

ESTUDIO A NANOESCALA DE LAS INTERACCIONES ENTRE LIPOSOMAS RECUBIERTOS CON BIOPOLÍMEROS Y SUPERFICIES SÓLIDAS DE BIOMATERIALES

G. Ramos¹, S. Ramírez-Amador², M. Esquivel¹, A. Loría³, J. Vega-Baudrit^{1,2},
M. Sibaja¹, S. Madrigal-Carballo^{1*}

¹ Laboratorio de Polímeros (POLIUNA), Universidad Nacional, 86-3000 Heredia, Costa Rica.

Correo electrónico: smadriga@una.ac.cr

² Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC), Centro Nacional de Alta Tecnología, CENAT, Costa Rica.

³ Instituto de Investigaciones Farmacéuticas (INIFAR), Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica.

ABSTRACT

The study is based on finding an explanation for the opposite behavior observed at the interface between hard and soft materials, specifically on biological systems, like liposomes, when they interact with inorganic surfaces of biomaterials, such as silica, aluminum, mica, ceramics and titanium. The purpose is to analyze the relationships between surface ionic equilibria, attractive forces between liposome-surface/degree of deformation and changes in the surface properties of adsorbed liposome nanoparticles, via surface modification of liposomes with biopolymers, such as chitosan. Progress was made in the understanding of the dynamics of the interfaces of different consistency, using lipid vesicles as a model and found that biopolymer coating of lipid vesicles with chitosan, provides a better physical stability and an increase on interface biomimetics between nanoparticle-inorganic biomaterial. These results constitute the first step to understanding actual interactions between biological microparticles that usually circulate in the blood and the surfaces of implants or biomaterials, which are associated with subsequent rejection reactions originated by immunological processes generated by interface incompatibilities.

Keywords: Liposomes, chitosan, inorganic biomaterials, interfacial phenomena

RESUMEN

El estudio se fundamenta en la búsqueda de una explicación a los comportamientos opuestos observados en la interfase entre materiales duros y blandos, más específicamente en sistemas biológicos, como los liposomas, cuando interactúan con superficies inorgánicas de biomateriales, tales como sílice, aluminio, mica, cerámica y titanio. El propósito es examinar las relaciones entre los equilibrios iónicos de superficie, las fuerzas de atracción liposomas-superficie/grado de deformación y las alteraciones en las propiedades de la superficie de las nanopartículas liposomales adsorbidos, mediante la modificación superficial con biopolímeros, en este caso quitosano. Se avanzó en el entendimiento de las dinámicas de las interfaces de distinta consistencia, usando las vesículas lipídicas como modelo, comprobándose que mediante el recubrimiento de las vesículas lipídicas con un biopolímero como el quitosano, se logra una mejor estabilidad física y un incremento en la biomimetización de la interfase nanopartícula-biomaterial inorgánico. Estos resultados constituyen el primer paso para el entendimiento de las interacciones reales presentes entre macropartículas biológicas que circulan habitualmente en la sangre con superficies de implantes o biomateriales, que están asociados a los posteriores fenómenos de rechazo de estos biomateriales producto de procesos inmunológicos generados por incompatibilidades de interfase.

Palabras clave: Liposomas, quitosano, biomateriales inorgánicos, fenómenos interfaciales.

1. INTRODUCCION

Las vesículas liposomales se pueden describir como nanopartículas sencillas en las que una membrana formada por moléculas lipídicas, mayoritariamente fosfolípidos, encierran un compartimiento acuoso interno [1]. Los liposomas se forman espontáneamente, cuando los fosfolípidos que forman la membrana se dispersan en un medio acuoso, dando lugar a una

suspensión de vesículas con diámetros que pueden oscilar entre decenas de nanómetros y algunas micras [2].

Al estudiar las interacciones entre vesículas y superficies inorgánicas (Figura 1), se puede establecer que los liposomas pueden adsorberse y romperse en la superficie inorgánica, formando una monocapa. A medida que se van adsorbiendo más liposomas en la superficie, las monocapas tienden a coalescer para formar una bicapa confluyente. Otro posible mecanismo de interacción sugiere que las vesículas pueden permanecer intactas a la hora que son adsorbidas en la superficie, permaneciendo estables por largos periodos de tiempo. Finalmente, las vesículas adsorbidas en las superficies pueden experimentar una transición a bicapas continuas por encima de alguna concentración crítica.

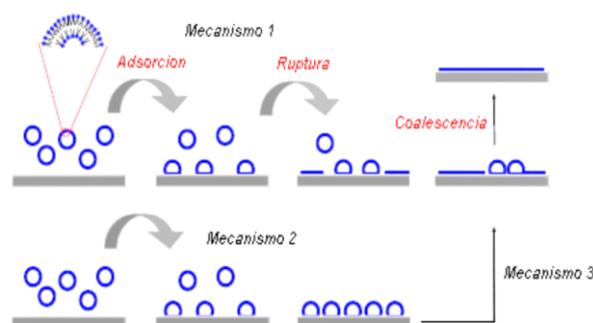


Figura 1. Mecanismos representativos de las interacciones entre vesículas lipídicas y superficies inorgánicas.

