según la composición de la preparación determinará sus propiedades fisicoquímicas, y estas a su vez determinarán su idoneidad para las diversas técnicas de esterilización por ello se han ideado nuevas técnicas de fabricación aséptica, es importante tener en cuenta la composición y propiedades únicas de los liposomas, entre las técnicas de esterilización que existen se encuentra la filtración, irradiación gamma, por vapor saturado, por calor seco, con óxido de etileno y la esterilización ultravioleta (Toh y Chiu, 2013, p.91).

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

Enfoque de la investigación

El tipo de investigación tiene un enfoque cualitativo ya que como menciona Hernández, Fernández y Baptista (2014, p.7) “utiliza la recolección y análisis de los datos para afinar las preguntas de investigación o revelar nuevas interrogantes en el proceso de interpretación”, esto, ya que para poder realizar con este enfoque se requiere que existan investigaciones previas, esto con el fin de llevar a cabo una revisión inicial de la literatura relacionadas al tema, para poder realizar una revisión de ellas y analizar los datos, de cada una de las investigaciones según el estudio que se lleva a cabo, así como su interpretación con base en un proceso inductivo, desde lo particular a lo general.

Entre otras características de este tipo de investigación según Hernández *et al* (2014, p.8) “aunque ciertamente hay una revisión inicial de la literatura, ésta puede complementarse en cualquier etapa del estudio y apoyar desde el planteamiento del problema hasta la elaboración del reporte de resultados” esto ya que el aporte de las investigaciones previas relacionadas con el tema se pueden utilizar en cualquier punto de la investigación, aunque este ya está iniciada en otras palabras se puede regresar en etapas previas para mejorar el contenido; además en este tipo de enfoque se utilizan diversas técnicas para recolectar datos, una de las utilizadas es la revisión de documentos, a parte también pueden ser: entrevista, discusión en grupo, evaluación de experiencias personales, registro de historias de vida, entre algunas.

Es necesario recordar que el enfoque cualitativo “representa un conjunto de procesos, es secuencial y probatoria, por lo que se no puede eludir ninguno de sus pasos. El orden es riguroso, pero sí se puede redefinir alguna fase” (Hernández *et al*, 2014). Parte de la idea planteada es que toda la investigación lleva una secuencia la cual es necesario llevarla en el orden estipulado, ya que de lo contrario se divagará con la información que se cuente o no se sabrá aprovechar las fuentes, perdiendo de vista los objetivos iniciales de la investigación, a pesar de ser una investigación con más cuerpo teórico no se debe perder de vista el enfoque que se tiene, además de conocer, cómo debe estructurarse.

Diseño de la investigación

Para poder llevar a cabo el desarrollo de la investigación se realiza con base en dos diseños los cuales corresponden al transversal y descriptivo, referente al primero Hernández *et al* (2014) indica que transversal es un tipo de diseño “cuyo propósito es describir variables y analizar su incidencia e interrelación en un momento dado.” (Hernández *et al*, 2014, p.154), en este tipo de método se limita el intervalo de tiempo que se desea analizar es decir solo se tomará en cuenta aquella información que se haya obtenido dentro del momento indicado según la investigación, dentro de la cual se planea puntualizar las variables de análisis e investigarlas siempre y cuando se hayan obtenido dentro de un momento o tiempo dado, es substancial tener claro el intervalo de tiempo de los estudios científicos por analizar.

El otro alcance de la investigación es el de carácter descriptivo “con los estudios descriptivos se busca especificar las propiedades, las características y los perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetos o cualquier otro fenómeno que se someta a un análisis” (p.92), en este tipo de alcance se recopila información del objeto de estudio en específico, así como de los temas relacionados con este, con el fin de describir o detallar para lograr así una mejor comprensión, por medio de este alcance de la investigación se puede conocer la incidencia del fenómeno de análisis y describirlos con base en las variables que se tienen.

El otro alcance de la investigación es de carácter explicativo este según Hernández *et al*, (2014) “pretenden establecer las causas de los sucesos o fenómenos que se estudian.” (p.95), en este tipo de estudio se busca, no solo describir sino como lo indica su nombre explicar el porqué ocurre dicho fenómeno o a responder una interrogante planteada acerca la causa que lo genera, se centra bajo cuál causa y condiciones se desarrolla el objeto en estudio, además como menciona, Hernández *et al* (2014) “proporciona un sentido de entendimiento del fenómeno a que hace referencia” (p.98), podría decirse que con este tipo de alcance se complementa un estudio descriptivo, pues se profundiza en comprender la investigación.

Categorías de análisis

Tabla 5. Definiciones de las unidades de análisis

Categoría	Definición conceptual
Composición de liposomas	Cualidad o conformación de su estructura base de lípidos esféricos empleados para obtener vesículas de bicapas lipídicas concéntricas (Hoyos Serrano y Rosales Calle 2014)
Tipos de liposomas	Atendiendo a sus características fisicoquímicas o al proceso por el que han sido elaborados es conocer el tipo de liposoma o bien su clasificación teniendo en cuenta más bien al comportamiento que previsiblemente tendrán los liposomas como consecuencia de las modificaciones en su estructura (Ruano Aldea 2013)
Eficacia	Capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera, se refiere a poder generar resultados en condiciones experimentales, también hace referencia al grado en que un procedimiento o servicio puede lograr el mejor resultado posible (Lam Díaz y Hernández Ramírez, 2008).
Respuesta in vivo	Es la respuesta o resultado que se obtiene en la experimentación en organismos ya sean animales (ratones, conejos) y en ensayos clínicos son dos formas de investigación in vivo, en donde se observan los efectos globales (Díaz, 2009, p.434)
Formulaciones orales	Preparaciones en las que la liberación de la sustancia o sustancias activas no está deliberadamente modificada por un diseño de formulación particular ni por un método de fabricación especial. (RAE, 2002).

Nota: Elaboración propia (2019)

Técnicas de recolección de datos

La obtención de los artículos, libros y demás información que se tomará como base para el desarrollo de la investigación cualitativa se obtendrá de diversas páginas académicas, principalmente en idioma español e inglés, mediante revisiones bibliográficas de diversos artículos referentes al tema; Ramos et al, 2003 citado por Guirao, Olmedo y Ferrer (2008, p.4) hacen referencia a lo que significa “un artículo de revisión no es una publicación original y su finalidad es examinar la bibliografía publicada y situarla en cierta perspectiva” en donde algunos de los artículos consultados y citados son de este tipo, ya que recopilan la información más reciente o lo único con lo que se cuenta hasta el momento para poder explicarse de manera lógica.

Conforme se van reuniendo los datos verbales, en texto, figuras, tablas, gráficos así como cualquier otro material dentro de la información por consultar, analizar y desarrollar, se integrarán tratando de generar una estructura que le permita explicar y comprender los temas desde lo básico hasta lo específico, al profundizar se mostrarán de una manera general y comprensible desde lo más importante y de su relación con el proceso investigativo, en cuanto a los antecedentes, dentro de las investigaciones se indagará en las referencias que presenten para poder entender y así plantear la información de forma completa y clara.

Finalmente, se opta por emplear el análisis de toda la información, que así lo requiera, Hernández *et al* (2014) hace referencia a este “la acción esencial consiste en que recibimos datos no estructurados, a los cuales nosotros les proporcionamos una estructura, los datos son muy variados” (p.418), lo que quiere dar a entender este autor es que los datos que se obtengan no se encontrarán tabulados con base en los objetivos de la investigación, por lo que habrá que estructurar aquella información específica, que sea útil para dar claridad y va dirigida al proceso utilizado, de inicio a fin, en un orden secuencial y resumido pero fácil de interpretar y entender.

Criterios de inclusión y exclusión

Para el desarrollo de esta investigación se planteó un objetivo general del cual se generaron tres objetivos específicos, del primer objetivo se tienen dos categorías la primera corresponde a la composición de liposomas, para poder describir la composición y tipos, además se analizará artículos para extraer la información, que se requiera siempre y cuando cumplan con los siguientes criterios; posean una metodología de fabricación clara con proceso de encapsulación de un antibiótico, debe ser en nanopartículas de liposomas, en cualquier forma farmacéutica, componentes en número, cantidad o proporción indiferente, todo aquello que indique datos relacionados con la metodología utilizada en la preparación de los liposomas excluyendo cualquier tipo de nanopartícula diferente a liposomas.

En cuanto a la eficacia que es la unidad de análisis del segundo objetivo se utilizarán artículos con no más de cinco años de antigüedad, en los que se haya utilizado una formulación de ciprofloxacina liposomal ante agente patógenos (bacterias) causantes de una afección pulmonar incluyendo todas aquellas realizadas in vivo como in vitro, indiferentemente, de quiénes sean los sujetos utilizados en el desarrollo de la investigación, en donde la eficacia se tomará según los parámetros medidos en estos estudios, permitiendo demostrar la eficacia de este tipo de formulación se excluirá a aquellas que no muestren los datos e impidan verificar la información que suministre en el documento, así como aquellos que no indiquen bajo que condiciones se desarrolló el estudio.

Finalmente del último objetivo específico cuenta con la categoría de respuesta in vivo, en donde se incluirán artículos de estudios in vivo, realizado en cualquier tipo de sujeto cuyos resultados muestren una respuesta favorable ante el acción de formulaciones en liposomas de ciprofloxacino, también serán medidos contra un placebo o ciprofloxacina vía oral en dosis igual para proveer una protección o accionar similar y constar la respuesta que presentan los sujetos de prueba, ante ambas se excluyen aquellas realizadas, únicamente in vitro.

Recolección y análisis de información

La técnica para la obtención de datos en el desarrollo de esta investigación cualitativa se lleva a cabo a partir de revisiones bibliográficas de diversos artículos respecto del tema; Ramos *et al*, 2003 citado por Guirao, Olmedo y Ferrer (2008, p.4) hacen referencia a lo que significa “un artículo de revisión no es una publicación original y su finalidad es examinar la bibliografía publicada y situarla en cierta perspectiva” en donde algunos de los artículos consultados y citados son de este tipo otros más bien corresponde a experimentales específicos a algún tipo de agente antibiótico utilizado encapsulado en liposomas, propiamente todos aquellos resultados de las investigaciones generadas por investigadores que aportan nuevas ideas o conocimiento deben ser publicados, con el fin de analizarlos, según los objetivos de la investigación.

También se utilizarán artículos de libros dentro del área de salud, relacionados con farmacia o farmacología, artículos científicos, reportes, revisiones sistémicas, metanálisis, artículos o bien libros de metodología en diversas bases de datos, ya que todas estas publicaciones tienen su lugar dentro de la generación de nuevo conocimiento, que se debe ser muy crítico con lo que se lee y tener una idea clara de qué realmente le dará aportes a la investigación en proceso.

CAPÍTULO IV. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Composición y el tipo de liposomas que son obtenidos por diferentes tipos de métodos en formulaciones antibióticas liposomales in vivo

Existen varios métodos de obtención de liposomas ya sean unilaminares o plurilaminares, cuyos componentes o la composición lipídica que presenten puede modificarse según se considere viable, para la formulación antibiótica por desarrollar a partir de este tipo de sistemas, previamente se explicó en que consiste algunos de los métodos más conocidos, en la fabricación liposomal, por lo que los investigadores Sánchez y Navarro en el año 2016, optaron por utilizar dos métodos, el primero es el método de Bangham y también utilizaron el método de sonicación.

