

# LIPOSOMAS EN DERMATOLOGÍA

Ball E. **Liposomas en Dermatología.** Derm Venez 1995; 33: 15-23.

## RESUMEN

Los liposomas son microvesículas esféricas compuestas por bicapas paralelas de fosfolípidos. Las diversas propiedades de los liposomas permiten su aplicación potencial en diversos campos de la medicina. Las interacciones de los liposomas con la piel son de particular importancia en dermatología, en especial como vehículos para diversos compuestos de uso tópico y por sus efectos directos sobre la piel. En este trabajo se realiza una revisión sobre la composición, estructura, técnicas de preparación y propiedades de los liposomas. También se revisan sus aplicaciones en medicina general y en especial en dermatología por sus particulares interacciones con la piel.

## ABSTRACT

Liposomes are spherical microvesicles composed of parallel bilayers of phospholipids. The different properties of liposomes permit their potential application in many fields of medicine. The interactions between liposomes and the skin are of particular importance in dermatology, specially as vehicles of many topical medications and because of their direct effects on the skin. In this revision we explain the composition, structure, methods of preparation and properties of liposomes. We also review their applications in general medicine and specially in dermatology due to their particular interaction with the skin.

## INTRODUCCION

La búsqueda de nuevos vehículos de uso tópico alternativos a los convencionales de ungüento, crema, loción y gel, constituye uno de los campos en los cuales se están invirtiendo los mayores esfuerzos de investigación en terapéutica dermatológica. Se intenta conseguir un vehículo que produzca niveles adecuados del principio activo en la piel, con una mínima absorción percutánea, de forma que se disminuyan los efectos farmacológicos a

la toxicidad en otras partes del cuerpo.<sup>1</sup> Por otra parte, también se ha querido conseguir un medio de transporte de drogas que específicamente se deposite en el tejido enfermo y libere su contenido localmente.

Los liposomas son estructuras macromoleculares que han sido intensamente estudiadas y caracterizadas en los últimos años y que son capaces de atrapar drogas y servir como vehículos de transporte de las mismas. Fueron producidas por primera vez en 1961 y se estudiaron inicialmente como modelos de membranas celulares para estudiar el transporte de iones a través de membranas biológicas. Posteriormente comenzaron a ser

evaluadas como medios de transporte de drogas y en 1988 se registra en Suiza el primer preparado que contenía liposomas: el econazol al 1% (Pevaryl Lipogel de Cilag). Desde 1980, la industria cosmética y farmacológica viene investigando e introduciendo en el mercado nuevos productos vehiculizados en liposomas.

## DEFINICION Y COMPOSICION

Los liposomas son microvesículas esféricas que contienen una o varias bicapas paralelas de fosfolípidos, los cuales tienen la propiedad de adoptar espontáneamente la configuración en bicapa cuando se encuentran en un medio acuoso. Tie-

\* Residente de Postgrado de Dermatología. Hospital Universitario de Caracas

nen básicamente la misma estructura de las membranas celulares. Esta propiedad de los fosfolípidos de adoptar la configuración en bicapas, se debe a que son moléculas anfipáticas, es decir, tienen un extremo polar o hidrofílico que se orienta hacia la fase acuosa y un extremo no polar o hidrofóbico que rechaza la fase acuosa y se orienta hacia el interior de la bicapa (Figura 1).

Lafosfatidilcolina es el tipo de fosfolípido de membrana más frecuente en el mamífero y el más usado para producir liposomas. Los lípidos liposómicos consisten principalmente en la lecitina extraída del huevo o de la soya y la fosfatidilcolina es el principal componente de la lecitina. La lecitina de soya es preferible a la del huevo para la preparación de liposomas por ser inolora e incolora. También se han utilizado otros lípidos para la preparación de los liposomas como la fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, colesterol, esfingomielina y cerebrosídeos.

## TIPOS DE LIPOSOMAS

De acuerdo a su estructura y tamaño existen 3 tipos de liposomas (Figura 2):

- MLV (vesículas grandes multilamelares): miden de 1.000 a 10.000 nm de diámetro. Están formadas por múltiples bicapas concéntricas, separadas entre sí por un estrecho espacio acuoso que mide aproximadamente 5 nm de grosor. El volumen de líquido encapsulado por la membrana lipídica, o "volumen atrapado" es una importante característica de los liposomas y usualmente varía entre 0,5 y 5 Umol de lípido, dependiendo de la composición lipídica y del método de elaboración del liposoma.<sup>2</sup> En el caso de MLV, los volúmenes de atrapamiento son altos, oscilando entre 3 y 5 UMOl.