La importancia de las interacciones entre sistemas biológicos y materiales no biológicos destaca por la acrecentada necesidad de nuestro sistema de salud de utilizar dispositivos prostéticos e implantes para aumentar la esperanza de vida y para restaurar funcionalidades fisiológicas. Sin embargo, las interacciones entre sistemas biológicos y materiales no biológicos permanecen enigmáticas, incluso en el caso de sistemas relativamente simples y controlados como los liposomas que se utilizan rutinariamente en la investigación de las propiedades y comportamiento de las membranas celulares.

El concepto de que el reconocimiento y adhesión celular es mediado por interacciones entre lecitinas de la superficie celular y sus receptores apropiados, fue propuesto primeramente por *Frazier y Glaser* en 1979 [3]; a la vez que se respaldó el mecanismo de intermediación con alta especificidad de las lecitinas en las interacciones liposoma-superficie celular. De la misma forma, los glicolípidos pueden actuar como ligandos carbohidratados para las lecitinas. Diferentes estudios han demostrado que la adición de agentes aglomerantes glicolipídicos a sistemas unilamelares de vesículas pequeñas da como resultado la fusión de estas pequeñas vesículas para formar vesículas

mayores (dimeros y trimeros). De igual forma, glicolípidos sintéticos conformados por ligandos de carbohidratos enlazados covalentemente al núcleo de colesterol mediante grupos espaciadores, se distribuyen fácilmente entre las bicapas de las vesículas pequeñas manteniéndolas aglomeradas por medio de las lecitinas. El grado de aglutinación vesicular debida a diferentes lecitinas, será dependiente de la concentración del carbohidrato específico incorporado a la membrana liposomal. El interés en estudiar las interacciones entre liposomas y diferentes tipos de polisacáridos se ha desarrollado principalmente después de que *Hughes* y colaboradores identificaron la presencia de polisacáridos en la superficie celular en el año 1975 [4]. Posteriores estudios [5-7] se enfocaron en identificar los procesos de agregación inducidos por los polisacáridos sobre liposomas de lecitina de huevo, utilizando pulúlanos, dextranos, hidroxietil-almidones y amilopectinas. Los fenómenos de agregación fueron estudiados en función de la temperatura, fuerza iónica y cambios superficiales en los liposomas.

Diversos trabajos han demostrado la capacidad del quitosano de enlazarse agresivamente a una gran variedad de células mamarias y microbianas [8]. El quitosano cumple con la premisa de ser biocompatible y biodegradable, lo que lo convierte en un buen candidato para la producción de vesículas liposomales estables y bioadhesivas, como se demostrara en trabajos previos [9, 10].

En el presente trabajo se pretende realizar un estudio a nanoescala de las interacciones entre un sistema modelo como los liposomas, con y sin recubrimiento biopolimérico, y las superficies sólidas de biomateriales inorgánicos. Un análisis similar de las interacciones entre sistemas biológicos “nativos” (micropartículas y plaquetas) y superficies inorgánicas serviría como herramienta para el entendimiento de los fenómenos de biocompatibilidad en biomateriales.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Materiales. Todos los reactivos fueron de grado analítico o superior. La lecitina de soja (99% pureza) fue suministrada por GUINAMA S.L (*Valencia, España*). El quitosano (GD 92%, MW $1,63 \times 10^5$ g/mol) fue suministrado por POLIUNA (*Heredia, Costa Rica*). El cloruro de sodio y el ácido acético glacial y las superficies inorgánicas de mica, sílice, aluminio, cerámica y titanio fueron adquiridos en *Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)*.

2.2. Preparación de las nanovesículas liposomales. Los liposomas fueron preparados a partir de dispersiones concentradas de lecitina de soja (250 g/L), por el método de hinchamiento lento bajo cizalla [11] en un medio acuoso de NaCl 10^{-5} mol/L y las mismas fueron diluidas utilizando el mismo disolvente acuoso en un intervalo de concentraciones entre 0,10 – 0,50% m/v.

2.3. Preparación de liposomas estabilizados con quitosano. Las soluciones de quitosano (0,010 – 0,250 % m/v) fueron preparadas en ácido acético 0,5% v/v y su pH se ajustó a 5,5 con una solución de NaOH 6,0 mol/L. Finalmente los liposomas recubiertos fueron preparados mediante la adición lenta bajo vigorosa agitación de las diferentes suspensiones diluidas de liposomas en las cada una de las soluciones de quitosano, manteniendo una relación volumétrica equivalente [10].

2.4. Caracterización física de los liposomas recubiertos. La caracterización de la interface liposoma-superficie inorgánica se realizó mediante la determinación del ángulo de contacto (goniometría) y visualización (AFM) del rompimiento de las nanovesículas sobre las diferentes superficies inorgánicas (mica, aluminio, titanio, cerámica, sílica), aplicando diferentes etapas de lavado sobre las superficies con nanovesículas depositadas.

2.4.1. Goniometría. Sobre una lámina de mica nivelada, se deposita una gota de los liposomas, cargados y sin cargar, el equipo por medio de la cámara incorporada con que cuenta determina el ángulo de contacto entre la superficie inorgánica y la gota de muestra, esta determinación la realiza diez veces.