Ellos optaron por utilizar tres tipos de lípidos en la estructura base del liposoma, estos consistieron en fosfatidilcolina de huevo (EPC), dietildodecilamonio (lípido catiónico, DDA) e incorporar el colesterol (CH); estos fueron mezclados entre sí para posterior añadirlos a una mezcla de cloroformo/etanol, es decir, incorporarlos a un medio orgánico en el cual podrían disolverse; esta solución fue colocada en un balón de vidrio para proceder a evaporar los disolventes orgánicos con rotavapor al vacío durante unos 40 minutos, manteniendo una temperatura de 40°C y una velocidad de agitación de 60 rpm (revoluciones por minuto) (Sánchez y Navarro, 2016)

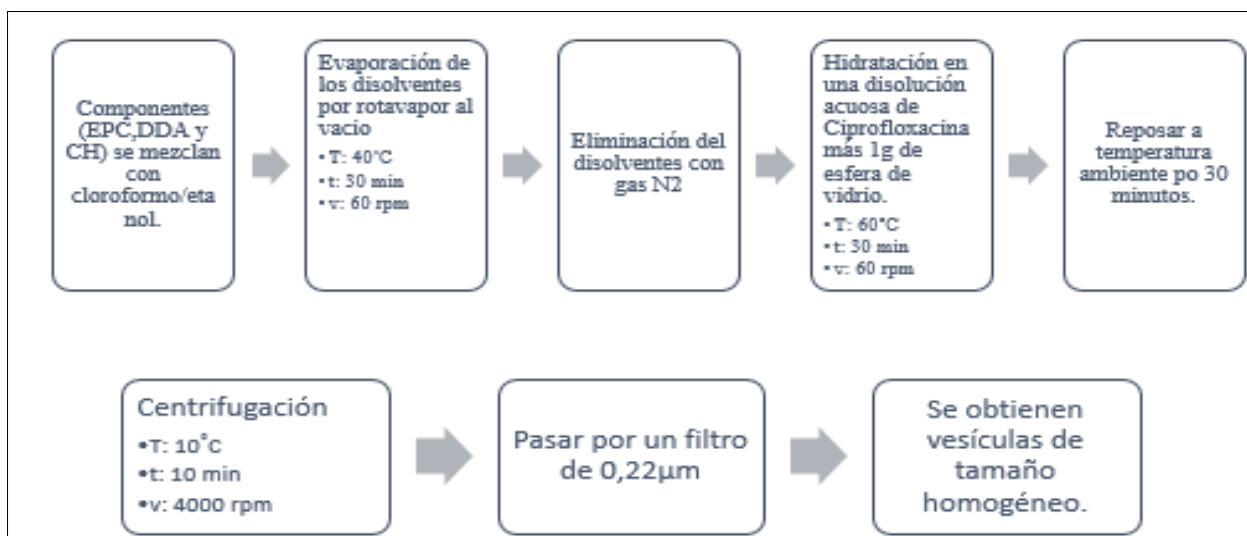
En este punto la totalidad de los disolventes difícilmente podría eliminarse por completo, ya que sus puntos de ebullición son un poco superior que la temperatura a la cual se trabajo siendo de 61°C para el cloroformo y de 78.3°C en el caso del etanol, por lo que procedieron a eliminar los restos de disolvente con gas N₂, seguidamente se hidratan los lípidos con una disolución acuosa de ciprofloxacino que se mantiene en baño a 60 °C, durante 30 min junto a una agitación de 60 rpm, adicionalmente se le agregó 1g de esfera de vidrio con el fin de favorecer la hidratación y finalmente transcurrido este tiempo se dejan otros 30 min a temperatura ambiente.

A través de este método se permite obtener liposomas unilaminares en donde el tamaño de estas estructuras depende de la energía suministrada por agitación mecánica, en este caso siempre se trabajó con 60 rpm, la concentración y la pureza de los fosfolípidos, donde se optó por trabajar con un lípido natural (EPC), el colesterol el cual puede proveer de rigidez a la membrana lipídica a formar y un lípido catiónico como menciona Clares (2003) “la adición de fosfolípidos cargados incrementa la distancia entre las membranas lipídicas” (p.42), tal vez este se incorporó para proveer de mayor espacio entre una membrana y otra, e impedir el fenómeno de agregación de los lípidos.

En los puntos anteriores se trabajó con una temperatura de 60°C la cual a pesar de no ser la necesaria para evaporar los disolventes, si lo es para alcanzar la temperatura de transición de los lípidos en el medio y permitir que se encuentre en estado de fluido, el requerido en los procesos de fabricación liposomal; posterior fue necesario centrifugar para separar las partículas liposomales formadas según su capacidad de sedimentación durante 10 minutos a una temperatura de 10°C y 4000 rpm, así se obtiene un precipitado de restos lipídicos y un sobrenadante con los liposomas, sin embargo en este punto no se puede asegurar que el método empleado genere liposomas del mismo tamaño por lo que se procede a pasar por un filtro de 0,22 µm para obtener vesículas lipídicas de tamaño más homogéneo, las cuales ya que encuentran cargadas con el antibiótico (ciprofloxacino).

La encapsulación, como tal del fármaco, se da por sí sola y no requiere de ninguna metodología adicional para generarse, ya que al hidratar la disolución lipídica, este medicamento ya se encuentra disuelto en forma acuosa por lo que al mezclar ambas soluciones por las interacciones de las cadenas hidrocarbonadas y los grupos polares de los fosfolípidos empleados, el medicamento quedaría atrapado en la parte hidrofílica, ya que para minimizar el contacto entre sus porciones hidrófobas y el entorno acuoso se forman las bicapas, encapsulando a la molécula de ciprofloxacino, al final este medio permitió obtener liposomas unilaminares heterogéneos en cuanto al tamaño y diámetro.

Figura 27. Resumen método de Bangham

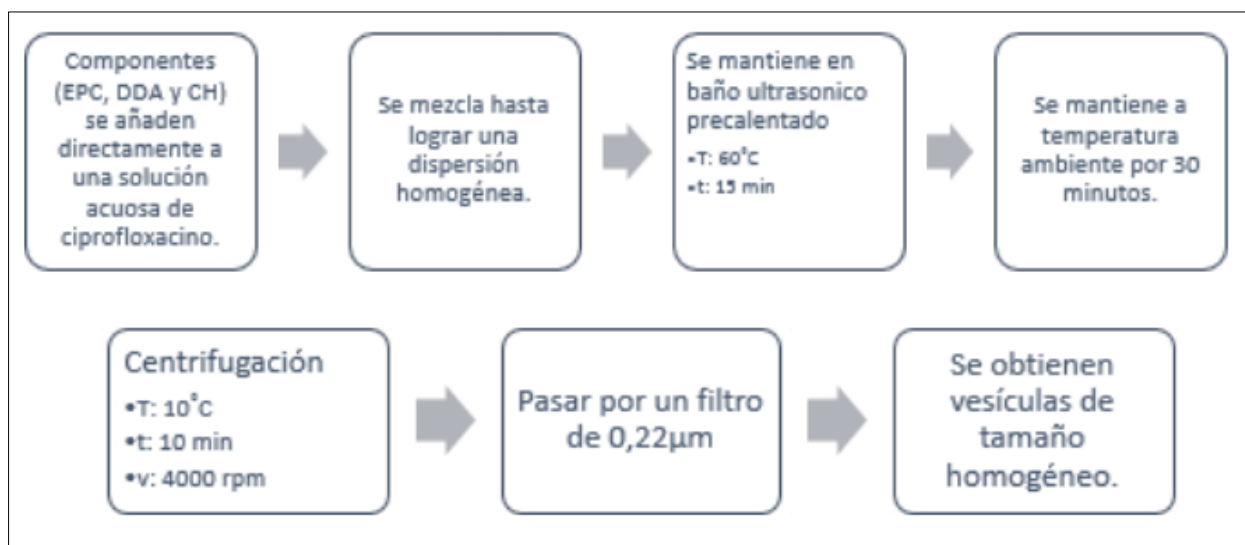


Nota: elaboración propia (2019)

Además del método de Bangham utilizaron el método de sonicación, el cual no es tan empleado, ya que se considera un poco costoso, los componentes lipídicos fueron los mismo, en este procedimiento a diferencia del anterior no lleva ningún disolvente orgánico, ya que primero se procese a añadir directamente los componente a una disolución acuosa la cual ya contiene al fármaco mezclando hasta conseguir una dispersión homogénea, es decir, una solución de igual proporción de ambas, una vez que es homogénea se coloca en baño ultrasónico previamente precalentado a una temperatura de 60°C por 10 minutos.

Transcurrido ese tiempo, se agita y se vuelve a colocar en el baño de ultrasonido por cinco minutos más, para posterior dejar por 30 minutos a temperatura ambiente para permitir que se estabilicen las vesículas liposomales que se encuentran formadas, como se describe en este método la composición lipídica, una vez lista se expone a una solución acuosa, en este caso no existe una solución orgánica para disolver los lípidos ni se trabaja con temperaturas de gran valor, sino que el proceso de sonicación permite con energía sónica permitiendo la organización de los liposomas por la agitación vigorosa que provee al medio; al igual que el método anterior se repiten los mismo pasos de centrifugación y filtración para obtener liposomas de tamaño similar.

Figura 28. Resumen método de sonicación 1



Nota: elaboración propia (2019)

Los investigadores Duque, Valle y Sánchez, en 2017 se dieron a la tarea de realizar la encapsulación en liposomas en donde utilizaron el método descrito previamente (método de sonicación) para llevar a cabo la síntesis de 24 lotes de ciprofoxacina liposomal de diferentes concentraciones (1 mg/mL, 2,5 mg/mL o 5 mg/mL), dentro de los componentes que utilizaron están: la fosfatidilcolina de huevo (EPC), colesterol (CH), dietildodecilamonio (lípido catiónico, DDA), en algunos lotes y albúmina bovina; como se puede notar tiñen prácticamente los mismos componentes donde varían el agregar el DDA a ciertos lotes sin embargo no explican el porqué, del método, por si mismo es sencillo y requieren de pocos pasos en su realización.

Consistió en mezclar los componentes con una solución de ciprofloxacino precalentada a una temperatura entre 55° - 60°C procurando una vigorosa agitación mecánica. una vez que se obtuvo una dispersión homogénea esta se colocó en baño ultrasónico por 20 minutos, a 60°C y 50 Hz, en este punto se supone la formación de las vesículas liposomales debido a la mezcla lipídica con la que contiene ciprofloxacina en agua ultra pura (medio acuoso), finalmente la suspensión resultante se mantiene a temperatura ambiente para su estabilización durante 60 minutos; la albúmina se utiliza para encapsular o recubrir a los liposomas cargados con ciprofloxacina.

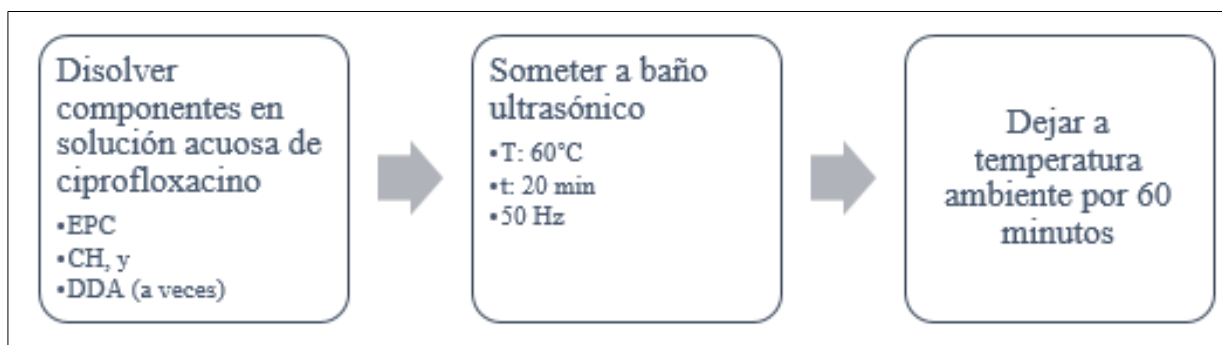
Esta encapsulación con albúmina se llevó a cabo por liofilización ya que los liposomas se enfriaron alrededor de 4°C y 6°C durante 30 minutos y se agregó gota a gota la albúmina bovina en un volumen igual al de los liposomas, se mantuvo una relación 1:1 y en los casos necesarios se

ajustó a un pH de 4, posterior se sometió a agitación por vaivén 30 oscilaciones por minuto y a una temperatura de 4°C por 20 horas, posterior se centrifugó a 1500 rpm manteniendo la temperatura anterior, obteniendo así un sobrenadante limpio.

En cuanto a los liposomas obtenidos por este método presentaron diferencias en la composición de la bicapa que conforma las vesículas (algunos con DDA otros no) y la concentración de la disolución de principio activo empleada pero con tamaños homogéneos con excepción en aquellos sin DDA, ya que tenía un menor diámetro lo que podría deberse a que este lípido al ser de carácter iónico su presencia podría generar interacciones que afecten el diámetro de los liposomas permitiendo un mayor espacio en la membrana lipídica de las vesículas, lo que indica, que existe una relación directa entre la eficacia de encapsulación y la composición de las bicapas lipídicas, ya que a mayor diámetro de lipoma mayor capacidad de albergar más fármaco.

Para determinar la eficacia de encapsulación en los liposomas, se realizó a partir de la cantidad de principio activo añadida y la cuantificada en el sobrenadante, es decir, la cantidad de ciprofloxacina en liposoma se dividió en la cantidad total y se multiplicó por cien, dicha cantidad se determinó al conocer la concentración del fármaco en el liposoma a través de cromatografía (HPLC), y así se obtuvieron los valores que demuestran que el método de fabricación es reproducible, sencillo y adecuado, además que la composición lipídica afecta la encapsulación en el proceso, ya que según el tipo de lípidos incorporado permitirá encapsular mayor carga del fármaco.

Figura 29. Resumen método de sonicación 2



Nota: elaboración propia (2019)

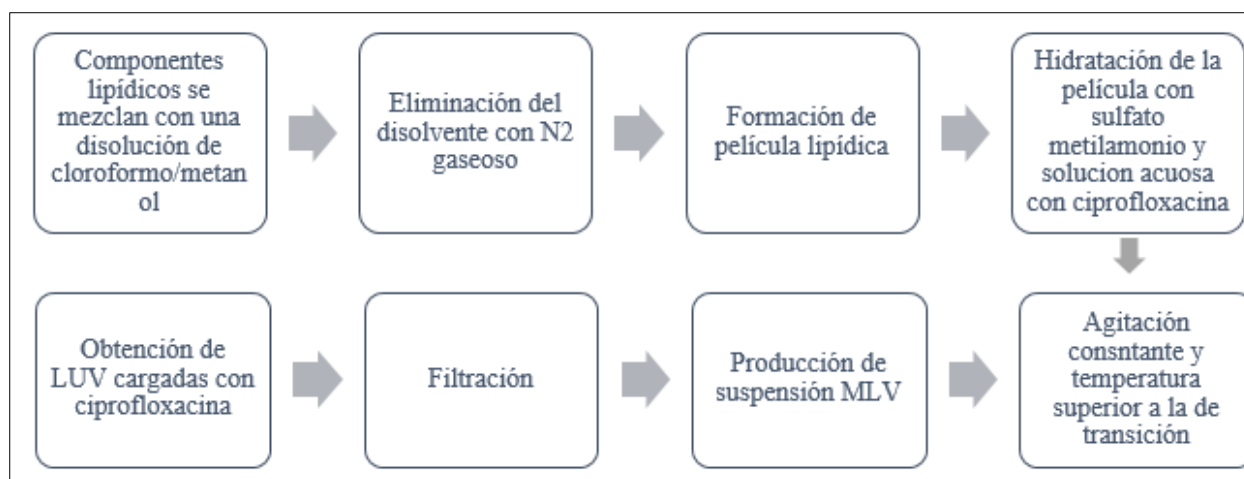
En el 2014, otro método empleado fue el de obtener liposomas cargados con ciprofloxacina los autores, los autores Ong *et al*, utilizaron el método de carga activa a través de un gradiente de pH transmembrana, generado en respuesta a un gradiente de sulfato de amonio, para la preparación de los liposomas, para llevarse a cabo se utilizaron como componente lipídicos: fosfatidil-colina con soja hidrogenada (HSPC) y colesterol, estos se mezclaron con una solución de cloroformo/etanol, posterior se eliminó el solvente bajo una corriente de nitrógeno gaseoso y luego se eliminó el solvente residual permitiendo la formación de la película lipídica, esta se hidrató mediante la adición de sulfato de metilamonio.

En este punto se llevó a cabo la encapsulación de ciprofloxacina ya que esta se cargó en liposomas, en respuesta a un gradiente transmembrana del metilamonio que se estableció mediante diálisis de liposomas donde se agregaron concentraciones iguales a los de la película lipídica y una solución (formulación acuosa de acetato tamponada a pH 3.3 que contiene ciprofloxacina) esto se debe ya que la ciprofloxacina al entrar en el liposoma gana un protón y se carga, por lo tanto, queda atrapada dentro del liposoma, ya que no puede difundirse a través de la bicapa en la forma cargada, en términos simples, la forma no ionizada de ciprofloxacina es permeable a la membrana y, por lo tanto, atraviesa la luz acuosa del liposoma, posterior se llevó a agitación mediante un vórtex y se sometieron a un breve calentamiento para pasar a un proceso de liofilización en donde se sometió a ciclos de congelación y descongelación para, seguidamente pasar a través de filtros apilados de 0,1 mm de diámetro de poro con un extrusor mantenidos a una temperatura de 65 ° C para obtener los liposoma unilaminares.

Este método de preparación descrito es un proceso simple y eficiente, simple en el sentido que al igual que los demás métodos, una solución lipídica se disuelve en una mezcla orgánica, se elimina el solvente para formar una película lipídica, que posterior se hidrata hasta ese punto la mayoría de métodos coinciden; en este su principal diferencia es que se basa en la carga activa que se le atribuye, que gana la ciprofloxacina el estar en la solución hidratante en contacto con sulfato de amonio los lípidos, en donde posterior se alcanzará una temperatura que permita superar a la de transición, para producir las vesículas, que en este punto serán multilaminares.

Así este método permite obtener vesículas multilaminares los cuales presentan diámetros mayores y varias bicapas lipídicas en su conformación, por lo que extra a otros procesos se utilizan filtros estériles para disminuir el diámetro de estos y obtener así vesículas unilaminares cargadas con ciprofloxacino, en cuanto a la encapsulación de ciprofloxacina esta se cargó en liposomas en respuesta a un gradiente transmembrana del metilamonio que se estableció mediante diálisis de liposomas donde se agregaron concentraciones iguales de las formulaciones liposomal y solución (formulación acuosa de acetato tamponada a pH 3.3 que contiene ciprofloxacina) esto se debe ya que la ciprofloxacina al entrar en el liposoma gana un protón y se carga, por lo tanto, queda atrapada dentro del liposoma, ya que no puede difundirse a través de la bicapa en la forma cargada. inmediatamente antes de los experimentos para producir una concentración de 50:50 (% p / p).

Figura 30. Resumen método carga activa



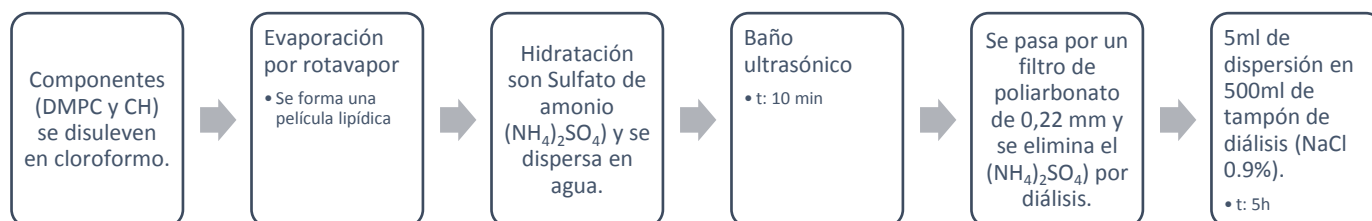
Nota: elaboración propia (2019)

Recientemente en 2018 los autores Liu *et al*, llevaron a cabo una evaluación in vitro e in vivo de liposomas de ciprofloxacino, en donde para la preparación de liposomas cargados con ciprofloxacina emplearon el método de sulfado de amonio, utilizaron como componentes dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) y colesterol (CH) con relación 1:1, esta mezcla lipídica se disolvió en forma apropiada cloroformo para posterior eliminar el disolvente orgánico utilizando un evaporador rotatorio bajo presión reducida, hasta este punto el método es muy similar al de dispersión simple o método de Bangham.

Al evaporar el disolvente se forma una película lipídica delgada en la pared del balón de vidrio de manera uniforme, eliminado completamente el disolvente, es decir, teniendo solo la película lipídica seca se hidrató con de sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ cuya concentración fue de 0.6 M y se dispersó en un baño de agua ultrasónico de sonda durante 10 minutos, según describen los autores, este método produce liposomas multilaminares, posterior fueron extruidos cinco veces a través de un filtro de policarbonato de 0,22 mm.

En este caso el disolvente empleado es el sulfato de amonio por lo que el no atrapado se eliminó mediante diálisis, esta etapa se realiza con el fin de eliminar, por intercambio iónico, el Sulfato de Amonio presente a través de una membrana de diálisis, y así lograr una buena pureza o separación adecuada, este tipo de membrana permiten una buena compatibilidad química en donde dependiendo del tipo que se utilice permite diferentes tipos de permeabilidad, a partir de esta paso se obtiene una dispersión de 5 ml la cual se colocó en 500 ml de tampón de diálisis (0,9% de cloruro de sodio) durante cinco horas, con un cambio de tampón cada dos horas y media; para la administración del fármaco al sistema liposomal se agregó ciprofloxacina en una proporción de masa 1: 3 de fármaco / fosfolípidos y la a mezcla se incubó luego a 50°C durante una hora.