2.4.2. Microscopia de fuerza atómica (AFM). Los liposomas vacíos y recubiertos con quitosano se visualizan por microscopia de fuerza atómica, en el modo de contacto. Las muestras disueltas solución salina se colocan en superficies de mica recién esterilizada que se deja secar por unos minutos a temperatura ambiente, siguiendo la metodología empleada por *Madrigal-Carballo et al.* [10]. Se realizan pruebas de rompimiento de vesículas mediante lavados de superficies con vesículas depositadas.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Obtención de nanovesículas liposomales a partir de dispersiones concentradas de lecitina de soja. Las vesículas lipídicas tienen un amplio y creciente número de aplicaciones en los campos biológico, médico, farmacéutico y químico [12, 13]. La utilización de fosfolípidos procedentes de fuentes naturales facilita aplicaciones a escala industrial, por lo que los costes económicos son menores que con la utilización de fosfolípidos sintéticos [14]. Como regla general, la fabricación de vesículas lipídicas en agua a gran escala industrial (figura 2), supone el procesamiento de dispersiones concentradas de lecitina (250 g/L), que mediante una ligera sonicación, produce una vez diluida a concentraciones cercanas a los 3 g/L, vesículas multilamelares de un tamaño medio entre 0,5 a 2,0 μm con un elevado número de bicapas lipídicas. Para incrementar el volumen de encapsulación de estas vesículas, se suele aplicar el método de congelación-descongelación tras la sonicación, obteniéndose vesículas gigantes de diferentes

tamaños y formas. Además, una nueva sonicación o la agitación fuerte de estas estructuras, proporciona vesículas segregadas con un reducido número de bicapas.

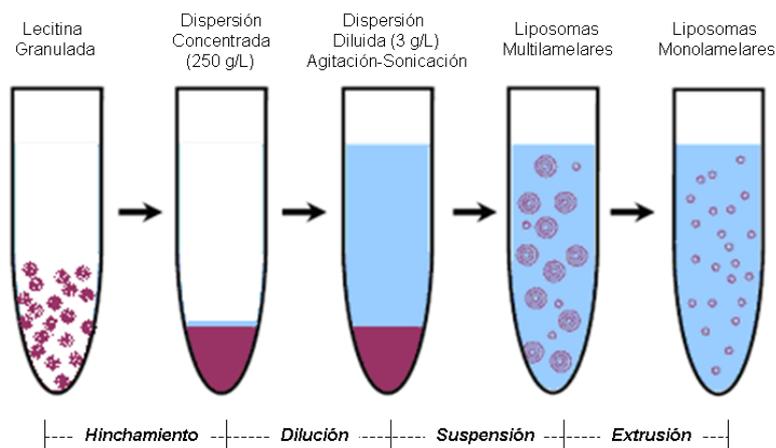


Figura 2. Etapas de la preparación industrial de nanovesículas liposomales a partir de dispersiones concentradas de fosfolípidos.

En la Figura 3 se muestran imágenes obtenidas por microscopía de fuerza atómica que muestran el cambio estructural experimentados por los fosfolípidos después de completado el proceso de segregación de las nanovesículas.

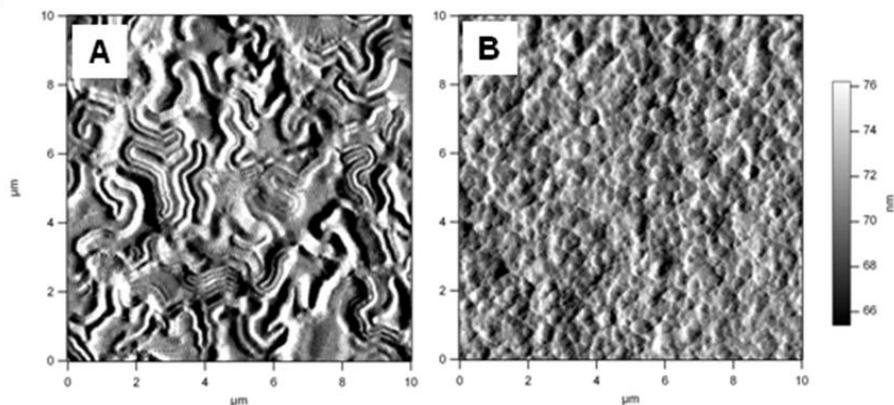


Figura 3. Micrografías de fuerza atómica (AFM) que muestran la segregación de nanovesículas liposomales a partir de dispersiones concentradas de lecitina de soja. A) Dispersión concentrada mostrando un ordenamiento de hoja plana. B) Dispersión diluida de nanovesículas segregadas mostrando un ordenamiento de estructuras cerradas.

Desde el punto de vista teórico, esta fenomenología puede explicarse en función de la variación energética del sistema. De esta forma y considerando las altas concentraciones requeridas para obtener las dispersiones concentradas de lecitina, debe partirse necesariamente de la fase macroscópica lamelar (“gel-like”) denominada también con frecuencia “planar sheets”, de los fosfolípidos empleados, es decir, de un balance energético (δ) igual a $10/3$, según se muestra en la

Figura 4, de acuerdo con los resultados previamente obtenidos por el grupo de investigación de la Unidad de Coloides de la *Universidad de Valencia* [11, 15].