Figura 31. Resumen método de sulfato de amonio



Nota: elaboración propia (2019)

Este método no es tan empleado para la fabricación de liposomas, a parte de estos autores se encontraron otras dos investigación donde se empleó el mismo método uno en 2001 y el en 2010, cuya metodología, para la preparación de los liposomas es casi que la misma, sin embargo a pesar de no ser muy empleado parece producir liposomas por un método poco convencional mediante la utilización del sulfato de amonio con hidratante del medio y utilizando técnicas de separación

como lo es la diálisis a través de membranas las cuales según, Científica Senna pueden usarse con ácidos y bases fuertes diluidos, ácidos y bases débiles concentrados, la mayoría de alcoholes y algunos compuestos orgánicos suaves o diluidos y es capaz de tolerar un pH de 2 a 12 y temperaturas de 4 a 121 ° C, básicamente utilizable bajo muchas condiciones de laboratorio.

En este estudio, para poder determinar si la encapsulación fue eficiente se utilizaron tres métodos de análisis: la cromatografía en columna de gel , la ultracentrifugación y la diálisis, para poder separar, adecuadamente, y posterior examinar mediante espectrofotometría ultravioleta, sin embargo dos de estos métodos generaron inconvenientes para poder determinar, adecuadamente la encapsulación, el primer método de la cromatografía en columna de gel, este permite la separación de moléculas en función de su tamaño, en este tipo de cromatografía la fase estacionaria es un gel constituido por partículas esféricas que tienen poros de un determinado tamaño, que se introduce en una columna, en este las moléculas de pequeño tamaño difunden a través de los poros de las partículas y las de mayor tamaño son retenidas, sin embargo al utilizarse se dio la pérdida de liposomas por los que fue difícil poder determinar si la encapsulación funcionó o no.

El otro método fue el de ultracentrifugación se basa en la velocidad de sedimentación de las partículas, permitiendo separarlas según su tamaño y densidad, al implementar este método fue difícil encontrar una velocidad adecuado de modo que permitiera una correcta separación de los liposomas, por lo que se recurrió a utilizar el método de diálisis para determinar la eficacia de encapsulación liposomal de tres lotes, en este se separó la ciprofloxacina no encapsulada de la encapsulada, la ciprofloxacina no encapsulada se determinó mediante espectrofotometría UV para posterior calcular el fármaco total de liposoma de ciprofloxacina utilizando metanol para disolver el lípido y se determinó mediante UV y finalmente obtener la eficiencia de encapsulación, este método resultó ser simple, reproducible y adecuado para la separación del liposoma de ciprofloxacina y la ciprofloxacina libre, lo que permitió conocer así un 93,96% de eficiencia en la encapsulación.

Tabla 6. Composición y resultado de liposomas obtenidos por diversos métodos.

Método	Composición	Resultado
Método de Bangham.	Fosfatidilcolina de huevo (EPC), dietildodecilamonio (lípido catiónico, DDA) e incorporarle el colesterol (CH).	Liposomas unilaminares heterogéneos en cuanto al tamaño y de diámetro, al utilizarse un filtro de medida específica permite tener liposomas de tamaño homogéneo.
Método de sonicación.	Fosfatidilcolina de huevo (EPC), dietildodecilamonio (lípido catiónico, DDA) e incorporarle el colesterol (CH).	Liposomas pequeños unilaminares (se requirió mayor aumento para su observación), más homogéneos, pero con mayor cantidad de trazas lipídicas no incorporadas a las vesículas.
Método de sulfato de amonio.	Dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC) y colesterol (CH)	La bicapa liposoma tenía las características de una membrana celular obteniendo vesículas unilaminares.
Método de sonicación	fosfatidilcolina de huevo (EPC), colesterol (CH), dietildodecilamonio (lípido catiónico, DDA).	Liposomas unilaminares pequeños dimensiones homogéneos, con mayor capacidad de carga al modificar la composición y no el método.
Método de carga activa.	fosfatidil-colina con soja hidrogenada (HSPC) y colesterol	Liposomas multilaminares con una carga activa del medicamento.

Nota: elaboración propia (2019)

Eficacia de ciprofloxacina liposomal inhalada, ante diversos patógenos causantes de infecciones pulmonares, en estudio in vivo e in vitro

En 2014, los autores Hamblin *et al* llevaron a cabo un estudio de ciprofloxacina encapsulada en liposomas para inhalación (CFI) en donde se investigó como un supuesto agente terapéutico para la exposición a la peste para dos cepas de *Francisella tularensi* (LVS y Schu 4), para ambas cepas se dejaron aislados varios días a los ratones antes de la exposición a las cepas, la formulación de ciprofloxacina liposomal fue la de Lipoquin® la cual es una dispersión coloidal acuosa que contiene ciprofloxacina encapsulada en liposomas unilamelares y que se fabrica a una concentración de 50 mg /ml.

Los ratones en grupos de 4 fueron expuestos a la cepa LVS por vía intranasal con una pipeta bajo anestesia con halotano, con aproximadamente 6×10^4 unidades formadora de colonias (UFC), dentro de las 72 a 96 horas después se inició el tratamiento administrando 50mg/ml de ciprofloxacina oral y CFI, con una duración de tres semanas; a los otros ratones en grupos de 12 se expusieron a la otra cepa (Schu 4) mediante un nebulizador durante 10 minutos con aproximadamente 10 UFC, a las 24 horas después se inicio la terapia tanto con ciprofloxacina oral (una o dos veces al día) como la CFI (ya sea intranasal o en forma de aerosol) una vez al día; para la biodisponibilidad relativa en los ratones se sacrificaron 3, se les sacaron los pulmones, se pesaron, homogeneizaron y centrifugaron con los respectivos reactivos para poder obtener las curvas del estándar homogeneizado de pulmón de ratón.

Los resultados se generaron y permitieron ver el comportamiento en las muestra tomadas mediante las cuales no fue posible determinar la eficacia contra la primera cepa de *F. tularensis* con ciprofloxacina oral ni CFI intranasal, ya que la gravedad de los signos clínicos y la pérdida de peso fueron similares después de los tres regímenes de tratamiento con ambas presentaciones de ciprofloxacina, sin embargo en la otra cepa virulenta Schu 4 una sola dosis de ciprofloxacina oral no ofreció protección a ratones infectados hasta la muerte en comparación con el grupo control no tratado en cambio los regímenes de dosificación de los días 3 y 5 de la terapia oral con ciprofloxacina dos veces al día no impidieron la mortalidad pero aumentaron significativamente el tiempo de muerte en comparación con los animales de control no tratados, por lo que dosis orales permiten extender el tiempo de vida más no la mortalidad.

En cambio al utilizarse la CFI administrado por vía intranasal una vez al día durante 3 días dio como resultado una supervivencia superior al 90%, con 5 días de tratamiento que brindaron una protección completa, lo que permite exponer una mejor respuesta a una formulación que presenta el mismo principio activo pero encapsulado en liposoma, por lo que este vehículo podría ser el responsable de la diferencia en la respuesta de mortalidad, ya que permite que la misma dosis de igual concentración permanezca de manera efectiva en el sitio de infección.

En contraste una sola dosis intranasal de CFI administrada a las 24 h después del exposición al agente patógeno de *F. tularensis* Schu 4 proporcionó muy poca protección, permitiendo que únicamente 1 ratón sobreviviera del grupo de 12, no es que CFI intranasal no funcione sino que requiere más de 1 dosis para mejorar el perfil de respuesta ante un infección pulmonar, en comparación una dosis única de CFI en aerosol, administrada a las 24 h después de la exposición proporcionó una protección completa y una supervivencia, significativamente mayor en comparación con la de los controles no tratados, los tratados con ciprofloxacina oral o los que recibieron una dosis intranasal única de CFI.

Sin embargo, resulta curioso ya que según alguno de los parámetros farmacocinéticos obtenido con CFI por vía intranasal dio como resultado una mayor concentración máxima en el pulmón que la CFI en aerosol y un área 60 veces mayor bajo la curva de concentración-tiempo en el pulmón, que representa el total general exposición a la ciprofloxacina, aunque también se puede ver una diferencia en el aclaramiento, aunque no es mucho, así como también la $C_{m\acute{a}x}$ diferencia mucho entre una formulación y otra, ya que la intranasal permite registrar una $C_{m\acute{a}x}$ muy por encima que la de en forma de aerosol; lo que lleva a pensar que la CFI en aerosol a pesar de no tener los mejores parámetros farmacocinéticos posee los necesario para proporcionar una eficacia con una dosis ante una infección por *F. taularensis*.

También una alta concentración pulmonar de ciprofloxacina se mantiene después de la administración de CFI en aerosol, a pesar que tanto la forma oral como la de en aerosol inicialmente proporcionan una alta concentración, la oral es eliminada más rápido que la liposomal lo que genera una marcada diferencia en las vidas medias de las mismas, siendo casi el doble de valor la $t_{1/2}$ para la CFI en aerosol en comparación a la ciprofloxacina oral, este punto a su vez puede ser el porqué se obtiene una excelente respuesta de protección con la CFI, ya que le toma más tiempo eliminarse del organismo.

Aunque en general ambas formulaciones liposomales ya sea la administrada por vía intranasal o en forma de aerosol brindaron una mejor eficacia ante la forma más virulenta de la infección por *F. tularensis* in vitro, en comparación al tratamiento oral que no impidió la mortalidad, ambas formulaciones demostraron ser superiores respecto de la tradicional, sin embargo también existe una mejor, que en este caso corresponde a la CFI en aerosol esta diferencia puede deberse a la capacidad de absorción en el tejido pulmonar que permita que una acceda con mayor facilidad permitiéndole actuar de forma efectiva contra el agente patógeno.

Por lo tanto, es posible que algunas bacterias no entren en contacto con el CFI administrada por vía intranasal, lo que permite que la enfermedad progrese y que los animales sucumban a la infección si solo se administra una pocas dosis del medicamento, lo que evidencia, que como tal, la CFI administrado como un aerosol puede ser más capaz de actuar sobre bacterias localizadas en la periferia pulmonar, previniendo la progresión de la enfermedad y la muerte, en contraste con la administración oral e incluso la intranasal.

Tabla 7. Parámetros farmacocinéticos in vitro, en ratones tratados con ciprofloxacina.

Terapia	Dosis (mg/kg)	C _{máx} (μ g/g)	t _{1/2} (h)	Aclaramiento (kg/h/kg)	AUC ₀₋₂₄ (h. μ g/g)
Ciprofloxacina oral	50	55.8	4.2	5.014	9.2
CFI intranasal	50	3 326.7	6.6	0.8	52 373.8
CFI en aerosol	1	116.1	7.4	1.2	772.7

Nota: elaboración propia (2019)

Tabla 8. Eficacia de ciprofloxacina oral y liposomal contra *F. tularensis*.

	Ciprofloxacina oral	Ciprofloxacina liposomal	
		CFI intranasal	CFI arerozol
<i>F. tularensis</i> FLV	Poca eficacia, no evita mortalidad.	Requiere al menos tres dosis diarias para proveer una mayor supervivencia y al menos cinco para una protección completa	Con mínimo una dosis protege.
<i>F. tularensis</i> Schu 4	Eficacia nula ante la forma más virulenta.	Al menos un régimen extenso para que el fármaco sea eficaz.	Con mínimo una dosis provee protege.

Nota: elaboración propia (2019)

En 2014, también otro grupo de investigadores Norville *et al*, desarrollaron un estudio in vivo e invitro para demostrar la eficacia de la ciprofloxacina encapsulada en liposomas, se evaluó como un agente terapéutico ante *Coxiella burnetii*, el agente causante de la fiebre Q, utilizando ratones machos como sujetos de prueba en los grupos de estudio, la ciprofloxacina para inhalación (CFI) fue proporcionada por Aradigm Corporation, sin embargo no se especifica cuál de las dos presentaciones que posee dicha compañía se utilizó, los ratones se expusieron a un aerosol producido a partir de una suspensión de 10 ml de *C. burnetii*.

Se utilizaron grupos de estudio, para el estudio 1, se observaron grupos de 6 ratones infectados y se evaluaron los signos clínicos (piloerección, espalda arqueada, deshidratación, ojos cerrados, cintura de avispa, inmóvil, peso) y el peso dos veces al día, los ratones se sacrificaron los días 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 y 13 después de la exposición al patógeno y se extrajeron los pulmones, el bazo, el hígado, los testículos y la sangre; para el estudio 2, se trataron grupos de 10 ratones infectados a partir de 24 horas después de la exposición a la bacteria durante 7 días consecutivos con ciprofloxacina (50 mg /kg/ día) administrada oralmente a través de una pipeta dos veces al día o una vez al día intervalos de 24 horas, por vía intranasal, con una pipeta.

Durante el desarrollo del estudio in vitro se pudo observar en los resultados que la aparición de los signos en los ratones tratados placebo, permitía una progresión normal de la infección ya que se registraban pérdidas evidentes en los pesos corporales alcanzando inclusive valores muy grandes y un inicio abrupto de la sintomatología presente en los ratones sin tratar con el medicamento teniendo posterior un progreso sin cambios significativos, además de encontrarse en los análisis realizados la presencia de anticuerpos desarrollados.

La ciprofloxacina encapsulada en liposomas estaba dando en los ratones infectados con *C. burnetii* una respuesta más lenta al desarrollo de la sintomatología, ya que impedía que los ratones bajaran de peso de forma progresiva, por el contrario, obviamente estos al haber sido expuestos al agente patógeno como tal generaría una infección, pero el desarrollo de la misma se vio retrasado debido a acción del medicamento, aún así en aquellos ratones que causó una pérdida corporal les ayudó progresivamente a recuperar poco a poco el peso de los órganos afectados lo que lleva a evidenciar la disminución en el número de bacterias presente en el nivel pulmonar (foco de infección).

Este tipo de formulación utilizando el sistema liposomal le provee de una mejor respuesta al medicamento, ya que permite albergarse por mayor tiempo y manera efectiva en el sitio de acción deseado, que es el pulmón, el cual es el principalmente afectado, a pesar que no previene del todo la sintomatología en los ratones infectados, si ayuda a salir más rápido del cuadro, ya que además de impedir la pérdida de peso corporal como tal en pulmón y bazo permitió que estos empezaran a tener aumentos significativos en el peso de estos organos a partir del día 7, los ratones tratados con CFI muestran una reducción significativa en lugar de un retraso en la pérdida de peso corporal y de los órganos principalmente afectados.

Los liposomas son captados por células fagocíticas, lo que mejora el suministro de antibióticos en el sitio primario de infección para patógenos intracelulares, como *C. burnetii* permitiendo mejorar la captación intracelular y la acumulación posterior a niveles terapéuticos más altos dentro del sitio intracelular de la infección, permite un suministro efectivo vía intranasal, lo que resulta en altas concentraciones iniciales de antibiótico en los pulmones por lo que el tratamiento con CFI también mejora la exposición general dentro de los pulmones.

La acción de una formulación de ciprofloxacina encapsulada en liposomas por inhalación fue evaluada como posible terapia para la infección con *Yersinia pestis*, mediante la investigación de, donde utilizaron ratones a las cuales expusieron al agente y tratados con ciprofloxacina liposomas inhalado dentro de las 24 horas después de la exposición a la bacteria y también a las 42 horas después, para obtener los resultados se analizaron la sangre y los pulmones de estos.

Ciertos parámetros farmacocinéticos como el AUC y CIM (área bajo la curva y concentración mínima inhibitoria) medida ha demostrado ser fuertemente asociado con la eficacia en modelos animales, en los cuales se procura entregar lo más posible las dosis normalmente empleadas, la ventaja que provee la forma inhalada del antibiótico es que produce una mayor $C_{máx}$ y vida prolongada en el pulmón, los resultados mostraron que el tratamiento, 24 horas posterior a la exposición presentaron la.

Además se pudo observar que la carga bacteriana pulmonar y en bazo era significativamente más baja en los ratones tratados en comparación al grupo placebo, se redujeron más abajo del punto límite de detección, permitiendo un alto nivel de protección, ya que cuatro días después de la exposición sucumbieron los ratones que no recibieron el antibiótico para contrarrestar la acción mortal de la bacteria, y aunque con la forma liposomal disminuyó la carga esto no evitó el desecho de la mayoría de ratones, ya que solo proporcionó una supervivencia del 10%.

También se obtuvieron resultados con una terapia 42 horas después, donde se redujeron a niveles por debajo del umbral medible en los pulmones y el bazo de todos los ratones tratados, la encapsulación de ciprofloxacino en liposomas permite que el antibiótico sea eficaz cuando se entrega por inhalación permitiéndole disminuir la cantidad de bacterias presentes en el foco de la infección, ya que se aumenta en gran medida la exposición global a ciprofloxacino en el pulmón,, las dos terapias brindaron un alto nivel de protección cuando se administraron 24 h. y 42 h. después de la exposición, pudieron reducir, significativamente, la carga bacteriana en el bazo y pulmón.

Lo que permitió altos niveles de protección aunque con escasa supervivencia, esto puede deberse a la propia proliferación de la bacteria, ya que a medida que la enfermedad progresa, se moviliza fuera del pulmón haciendo que la infección vuelva emerger y se desarrolle todo el proceso patológico y como solo se administró una dosis, puede que la cantidad de antibiótico suministrado al mismo solo actúe al órgano principal de acción y no hacia todos los sitios en los que la infección se moviliza, en consecuencia, con este estudio no se puede comprobar una eficacia del 100%, ya que aunque reduce la carga bacteriana, es decir, actúa como tal en la inhibición de la bacteria no permite eliminar con la administración de una solo dosis ya sea 24 o 42 horas posterior al exponer ratones, ante *Yersinia pestis*.

Otro grupo de investigadores Serisier *et al*, en 2014 realizaron un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo utilizando ciprofloxacina liposomal de inhalación doble contra *P. aeruginosa* causante de bronquiectasia, es un estudio que se encontraba en fase 2, cuyo método incluyó a 42 pacientes adultos con bronquiosis con dos o más exacerbaciones pulmonares en los 12 meses previos y con *P. aeruginosa* sensible a la ciprofloxacina, los sujetos recibieron la ciprofloxacina de liberación dual por inhalación (DRCFI - Pulmoquin®) que contiene ciprofloxacina liposomal o placebo en tres ciclos de tratamiento de 28 días y 28 días de descanso.

DRCFI consistió en ciprofloxacina liposomal para inhalación (150 mg en 3 ml) y ciprofloxacina libre (60 mg en 3 ml), se proporcionaron en viales separados, el placebo combinado consistió en liposomas de control (15 mg en 3 ml) y solución salina normal (0,9%, 3 ml), en cuanto a los resultados dentro de las semanas de tratamiento se observó desde la primera visita el día 14 una temprana reducción en la densidad bacteriana de *P aeruginosa*, respecto del placebo.

Aún se observaron reducciones medias en los recuentos bacterianos en cada uno de los períodos subsiguientes de tratamiento con DRCFI, dentro del período sin administración de DRCFI, hubo un aumento en el recuento de bacterias del esputo *P. aeruginosa* esto debido a la falta de inhalación de la terapia a medida que avanzaba el ensayo se reveló que la proporción general de sujetos que requieren antibióticos para la exacerbación pulmonar fue menor en el grupo que recibió DRCFI, solo 8 pacientes frente un 77% del grupo placebo que requirió tratar antibióticos para controlar las exacerbaciones pulmonares.

En el tratamiento con DRCFI, se demoró el tiempo hasta la primera exacerbación pulmonar estas presentarán a los 134 días en cambio con el placebo, se empezaron a dar a los 58 días, en general la formulación liposomal fue bien tolerado con una incidencia similar de eventos adversos sistémicos que grupo de placebo, pero con menos eventos adversos pulmonares, además sin premedicación broncodilatadora necesaria, se lograron concentraciones altas y sostenidas de ciprofloxacina, en las vías respiratorias que probablemente ejercían una alta eficacia en el nivel pulmonar. De esta manera se demostró una potente eficacia microbiológica ante una infección de las vías respiratorias por *P. aeruginosa*, sensible a la ciprofloxacina en adultos con bronquiectasias sin FQ la formulación liposomal se administró por inhalación, una vez al día, presentó tolerancia.

Continuando con estudios con acción sobre *P. aeruginosa* los investigadores Haworth, y otros, recientemente en 2019, con ensayos controlados aleatorios, los paciente tenían antecedentes de infección pulmonar crónica por *P. aeruginosa* y se utilizó la misma formulación de ciprofloxacina liposomal del estudio anterior, es decir, Pulmoquin® se administró una vez al día durante seis ciclos de tratamiento de 56 días durante 48 semanas, sin embargo dentro del mismo estudio se dividió en grupos; también se utilizó el mismo placebo.

Según los resultados que se muestran en este estudio, el principal que se pudo obtener fueron diferencias entre la aparición de exacerbaciones en ambos grupos y sus respectivos grupos de placebo, ya que por ejemplo, en cuanto a la aparición de la primera exacerbación fue de 230 días para un grupo ORBIT-4 y 214 para el ORBIT-3 para el otro respecto a los grupos placebo, la aparición se dio en un menor tiempo, de 72 y 78 respectivamente, en general se puede evidenciar la eficacia de la formulación liposomal, ya que retrasa la aparición de exacerbaciones pulmonares en los pacientes, en ambos grupos, con lapso muchísimo mayor respecto del placebo.

En cuanto a la cantidad de efectos adversos leves y graves fue similar en ambos grupos se presentaron en todos los grupos sin excepción, solo que existía un mayor porcentaje en los pacientes tratados con placebo; se redujo de manera significativa la frecuencia de exacerbaciones pulmonares graves, los pacientes con al menos cuatro exacerbaciones pulmonares en el último año tuvieron una mayor reducción en la frecuencia de exacerbación pulmonar cuando se trataron con ciprofloxacina liposomal versus placebo, por lo que en el último año se mostró una eficacia significativa en pacientes con infección pulmonar crónica, con *P. aeruginosa* y al menos dos exacerbaciones pulmonares tratadas con antibióticos.