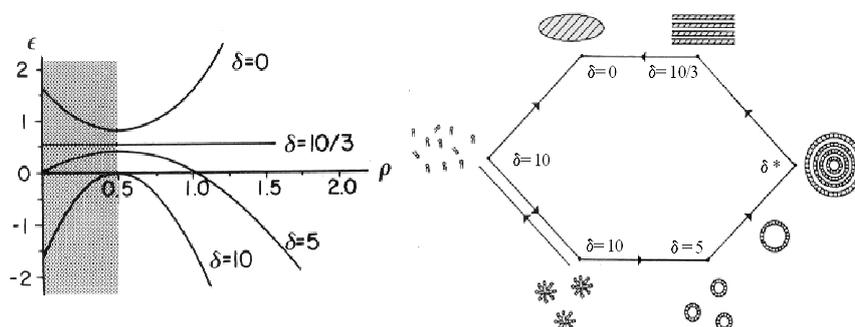


Figura 4. Relación de dependencia entre la barrera energética y el radio equivalente a diferentes líneas individuales de balance isoenergético.

La aplicación efectiva del modelo de balance energético permite optimizar los parámetros de formulación para obtener nanovesículas liposomales estables, que sean segregadas efectivamente a partir de dispersiones concentradas de lecitina de soja u otras fuentes de fosfolípidos. En la Figura 5 se comprueba la morfología esférica y la segregación efectiva de las nanovesículas liposomales obtenidas a partir de los sistemas concentrados de lecitina de soja.

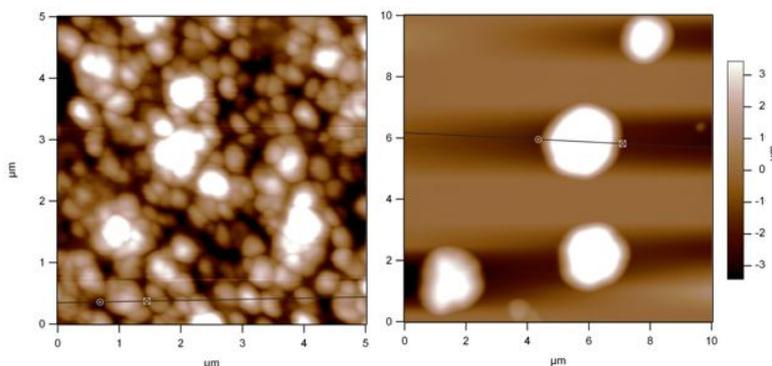


Figura 5. Visualización por AFM de las nanovesículas liposomales segregadas a partir de dispersiones concentradas de lecitina de soja.

Una de las principales fallas del sistema liposomal es su estabilidad con el tiempo, misma que se encuentra relacionada que la fase en $\delta = 10/3$ constituye un punto de silla en la energía y es muy inestable frente a cualquier perturbación (mecánica y térmica) lo cual crea un problema para el desarrollo del producto. Actualmente, la solución desde el punto de vista científico más razonable es intentar estabilizar estéricamente esta fase macroscópica lamelar mediante polímeros o mejor aún mediante polímeros naturales biocompatibles, como el caso del quitosano.

3.2. Estabilización de nanovesículas liposomales mediante la adsorción superficial de quitosano mediante la técnica de deposición electrostática. La aplicación de los liposomas como sistemas para liberación de sustancias activas se encuentra limitada debido a su rápida absorción por

parte de las células del sistema reticular endotelial [16]. Los liposomas recubiertos con grupos hidrófilos (liposomas *Stealth*® o liposomas estabilizados estéricamente) presentan un incremento en la separación centro-centro, así como en las fuerzas repulsivas, entre los posibles grupos reactivos implicados desde el núcleo central [17, 18]. La repulsión estérica puede imaginarse sencillamente como una tintura e impermeabilización de las partículas provenientes del exterior por parte de un medio inerte y no-interactivo, que repercute en una considerable disminución de la adhesión y la adsorción (Figura 6).

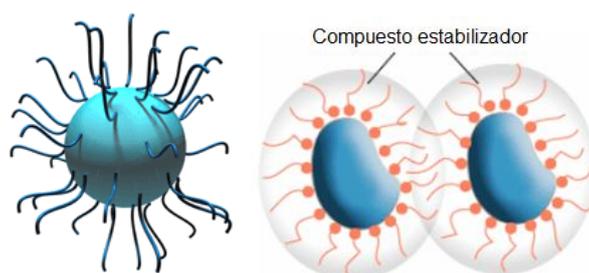


Figura 6. Representación de un sistema liposomal estabilizado estéricamente por polietilenglicol (*Stealth*®) y de su mecanismo de estabilización.

A nivel molecular, la repulsión estérica puede definirse como la suma de interacciones en el núcleo, fuerzas repulsivas de hidratación adicionales debidas a la presencia de grupos hidrófilos, fuerzas osmóticas y constantes asociadas a interacciones poliméricas y entrópicas. Sin embargo, recientemente se ha puesto en entredicho la inocuidad del polietilenglicol, que es el biomaterial más comúnmente utilizado para preparara este tipo de sistemas.

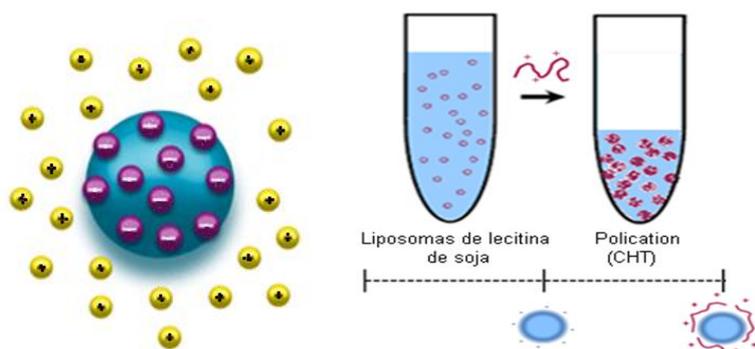


Figura 7. Representación de un sistema liposomal estabilizado por deposición electrostática y la metodología empleada para preparar los sistemas estabilizados con quitosano.