Tabla 9. Datos de Pulmoquin en estudio

Formulación utilizada	Pulmoquin®	Pulmoquin®	
Fase de estudio	2	3	3
Cantidad de pacientes	42	278 (95 con placebo)	304 (98 con placebo)
Agente patógeno	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
Duración	3 ciclos de tratamiento de 28 días y 28 días de descanso	6 ciclos de tratamiento de 56 días durante 48 semanas	
Eficacia	Reducción de recuento bacteriano, al menos 134 días para la aparición de la primera exacerbación.	Entre 214 a 230 días para la aparición de la primera exacerbación, aparición de efectos adversos, y al menos cuatro exacerbación en el último año.	

Nota: elaboración propia

En este mismo año 2019 también VanDevanter et al, analizaron las secreciones respiratorias con varios participantes que recibieron hasta seis ciclos de tratamiento de 28 días de forma activa (se suministraba el antibiótico) e inactivo (sin terapia) en busca de esputo con *P. aeruginosa*, solo 360 pacientes recibieron la formulación de ciprofloxacino cargado en liposoma y 175 recibieron placebo proporcionaron al menos una muestra de secreción de las vías respiratorias.

Para determinar la eficacia de la formulación antibiótica utilizada se dio a la tarea de determinar las densidades de las muestras de esputo de los pacientes, en donde se pudieron observar primero la presencia de la bacteria *P. aeruginosa* junto con otras, a pesar que todas las muestras se expusieron a ciprofloxacina cargada en liposoma en algunas, esta pareció no ejercer ninguna respuesta, lo que se puede atribuir a una posible resistencia adquirida a la ciprofloxacina, como parte de los resultados no hubo indicios de que el tratamiento condujera a una emergencia oportunista bacteriana que tuviera más probabilidades de estar asociada con la exacerbaciones pulmonares.

El tratamiento con ciprofloxacina liposomal se asoció a una reducción media de la densidad del esputo de *P. aeruginosa*, el cual permitió observarse durante los ciclos de tratamiento, lo que podría reducir exacerbaciones pulmonares en los pacientes, esto a su vez indicar una reducción del riesgo de presentar exacerbaciones al tratarse con ciprofloxacina liposomal ante una infección pulmonar cuyo causante sea el mencionado, a su vez sirve como un biomarcador de la actividad antipseudomónica en las vías aéreas.

También se puede indicar mayores aumentos de la CIM desde los inicios de los ciclos activos en referencia al placebo, dicho aumento se duplicó a partir de la semana 48, frente al 17.5% de individuos que recibieron placebo, los cambios en este parámetro se relacionaron con la formulación liposomal y la manera en que esta llevaba a cabo su efecto en los esputos tomados a lo largo del estudio, aumentando constantemente a medida que avanzaba el estudio y reflejaban las diferencias iniciales de la prevalencia de *P. aeruginosa* en el esputo conforme pasaban los ciclos; paralelamente en las muestras expuestas al placebo, estas densidades bacterianas medias fueron relativamente constantes.

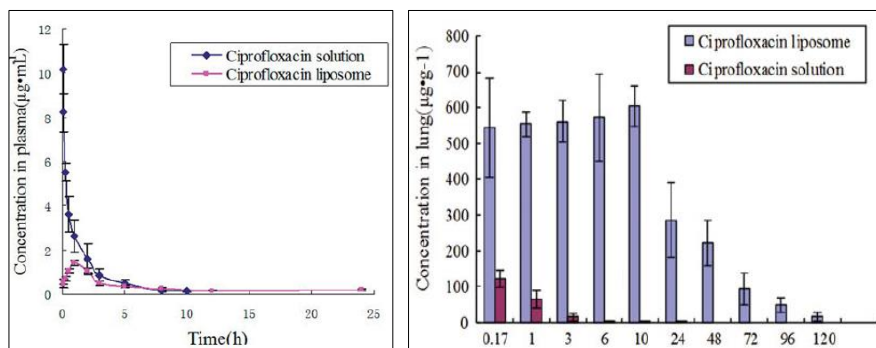
En general este estudio no permite conocer una eficacia exacta pero si deja claro que este microorganismo todavía presenta sensibilidad al antibiótico, pues muestra buenos resultados al emplearse encapsulado en un liposoma, ya que se asoció con disminuciones constantes en las densidades medias de esputo en cada uno de los períodos de tratamiento por cuatro semanas, con el aumento de las densidades de esputo, durante las siguientes periodos fuera del tratamiento, en resumen, las reducciones medias en la densidad de esputo de *P. aeruginosa* fueron consistentes a lo largo del tratamiento, esta formulación antibiótica liposomal posee cierta eficacia y que reduce el riesgo de exacerbaciones pulmonares, a su vez se asoció con incrementos en la concentración de ciprofloxacina en *P. aeruginosa*.

Respuesta in vivo ciprofloxacina liposomal encapsulada respecto del placebo o formulaciones orales de ciprofloxacina

Los investigadores Shi *et al* en 2018, realizaron un estudio para evaluar la respuesta de ciprofloxacina en liposomas, en este se utilizaron ratas macho los cuales se dividieron en grupos formando un total de cinco grupos, el grupo A que serviría de control negativo, el grupo B al cual se le daría una solución de ciprofloxacina, el grupo C administrándoles ciprofloxacina liposomal y los grupos D y E que serviría para la recuperación de datos de ciprofloxacina y ciprofloxacina liposomal, la dosis fue de 20 mg/ kg, lo que es aproximadamente una quinta parte de la dosis oral clínica, en consecuencia, el volumen administrado fue de aproximadamente 100 ml.

Para obtener la muestra biológica de ciprofloxacina liposomal en las ratas, se utilizaron jeringas desechables que se insertaron en la tráquea de las ratas mediante entubación bajo anestesia, luego se sacrificaron, se extrajeron los pulmones y se pesaron, estos se colocaron en un homogeneizador de vidrio y se mezcló con cantidades apropiadas de cloruro de sodio al 0,9% y se centrifugó; se obtuvo un líquido pulmonar y plasma que sería las muestras biológicas estas y el estándar de ciprofloxacina se determinaron por el método de HPLC (cromatografía líquida de alta eficiencia), para tener los valores referenciales al momento de obtener las muestras de los grupos del A al E.

El grupo A fue el grupo de control negativo, y a cada rata se le administraron 3 ml de alina normal, las ratas de todos los grupos se sacrificaron los días 1 y 7, se les extrajeron los pulmones para poder observar la patología pulmonar y fotografiada bajo un microscopio óptico, en cuanto a la estimación de la farmacocinética y la distribución pulmonar de liposoma de ciprofloxacina se tuvieron que establecer las concentraciones, biodisponibilidad relativa y la eficacia de direccionamiento se utilizaron para evaluar la distribución del liposoma de ciprofloxacina y se pudo obtener una representación del área de la curva de concentración-tiempo del fármaco después de la administración intratraqueal en plasma.

Figura 32. Resultados de muestra de los grupos B y C.

Nota: Obtenido de Shi *et al* (2018)

Como se logra apreciar en las imágenes en la (a) muestra las concentraciones posterior a la administración intratraqueal de las formulaciones en plasma, en donde se puede apreciar que la solución que únicamente contiene a ciprofloxacina muestra una gran concentración inicial siendo su concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$) y posterior decae conforme transcurre el tiempo, en cambio la de ciprofloxacina liposomal muestra al inicio bajas concentraciones en donde va liberando poco a poco el medicamento hasta alcanzar su $C_{m\acute{a}x}$ para luego eliminarse, esto demuestra lo que como mencionan en la teoría, los liposomas son capaces de actuar como un vehículo que permite transportar el medicamento y además de eso proveer una liberación del mismo.

Por lo tanto la absorción en el sistema del pulmón después de la administración intratraqueal de la solución de ciprofloxacina fue más rápida que la del liposoma de ciprofloxacina, sin embargo a su vez eso hace que se elimine más rápido lo que requiera mayor número de dosis que en la formulación liposomal, mediante los respectivos cálculos farmacocinéticos se obtuvieron los valores de vida media ($t_{1/2}$) y $C_{m\acute{a}x}$ que fueron de 18 h $151.2 \mu\text{g g}^{-1}$ para la ciprofloxacina liposomal y de 7 h y de casi cinco veces más para la de solo ciprofloxacina.

En la segunda imagen se observa un gráfico las concentraciones en pulmón acá se logra marcar más una diferencia entre las formulaciones, ya que en el tejido pulmonar ciprofloxacina liposomal tuvo mayores concentraciones propiamente en el órgano blanco que la solución de ciprofloxacina sola, además de mantenerse durante más horas lo que indica que los liposomas de ciprofloxacina después de alcanzar el pulmón podría penetrar y acumularse rápidamente en el mismo, a su vez alcanzó biodisponibilidad relativa en plasma del 72,42%, el liposoma de ciprofloxacina podría administrarse a un sitio objetivo específico y lograr una alta concentración local.

Figura 33. Valores de AUC en pulmón y

	$(AUC_{0-24h})_{lung}$ (mg/L · h)	$(AUC_{0-24h})_{plasma}$ (mg/L · h)	$AUC_{lung}/$ AUC_{plasma}
Liposome	6052.98	7.57	799.71
Solution	20.99	10.45	2.01
AUC_L/AUC_S	288.33	72.42%	—

Nota: Obtenido de Shi *et al* (2018)

Inclusive en los valores de área bajo la curva se obtuvieron mejores resultados con los liposomas cargados con ciprofloxacina en el nivel pulmonar, en plasma la de ciprofloxacina sola tiene un valor más alto, sin embargo la diferencia es mínima en comparación a la gran diferencia que existe en pulmón, lo que indica que eficacia de la focalización del fármaco, es decir, la eficacia para acceder al sitio de acción deseado, que se puede describir como la relación del valor de (AUC) pulmón / (AUC) plasma después de la ciprofloxacina en el pulmón en comparación con la del plasma, y cuanto mayor es la focalización del medicamento, en otras palabras, mayor será el grado de formulación que se dirige al pulmón.

Tabla 10. Resumen datos más relevante de ciprofloxacina vs ciprofloxacina liposomal

Grupos		Ciprofloxacina	Liposoma de ciprofloxacina
Vía de administración		Intratraqueal	Intratraqueal
Sujetos		Ratones machos	Ratones machos
Cantidad		5	5
Resultados	C _{máx} plasma	10.18±1.11 µg mL ⁻¹	1.43 ± 0.13 µg mL ⁻¹),
	C _{máx} pulmón	Aprox. 5 veces menos	151.2 µg g ⁻¹
	t _{1/2}	7 veces menos	18.7 h
	Aclaramiento	0.94 L/h/kg)	0.003 L/h/kg
	AUC pulmón	20.99 mg/L · h	6052.98 mg/L · h
	AUC plasma	10.45 mg/L · h	7.57 mg/L · h
	Biodisponibilidad relativa	No se conoce	72,42%

Nota: elaboración propia (2019)

En el año 2014 Norville et al, valoraron la respuesta de ratones contagiados administrando ciprofloxacina oral y CFI terapia con el mismo principio activo modificando, únicamente las formulaciones (una convencional y la otra en liposoma) permitieron constatar algunas diferencias in vivo e in vitro, a través de signos clínicos en los ratones; posterior a la exposición bacteriana los ratones que estaban siendo tratado con ciprofloxacina oral entre los días 4 al 9 presentan dos signos clínicos, lo que en contraste con los ratones no tratados coincidieron casi los mismo días (5 al 9) en la aparición de signos clínicos (todos), por lo que a pesar que no evita del todo la aparición de estos, si retardaba la aparición de algunos, impidiendo que progrese rápidamente.