En sistemas nanométricos para la dosificación de sustancias activas, la pared del sistema juega un papel muy importante en el control de su permeabilidad entre el interior y el exterior del sistema. Debido a esto, el diseño y la síntesis de la pared del sistema contituyen las acciones más

importantes con el objetivo de determinar las características y funciones del sistema, pues determinan sus propiedades de liberación controlada o localizada, estabilidad en dispersión, durabilidad, biodegradabilidad y biocompatibilidad, entre otras [19].

De acuerdo con la naturaleza negativa de los liposomas de lecitina de soja, atribuida a los grupos fosfato de la fosfatidilcolina, se propone una adsorción del biopolímero quitosano cargado positivamente en las regiones negativas de la superficie de los liposomas, debido a interacciones electrostáticas (Figura 7). Los liposomas son blandos y flexibles, por lo que se supone que las fuertes interacciones entre su superficie negativa y los biopolímeros positivos, favorece la formación de dominios y la disrupción de la pared de los liposomas [20, 21].

En trabajos anteriores se han expuesto los fenómenos físicos y químicos más importantes para la obtención de sistemas liposomales estabilizados por biopolímero quitosano que cumplan con los requerimientos de tamaño, propiedades de encapsulación y estabilidad adecuados para ser utilizados como biomateriales [10, 22]. En la Figura 8 se muestran imágenes de microscopía electrónica de transmisión que permiten visualizar la morfología del sistema liposomal sin recubrimiento y posterior a la adsorción superficial del quitosano.

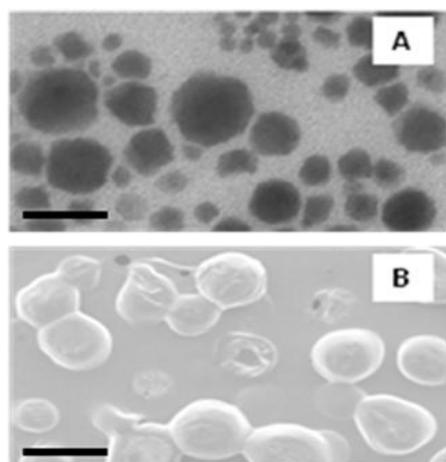


Figura 8. Visualización por microscopía electrónica de transmisión (TEM) de nanovesículas liposomales recubiertas con biopolímero quitosano. A) Nanovesículas sin recubrimiento, B) Nanovesículas recubiertas con quitosano 0,10% m/v. La barra de escala representa 500 nm.

3.3. Interacción de las nanovesículas con superficies inorgánicas de biomateriales.

3.3.1. Caracterización mediante análisis por goniometría. Las nanovesículas lipídicas o liposomas han sido ampliamente utilizadas en estudios biofísicos como modelos de membrana celular desde su descubrimiento en la década de los sesenta [23, 24]. Los recientes avances en el

campo de la química de polímeros ha permitido el desarrollo de una amplia variedad de estructuras micelares conformadas por vesículas fundamentadas en matrices poliméricas, que han demostrado poseer mayor estabilidad y propiedades de encapsulación [25-29]. La importancia de las interacciones entre sistemas biológicos y materiales no biológicos destaca por la acrecentada necesidad de nuestro sistema de salud de utilizar dispositivos prostéticos e implantes para aumentar la esperanza de vida y para restaurar funcionalidades fisiológicas tras una lesión. Sin embargo, las interacciones entre sistemas biológicos y materiales no biológicos permanecen enigmáticas, incluso en el caso de sistemas relativamente simples y controlados como los liposomas: bicapas lipídicas que rodean un compartimento acuoso y que se utilizan rutinariamente en la investigación de las propiedades y comportamiento de las membranas celulares, así como en aplicaciones para el suministro de fármacos.

En la Figura 9 se presentan las imágenes adquiridas por goniometría, que representan el comportamiento de una gota de suspensión de liposomas con y sin recubrimiento polimérico, al ponerse en contacto con superficies inorgánicas de biomateriales como mica, titanio, cerámica, aluminio y sílice.

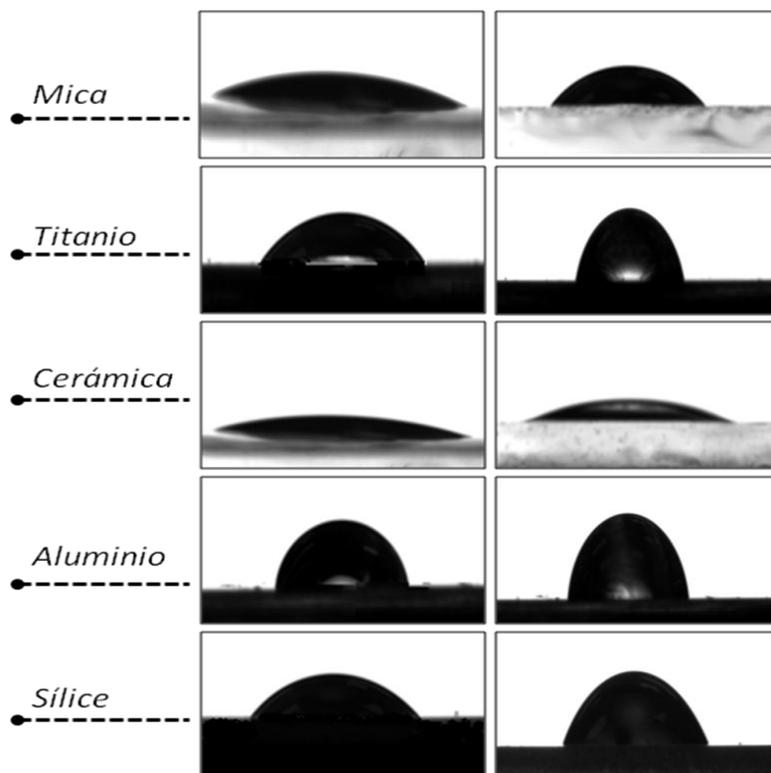


Figura 9. Fotografías de los análisis por goniometría de dispersiones de liposomas, sin recubrimiento (izquierda) y con recubrimiento (derecha) polimérico, colocadas sobre superficies inorgánicas de biomateriales.

Las imágenes de goniometría muestran mayores fuerzas de repulsión por parte de ambos sistemas liposomales cuando interactúan con superficies sólidas de biomateriales metálicos, mientras que los fenómenos de adhesión son apreciables al interactuar con superficies inorgánicas neutras como la mica y la cerámica. Los valores respectivos de ángulo de contacto determinados a partir de estos análisis por goniometría se resumen en la Tabla I.

Tabla 1. Ángulos de contacto liposoma-biomaterial inorgánico determinados a partir de los análisis de goniometría.

<i>Superficie inorgánica</i>	<i>Angulo de contacto (°)</i>	
	<i>Sin Recubrimiento</i>	<i>Con Recubrimiento</i>
Mica	34,27	42,34
Titanio	75,62	84,62
Cerámica	22,38	29,51
Aluminio	83,13	87,16
Sílice	44,65	73,85

De acuerdo a estos resultados obtenidos, es evidente que los sistemas recubiertos con biopolímero experimentan un incremento en la tensión superficial, evidenciado por el incremento en su ángulo de contacto con la respectiva superficie inorgánica. Si consideramos que al aumentar el ángulo de contacto, para un sistema específico, se reducen también las fuerzas de adhesión con la superficie inorgánica, las fuerzas de estabilización que mantienen la estructura cerrada de las nanovesículas liposomales serán más eficaces en los sistemas con mayor ángulo de contacto, con lo cual los fenómenos de ruptura o formación de bicapas planas en una superficie inorgánica se verán disminuidos en biomateriales con naturaleza iónica de tipo metálico.

3.3.2. Caracterización morfológica mediante microscopia de fuerza atómica (AFM).

Como se explicaba en el punto anterior, cuando los liposomas interactúan con superficies inorgánicas exhiben una amplia gama de comportamientos que van desde la simple adsorción y deformación causada por dicha interacción, hasta su descomposición y la formación de bicapas superficiales. En las Figuras 10 a 15 se muestran imágenes de microscopia de fuerza atómica adquiridas en diferentes superficies inorgánicas de biomateriales, referentes al comportamiento experimentado por nanovesículas liposomales con recubrimiento polimérico al interactuar con la superficie sólida del biomaterial.

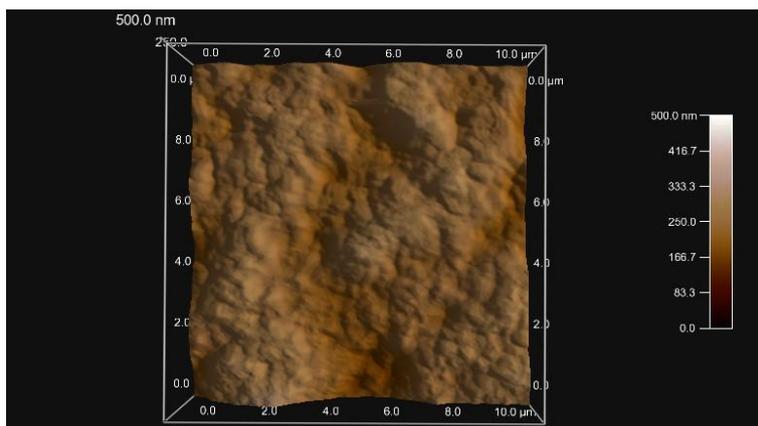


Figura 10. Micrografía de fuerza atómica de liposomas recubiertos con quitosano soportadas sobre una superficie de mica.

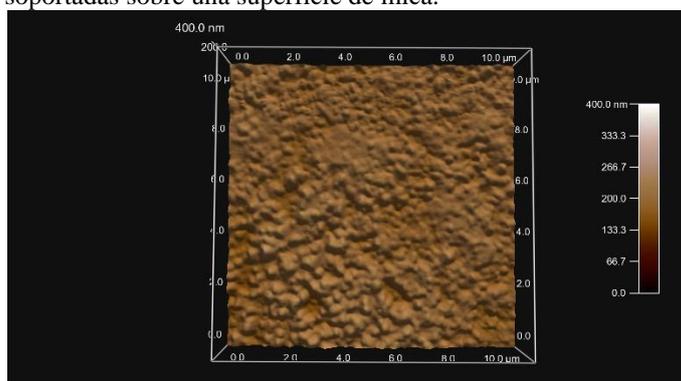


Figura 11. Micrografía de fuerza atómica de liposomas recubiertos con quitosano soportadas sobre una superficie de titanio.