La ciprofloxacina oral mostró inicios de una respuesta, partir del día 7 en donde redujo la disminución del peso corporal en un 20%, es decir, surgió efecto en solo una quinta parte de los ratones infectados que en su totalidad presentaban desde el día 5 una pérdida de peso evidente siendo más notoria en el pulmón, aunque posterior al día 7 se mantuvo un aumento del peso del pulmón y bazo de manera significativa por lo que el medicamento estaba empezando a ser eficaz.

La ciprofloxacina encapsulada en liposomas generó resultados sumamente eficaz, ya que desde el día 4 contribuyó con impedir la pérdida de peso que se estaba dando en los ratones infectados con *C. burnetii* siendo entre los días del 8 al 14 una disminución significativa en la pérdida de peso es decir, impida que los ratones bajaran de peso, el cual es un indicativo de progreso en la infección, además estos no presentaban los signos clínicos como los descritos en los ratones que sirvieron de control, los cuales empezaron tener signos a partir del día 5 y pérdida evidente de peso principalmente en pulmón, esta respuesta de mínimo cuatro dosis indica que la forma en que se administra el antibiótico surge efecto, lo que lleva a una reducción en el número de bacterias presente en el nivel pulmonar.

Tabla 11. Eficacia de CPI ante signos clínicos en ratones infectados con *C. burnetii*.

Días	Respuesta a CPI
0- 4	Brinda protección de la pérdida de peso corporal y no se muestran signos de la enfermedad y en aquellos pocos que presentan los disminuye.
5-8	Aumento significativo del peso del pulmón y de bazo en el cual hay una reducción en el número de bacterias.
9-14	Moderado aumento en el peso del pulmón así como una notable reducción en el número de bacterias en el mismo.

Nota: elaboración propia (2019)

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados de los estudios explicados en el capítulo anterior, permiten comprender de mejor manera que al modificar el medio de transporte de un fármaco, cambia su cinética e inclusive su farmacodinamia, ya que ahora dependerá de las características físico-químicas de la estructura o compuesto empleado para el transporte; con los objetivos planteados al inicio de esta investigación se llega a las siguientes conclusiones:

Gracias al avance de la tecnología y su combinación con la ciencia se permitió abrir una puerta hacia un ámbito de la investigación con nanotecnología, con aplicaciones en varias áreas que poseen una gran escala industrial como lo es en farmacia, donde poco a poco más investigadores han ido indagando y realizando estudios *in vivo* e *in vitro*, lo que permitió adentrarse en pruebas con animales sanos, enfermos e inclusive sujetos humanos.

Es importante recalcar que para que este sistema liposomal cargado con el antibiótico funcione la nanoencapsulación de compuestos bioactivos hidrófobos, como lo son: los liposomas son de gran aplicación como vehículos para el transporte, un método prometedor para mejorar su biodisponibilidad y estabilidad y también para aumentar su aplicación en el campo farmacéutico, el análisis como tal de dichas formulaciones se desarrolló enfocado en unidades de análisis específicas.

La primera de ellas referente a la composición y el tipo de liposomas que pueden ser obtenidos por diferentes métodos en el desarrollo de formulaciones antibióticas en liposomas, llevados a cabo mediante estudios *in vivo* demostró que la utilización del método conocido como Bangham permite obtener liposomas unilaminares de pequeñas dimensiones, sin embargo a su vez genera liposomas de tamaño y diámetro en menor proporción mediante el uso de un lípido natural y colesterol como componentes base.

A su vez el método de sonicación se caracteriza por ser sencillo, altamente reproducible y eficaz para obtener liposomas homogéneos si se emplean tiempos necesarios para una correcta formación de liposomas y temperatura que permitan sobrepasar la temperatura de transición requerida en el medio, lo que permite obtener liposomas pequeños unilaminares, homogéneos, pero con mayor cantidad de trazas lipídicas no incorporadas a las vesículas a partir de fosfatidilcolina de huevo, dietildodecilamonio y colesterol, también a través de este mismo método

con los mismos componentes a excepción del dietildodecilamonio permite obtener liposomas con las características similares a las mencionadas, solo que con menor capacidad de albergar cantidades mayores del ciprofloxacino.

Por su parte los liposomas sintetizados utilizando DMPC Y CH por el método de sulfato de amonio, forman una bicapa de liposoma con características de una membrana celular, que se obtienen vesículas multilaminares permitiéndoles cambiarse a unilaminares al pasar a través de un poco que reduzca el tamaño del mismo. En cuanto al método de carga activa se obtiene liposomas similares a las del método de sulfato de amonio, en donde a partir de fosfatidil-colina con soja hidrogenada y colesterol se obtienen liposomas multilaminares con una carga activa del medicamento, ya que este obtiene un ion del medio, lo que hace que se ionice impidiendo su salida del liposoma.

En general los métodos empleados en la fabricación de liposomas coinciden en que la mayoría utiliza el colesterol como componente base y un fosfolípido catiónico, a su vez se suele incorporar un lípido natural, sin utilizar más allá de tres lípidos en la composición, además la mayoría de liposomas se caracterizan por ser del tipo unilaminares (poco multilaminares) y los cuales permiten que se lleve a cabo la encapsulación del antibiótico dentro de ellos, obteniendo así producto liposomal cargado, efectivamente con el medicamento.

En cuanto a la segunda unidad de análisis, un regimen corto de tratamiento y dosis únicas en el estudio in vitro no provee resultados suficientes que reflejen una eficacia de ciprofloxacina liposomal ante una infección pulmonar por *F. tularensis*, ya que los sujetos expuestos no presentaron resultados durante el tiempo de estudio, en cambio si se utiliza por varios días aumenta el porcentaje de supervivencia, pudiendo inclusive proteger de forma completa, en contraste una sola dosis intranasal de ciprofloxacina liposomal administrada en forma de aerosol proporcionó una mejor eficacia ya que protege ante la forma más virulenta.

También se determinó que la eficacia de ciprofloxacina liposomal puede proveer de terapias útiles para la infección por *Y. pestis*, como posterior de administrarse, ya sean 24 o 42 horas después de la infección, pareciera ser un posible prometedor tratamiento de la plaga, ya que los liposomas al tratarse de una infección pulmonar permite entregar un potente antibiótico directamente al sitio de la infección primaria, proporcionado altas concentraciones del antibiótico en la proximidad de la infección y con mucho menor exposición sistémica.

La ciprofloxacina es una fluoroquinolona de espectro que muestra efectos bactericidas in vitro contra varios patógenos respiratorios, como *C. burnetii*, como tal el medicamento funciona aunque no sea el tratamiento de primera línea ante este tipo de infección pulmonar la cual inclusive si se detecta en sus inicios y se trata con el antibiótico tradicionalmente empleado resuelve en pocas semanas; por lo que la eficacia de este antibiótico pareciera reducir los signos clínicos vía oral pero presenta una eficacia superior al administrarse en forma de ciprofloxacina liposomal e inclusive presenta una mejor respuesta comparada al tratamiento tradicional empleado. Para las infecciones crónicas de las vías respiratorias, los tratamientos antimicrobianos inhalados ejercen una presión ambiental que produce cambios detectables en las susceptibilidades antimicrobianas.

Además la eficacia de liposomas cargados con ciprofloxacina contra *P. aeruginosa* fue medida a través de tres estudios, en el primero no permitió conocer la eficacia que proporciona, pero se puede decir que la bacteria es sensible a este tipo de antibiótico ya que se asoció con disminuciones constantes en las densidades medias de esputo, en los otros estudios esta formulación antibiótica liposomal posee cierta eficacia que reduce el riesgo de exacerbaciones pulmonares, a su vez se asoció con incrementos en la concentración de ciprofloxacina en la bacteria.

En general la formulación liposomal de ciprofloxacina aumenta la cantidad de días para que se de la aparición de algún tipo de exacerbación con al menos un poco más de cuatro meses; a su vez se demostró la eficacia en pacientes adultos con bronquiectasia contagiados por la bacteria siendo la formulación liposomal administrado de forma inhalada, una vez al día, esto presentó buen nivel de tolerancia. La eficacia de ciprofloxacina cargada en liposomas muestra resultados prometedores contra *P. aeruginosa*, *C. burnetii*, *Y. pestis* y en el caso de *F. tularensis* requiere de estudio con mayor administración de dosis y mayor tiempo de investigación para poder determinar, si la bacteria muestra susceptibilidad a este antibiótico y este es eficaz para erradicarla.

Como última unidad de análisis es la respuesta de ciprofloxacina liposomal respecto a la ciprofloxacina oral, los resultados parecen indicar que la forma liposomal provee de parámetros farmacocinéticos favorables para generar una mejor respuesta y de concentraciones en pulmón altas y duraderas, en contraste con la administrada en forma oral, esta diferencia también lleva a concluir que la forma en liposoma proporciona una biodisponibilidad sistémica mínima, ya que

su acción se enfoca en el sitio de infección central por lo que hay menor posibilidad de menos efectos secundarios.

Además, a través de otro estudio se permitió mostrar que la ciprofloxacina oral es eficaz pero le toma mayor tiempo presentar resultados favorables en comparación con la forma liposomal que se le atribuye una mejor respuesta en la reducción de síntomas y a mejorar el cuadro infeccioso.

Recomendaciones

La investigación de la eficacia del antibiótico encapsulado en liposomas en estudios con más bacterias sensibles podrían demostrar si esta forma innovadora puede ser un tratamiento eficaz y seguro, por lo que se insta a investigar más a esta forma liposomal de ciprofloxacina.

Dentro de las quinolonas existen diferencias en la su capacidad de actuar en las bacterias por ello una investigación que compare entre ellas permita conocer la eficacia, seguridad o toxicidad dentro de formulaciones liposomas de quinolonas con un buen espectro de acción podría generar resultados que permitan conocer mejor las diferencia y respuesta a este tipo de formulaciones.

Además se recomienda a la Universidad Internacional de las Américas, proveer la posibilidad llevar a cabo la fabricación de este tipo de sistemas en las formación práctica de los estudiantes de Farmacia ya que algunos de los métodos de fabricación son simples , eficaces y reproducibles por lo que podrían ser desarrollados por los estudiantes.

En cuanto a la carrera de farmacia se recomienda poder suministrar más información a cerca de las constantes aplicaciones de la nanotecnología al campo farmacéutica para despertar el interés de los estudiantes hacia la investigación respecto estos métodos.