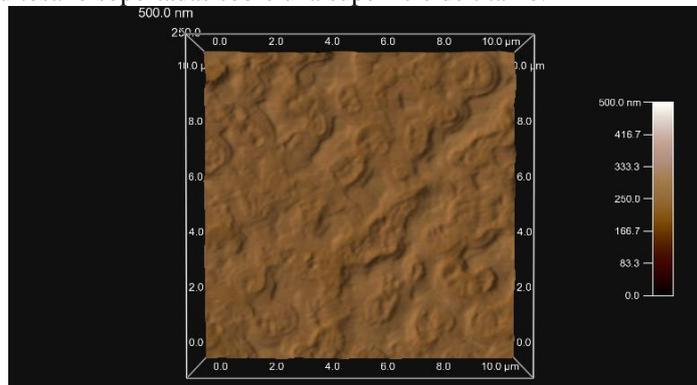


Figura 12. Micrografía de fuerza atómica de liposomas recubiertos con quitosano soportadas sobre una superficie de cerámica.

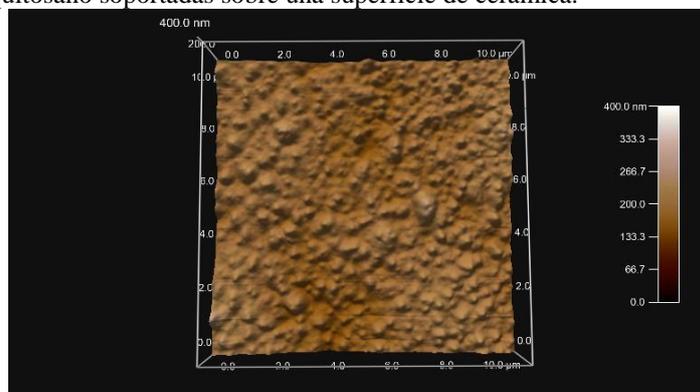


Figura 13. Micrografía de fuerza atómica de liposomas recubiertos con quitosano soportadas sobre una superficie de aluminio.

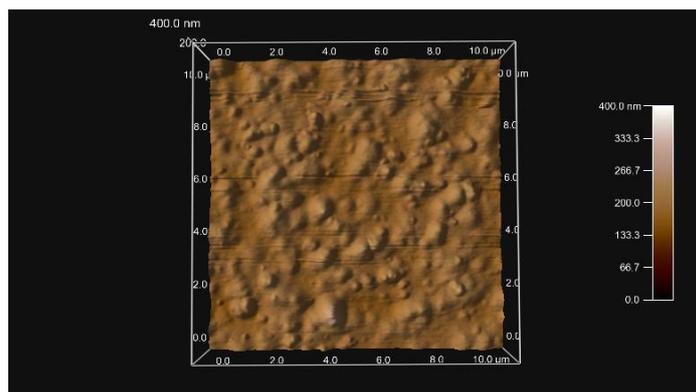


Figura 14. Micrografía de fuerza atómica de liposomas recubiertos con quitosano soportadas sobre una superficie de sílice.

La visualización de las interacciones entre nanovesículas liposomales estabilizadas por quitosano con superficies inorgánicas de biomateriales mediante imágenes de AFM concuerda con los resultados de tensión superficial obtenidos por la técnica de goniometría, en ellas es evidente como los sistemas liposomales sufren fenómenos de ruptura y adsorción al interactuar con superficies inorgánicas neutras como la mica o la cerámica (Figuras 10 y 12), donde es sumamente distinguir estructuras cerradas de nanovesículas liposomales, inclusive, en el caso de la superficie de cerámica que mostrara los menores valores de ángulo de contacto, es posible apreciar secciones que presentan ordenamientos completamente extendidos de bicapa plana. Por otra parte, los sistemas compuestos por superficies inorgánicas de naturaleza metálica, con elevado grado de densidad electrónica, se observan micrografías con estructuras cerradas visibles y distribuidas homogéneamente a lo largo de toda la superficie analizada, lo cual es más evidente para las superficies que presentaran valores mayores para su ángulo de contacto, como es el caso del titanio y el aluminio (Figuras 11 y 13).

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos contribuyen a reforzar el efecto estabilizador de los biopolímeros, en este caso el quitosano, sobre sistemas liposomales estabilizados por deposición electrostática. Los sistemas liposomales estabilizados con quitosano presentaron mayor estabilizada estructural al interactuar con superficies inorgánicas de metales, como el titanio o el aluminio, comúnmente utilizados para la fabricación de prótesis metálicas como implantes biomédicos.

Cuando interactúan con superficies inorgánicas, los liposomas exhiben una amplia gama de comportamientos que van desde la simple adsorción y deformación causada por dicha interacción, hasta su descomposición y la formación de bicapas superficiales.

La visualización de la interfase de los sistemas mediante microscopia de fuerza atómica, permitió comprobar la permanencia de estructuras cerradas de nanovesículas liposomales recubiertas con biopolímero en los sistemas liposoma-superficie metálica, mientras que en los sistemas liposoma-superficie inorgánica neutra, predominaron los fenómenos de ruptura y adsorción, promoviendo incluso la transición de estructuras cerradas a bicapas planas.

Parte de este comportamiento es característico de los sistemas coloidales, por ejemplo, los liposomas cargados son repelidos por superficies de igual carga y atraídos por las de carga opuesta. Sin embargo, sus grados de libertad internos, y los de la interfaz superficie inorgánica-medio acuoso, están implicados en otros aspectos de su comportamiento en superficies. Particularmente, la relación entre las características superficiales y la fuerza de atracción entre superficies-liposoma plantea un desafío. Hasta el momento no se han encontrado correlaciones con propiedades medibles del material tales como energía superficial, índice de refracción o densidad de carga. Igualmente, las interacciones entre liposomas adsorbidos a superficies que inducen la transición a bicapas todavía no están suficientemente explicadas.

A pesar del exitoso desempeño de los modernos biomateriales hemato-compatibles utilizados en stents y válvulas cardíacas artificiales, aun se necesita más desarrollo en este campo con el objetivo de mejorar su desempeño e investigaciones orientadas al estudio de los mecanismos de biocompatibilidad. Para comprender el intrincado de interacciones que se producen entre los sistemas biológicos reales y materiales exógenos, es necesario comenzar por el entendimiento de la complejidad de los sistemas modelo utilizados para ello.

Agradecimientos. Los investigadores desean agradecer al *Ministerio de Ciencia y Tecnología (MICIT)* y al *Consejo Nacional de Rectores (CONARE)* de la *República de Costa Rica*, por el financiamiento de los proyectos de investigación que permitieron completar este artículo.

REFERENCIAS

1. Madrigal-Carballo S, Seyler D, Manconi M, Mura S, Vila AO, Molina F, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects.*, **323**, 149 (2008)
2. Alvarez M, Seyler D, Madrigal-Carballo S, Vila AO, Molina F, *J. Colloid Interf. Sci.*, **309**, 279 (2007)
3. Frazier W, Glaser L, *Ann. Rev. Biochem.*, **48**, 491 (1979)
4. Hughes RC, *Essays Biochem.*, **11**, 1 (1975)
5. Sunamoto J, Iwamoto K, Kondo H, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **94**, 1367 (1980)
6. Sunamoto J, Iwamoto K, Kondo H, *J. Biochem.*, **88**, 1219 (1980)
7. Iwamoto, K., Sunamoto, J. *J. Biochem.*, **91**, 975 (1982)
8. Olsen R, Schwartzmiller D, Weppner W, Winandy R en Skjak-Braek G, Antonsen T, Sandorf P (Editores) Elsevier, London, **1**, 813 (1989)
9. Porrás G, Vila AO, Molina F, Sibaja M, Madrigal-Carballo S, *Rev. Iberoam. Polim.*, **9**, 538 (2008)
10. Madrigal-Carballo S, Porrás G, Sibaja M, Vega-Baudrit J, Vila AO, Molina F, *Rev. Iberoam. Polim.*, **11**, 46 (2010)
11. Vila AO, Rodríguez-Flore C, Figueruelo J, Molina F, *Colloids Surf. A. Physicochem. Eng. Aspects*, **189**, 1 (2001)
12. Gregoriadis G, *Trends Biotech.*, **13**, 527 (1995)

13. Biruss B, Valenta C, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **62**, 210 (2006)
14. Vila AO, Rodriguez-Flores C, Figueruelo JE, Molina F “*Procedimientos de Preparación de Vesículas*”. Ed. MIFFL-ADEIT. Valencia. España (2000)
15. Rodriguez-Flores C, Vila AO, Figueruelo J, Molina F, *Colloids Surf. A. Physicochem. Eng. Aspects*, **191**, 233 (2001)
16. Senior J, *CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.*, **3**, 123 (1987)
17. Lasic DD, Martin FJ, Gabizon A, Huang SK, Papahadjopoulos D, *Biochim. Biophys. Acta*, **1070**, 187 (1991)
18. Woodly MC, Lasic DD, *Biochim. Biophys. Acta*, **1113**, 171 (1992)
19. Fukui F, Fujimoto K, *Langmuir*, **25**, 10020 (2009)
20. Tribet C, Vial F, *Soft Matter*, **4**, 68 (2008)
21. Chan V, Mao H, Leong KW, *Langmuir*, **17**, 3749 (2001).
22. Madrigal-Carballo S, Lim S, Rodriguez G, Vila AO, Krueger CG, Gunasekaran S, Reed JD, *J. Functional Foods*, **2**, 99 (2010)
23. Yeagle PL “*The Membranes of Cells*”. Academic Press, Inc. San Francisco, CA, USA, (1987)
24. Bangham, AD. *Chem. Phys. Lipids*, **64**, 275 (1993).
25. Meier W, *Chem. Soc. Rev.*, **29**, 295 (2000)
26. Nardin C, Hirt T, Leukel J, Meier W, *Langmuir*, **16**, 1035 (2000)
27. Graff A, Winterhalter M, Meier W, *Langmuir*, **17**, 919 (2001)
28. Discher DE, Eisenberg A, *Science*, **297**, 967 (2002).
29. Discher DE, Ortiz V, Srinivas G, Klein ML, Kim Y, David CA, Cai SS, Photos P, Ahmed F, *Progr. Polym. Sci.*, **32**, 838 (2007)