Referencias

- Allen, T., y Cullis, P. (2013). Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications. Canada: ELSEVIER.
- Álvarez Hernández, D., Garza Mayén, G., y Vázquez López, R. (2015). Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. Chile: Revista Chilena Infectol.
- Alvo, A., Téllez, V., Sedano, C., y Fica, A. (2016). Conceptos básicos para el uso racional de antibióticos en otorrinolaringología. Chile: Revista Otorrinolaringología.
- Barenholz, Y. (2012). Doxil® — The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned. Canada: ELSEVIER.
- Belloso, W. (2002). Historia de los antibióticos. Argentina: Revista Hospital Italiano.
- Bermudez, Wu , y Young . (1987). Intracellular killing of Mycobacterium avium complex by rifapentine and liposoma encapsuled amikacin. San Francisco: Journal of infectious diseases.
- Betés de Toro, M. (2008). Introducción a la farmacología. Conceptos generales. En M. Betés de Toro, Farmacología para Fisioterapeutas (págs. 1 - 6). Madrid: Ed. Médica Panamericana.
- Bozzuto, G., y Molinari, A. (2015). Liposomes as nanomedical devices. Italia: International Journal of Nanomedicine.
- Bush, K., Courvalin, P., Dantas, G., Davies, J., Eisenstein, B., Huovinen, P., y Kishony, R. (2011). Tackling antibiotic resistance. U.S.A.: Macmillan Publishers.
- Cabildo, M., Claramunt, R., Escolástico, C., Jiménez, J., y Santa María, D. (2015). Fármacos y Medicamentos. Madrid: Editorial UNED.
- Campos Sepúlveda, A., Martínez Enríquez, M., y Mendoza Patiño, N. (2008). Quinolonas. Revista Facultad de Medicina UNAM, Medigraphic.
- Carrillo, J., Flores , F., y Rodríguez, A. (2018). Actualización en la prescripción de quinolonas. México: Medicina Interna México.

- Chono, S., Tanino, T., Seki, T. y Morimoto, K. (2018) Uptake characteristics of liposomes by rat alveolar macrophages: influence of particle size and surface mannose modification. *J. Pharm. Pharmacol.* 59: 75-80.
- Clares Naveros, B. (2003). *Sistemas de Transporte y Liberación de Fármacos de Aplicación Tópica: Liposomas multilaminares portadores de Acetonido de Triamcinolona*. España: Universidad de Granada.
- Cué, M., Morejón, M., y Salup, R. (2005). *Actividad de las quinolonas*. Cuba: *Revista Cubana Farmacéutica* .
- De la Fuente Salcido, N., Villarreal Prieto, J., Díaz León, M., y García Pérez, A. (2015). *Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana*. México: *Revista Mexicana de Ciencia Farmacéutica*.
- Dolores, y Begoña. (2011). *Nanosistemas lipídicos*. Madrid, España: Universidad de Santiago de Compostela.
- Duque, J., Valle, J., y Sánchez, A. (2017). *Microencapsulación de ciprofloxacino en microesferas de albúmina y liposomas (Albusomas)*. Salamanca, España: *FarmaJournal*.
- Fan, Y., y Zhang, Q. (2013). *Development of liposomal formulations: From concept to clinical investigations*. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing, China: ELSEVIER.
- Feduchi, E., Blasco, I., Romero, C., y Yáñez, E. (2014). *Bioquímica: Conceptos esenciales*. Madrid: Editorial Médica Panamericana
- Fathi, M., Mozafari, M.R., y Mohebbi, M. (2012). Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems. *Trends in Food Science y Technology*, 23, 13-27. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.003>
- Gennaro, A. (2003). *Remington: Farmacia, Volumen 1*. Uruguay: Ed. Médica Panamericana.
- Gómez, N. (2017). *Nanopartículas estímulo-respuesta para la liberación de fármacos* . Madrid.
- Hernández , R., Fernández, C., y Baptista, M. (2014). *Metodología de la investigación (6 ed.)*. México D.F: Mc Graw Hill.

- Gómez, M., Calvo, A., y Prieto, J. (2015). Quimioterapia antiinfecciosa y antitumoral. Editorial Panamericana.
- Hernández, G., Moreno, A., Porras, A., y Zaragozá, F. (2010). Tratado de Medicina Farmaceutica. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Hoyos Serrano, M., y Rosales Calle, V. (2014). Lípidos: Características principales y su metabolismo. Revista de Actualización Clínica.
- Irache, J. (2008). Nanomedicina: nanopartículas con aplicaciones médicas. Pamplona: Scielo.
- Jawetz, Melnick , y Adelberg . (2011). Microbiología médica. San Francisco: Mc GRAW-HILL Interamericana.
- Koolman, J., y Röhm, K. (2005). Bioquímica: texto y atlas. Madrid: Ed. Médica Panamericana.
- Lafuente Gómez, N. (2017). Nanopartículas estímulo-respuesta para la liberación de fármacos. España: Universidad Complutense .
- Liu, C., Shi, J., Dai, Q., Yin, X., Zhang, X., y Zheng, A. (2013). In-vitro and in-vivo evaluation of ciprofloxacin liposomes for pulmonary administration. China: Informa Healthcare.
- Lorenzo, P., Moreno, A., Lisazoain, I., Leza, J., Moro, M., y Portolés, A. (2015). Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. Buenos Aires: Madrid: Ed. Médica Panamericana.
- Maguiña Vargas, C., y Solari Zerpa, L. (2002). Nuevas y viejas quinolonas. Perú: Revista Médica Herediana.
- Maherani, B., Arab, E., Mozafari, M., Gaiani, C., y Linder, M. (2011). Liposomes: A Review of Manufacturing Techniques and Targeting Strategies . Australia: Bentham Science Publishers Ltd.
- Martínez Bedoya, D. (2012). Visualización de liposomas por resonancia magnética: una oportunidad para mejorar las terapias liposomales antitumorales. Cuba: Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas.
- Moreno, P., Ramírez, N., Karam, M., y Castillo, Y. (2017). Comparación de la efectividad de antibióticos genéricos de penicilina G benzatinica in vitro contra dos cepas de *Staphylococcus aureus*. México: Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas.

- Navarro, G., Cabral, P., Malanga, A., y Savio, E. (2008). Diseño de liposomas para el transporte de diclofenac sódico. Uruguay: Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., y Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806-1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.265>
- Norville , I., Hatch , G., Bewley , K., Atkinson , D., Hamblin , K., Blanchard , J., . . . Atkins , T. (2014). Title Efficacy of liposome encapsulated ci 1 profloxacin in a murine model of Q fever. Reino Unido: American Society for Microbiology.
- Osterhoudt, K., y Penning, T. (2015). Toxicidad e intoxicación por fármacos. En Goodman, & Gillman, Las bases farmacológicas de la terapéutica (pág. 73). Mc Graw Hill.
- Pagès, J., James, C., y Winterhalter, M. (2008). The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. Alemania: Macmillan Publishers Limited. doi:10.1038/nrmicro1994
- Pérez, y Mota. (2010). Bacteriología y Virología Médica.
- Petri, W. (2012). Sulfonamidas, trimetoprim-sulfametoxazol, quinolonas y fármacos para las infecciones de vías urinarias. En Goodman, y Gilman, Las bases farmacológicas de la terapéutica (págs. 1473-1474). McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Puglia, C., Trombetta, D., Venuti, V., Saija, A., y Bonina, F. (2004). Evaluation of in-vivo topical anti-inflammatory activity of indometacin from liposomal vesicles. Italia: *Journal of pharmacy and pharmacology*.
- (2007). Procedimiento de preparación de liposomas. Organización Mundial de la Propiedad Intelectual. Oficina internacional.
- Quiros, M., Fernández, D., Barrios, B., Milián, P., Cisneros, Y., y Noa, L. (2015). Las oxazolidinonas como alternativa en el tratamiento del. Cuba: Universidad Ciencias Médicas Cienfuegos.

- Rezaei, A., Fathi, M., y Mahdi, S. (2018). Nanoencapsulation of hydrophobic and low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers. Iran: ELSEVIER. doi:10.1016/j.foodhyd.2018.10.003México.
- Roblero Bartolón , G., y Ramón Gal, E. (2015). Uso de nanopartículas (NP) en la terapia fotodinámica (photodynamic therapy [PDT]) contra el cáncer. México: Gaceta Médica de Ramírez Ortiz, M. (2015). Tendencias de innovación en la ingeniería de alimentos. OmniaScience. doi:http://dx.doi.org/10.3926/oms.295
- Romero Cabello, R. (2007). Microbiología y parasitología humana: Bases etiologicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. México: Editorial Médica Panamericana.
- Rothlin, R. (1999). Quinolonas. Revision Historica. Buenos Aires: Universidad de Buenos Aires.
- Ruano Aldea, M. (2013). Fabricación de liposomas y de cápsulas poliméricas. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Sager, M., Benten, P., Engelhardt, E., Gougoula, C., y Benga, L. (2015). Characterization of Biofilm Formation in [Pasteurella] pneumotropica and [Actinobacillus] muris Isolates of Mouse origin. Alemania: PLOS ONE. doi:10.1371/journal.pone.0138778
- Sánchez Carpintero, M., y Sánchez Navarro, A. (2016). Caracterización y separación de liposomas por microencapsulación. Salamanca: FarmaJournal, vol. 1, núm. 1.
- Sandoval Peraza, V., Cu Cañetas, T., Peraza Mercado, G., y Acereto Escoffié, P. (2016). Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas nutraceuticas. En Ramírez Ortiz, Alimentos funcionales de hoy (págs. 181 - 218). Barcelona, España: OmniaScience.
- Shen, J., y Burgess, D. (2013). In vitro dissolution testing strategies for nanoparticulate drug delivery systems: recent developments and challenges. Estados Unidos: Springer.
- Toh, M., y Chiu, G. (2013). Liposomes as sterile preparations and limitations of sterilisation techniques in liposomal manufacturing. Singapur: ScienceDirect.
- Torelló, M., Viscasillas, A., y Pozo, A. (2002). Liposomas. Conceptos generales y relación con las estructuras cutáneas. Barcelona: Universidad de Barcelona.

- Torres Suárez, A. (2016). La nanotecnología aplicada al desarrollo de medicamentos. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid.
- Tortoratore, G., Funke, B., y Case, C. (2007). Introducción a la microbiología. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
- Troncoso, C., Pavez, M., Santos, A., Salazar, R., y Barrientos, L. (2017). Implicancias Estructurales y Fisiológicas de la Célula Bacteriana en los Mecanismos de Resistencia Antibiótica. Chile: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Temuco.
- Túnez, I., Galván, A., y Fernández, E. (2005). pH y amortiguadores: Tampones fisiológicos. Córdoba: Campus Universitario de Rabanales.
- Vázquez Gonzalez, M. (2015). Desarrollo y caracterización de liposomas para aplicación tópica de fármacos. Barcelona: Universitat de Barcelona.
- Villafuerte Robles, L. (2012). Nanotecnología Farmacéutica. México : Instituto Politécnico Nacional de México.
- Voet, D., Voet, J., y Pratt, C. (2009). Fundamentos De Bioquímica. La vida a nivel molecular. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana.
- Zgadaj, A., Giebułtowicz, J., Podbielska, M., y Gubernator, J. (2018). Impact of liposomal encapsulation on the phototoxicity, photogenotoxicity and photodegradation of ciprofloxacin in the range of ocular applied concentrations. Polonia: ELSEVIER.