De las MLV derivan los otros 2 tipos de liposomas:

- LUV (vesículas grandes unilamelares): miden de 50 a 300 nm y su corteza está formada por una sola bicapa lipídica. Tienen volúmenes de atrapamiento de 1 a 3 Umol de lípidos.
- SUV (vesículas pequeñas unilamelares): miden de 25 a 50 nm de diámetro. Por ser tan pequeñas tienen un radio de curvatura muy estrecho que hace que los lípidos tiendan a colocarse más en la mitad externa que en la mitad interna de la bicapa. El imbalance de lípidos a través de la bicapa los hace inestables y el volumen de atrapamiento es muy pequeño (0,2 Umol).<sup>2</sup>

Por lo tanto el tipo preferido como modelo de membrana celular y como vehículo de drogas es el liposoma tipo LUV.

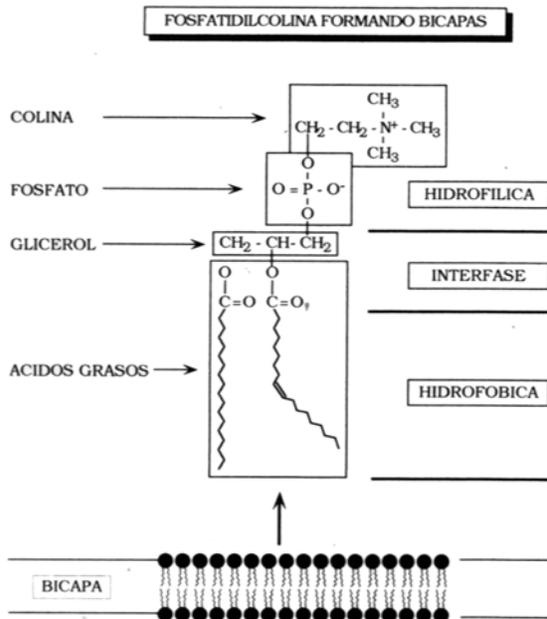


FIGURA 1: Estructura de la molécula de fosfatidilcolina.

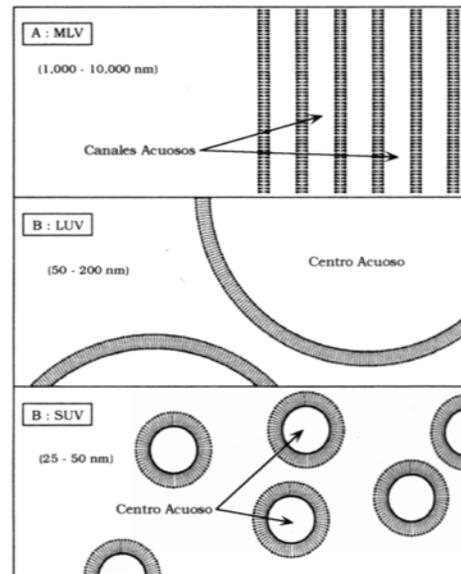


FIGURA 2: Tipos de liposomas (Fuente: Hope M. Kitson N. Dermatologic Clinics. 1993 11(1): 143-154).

## MÉTODOS DE PREPARACION DE LOS LIPOSOMAS

Existen varios métodos para la elaboración de los liposomas. Las diferencias entre los diferentes procesos de obtención es lo que da lugar a la formación de los distintos tipos de liposomas descritos anteriormente. A pesar de las diferencias, todos los métodos tienen en común el siguiente fundamento (Figura 3): a partir de una suspensión de fosfolípidos en un medio altamente hidrofóbico (disolvente orgánico, detergente, etc.) se elimina o se sustituye paulatinamente este disolvente por otro de naturaleza hidrofílica, por lo general una solución acuosa, mediante procesos de dilución, evaporación o diálisis. Este cambio de disolvente sitúa a los fosfolípidos en un medio hostil, lo cual provoca que se agrupen espontáneamente entre sí formando bicapas esféricas y atrapando en su interior gran cantidad del medio acuoso en el que están suspendidos. Los fármacos o productos cosméticos de naturaleza hidrofílica, quedan atrapados en el interior del liposoma y los de naturaleza hidrofóbica quedan incorporados a la corteza fosfolipídica de los liposomas.<sup>1</sup>

El proceso de quedar incorporados o encapsulados dentro del liposoma se conoce como atrapamiento pasivo y la

cantidad de soluto atrapado depende del volumen de atrapamiento del liposoma y de la concentración lipídica.<sup>2</sup> La desventaja del atrapamiento pasivo es que se requiere de otra etapa adicional en el proceso, que consiste en remover el material no atrapado (Figura 4). Para remover las moléculas no atrapadas se usan diferentes métodos como diálisis, filtración en gel, resinas de intercambio iónico y absorbentes sintéticos. Esto resulta e implica pérdida de material si la eficacia de encapsulamiento es baja (típicamente de 10-20%). El atrapamiento pasivo es mucho menos efectivo para las drogas hidrofílicas.

Las moléculas hidrofóbicas, en cambio, al ser liposolubles son incorporadas a los liposomas de una manera más efectiva y menos costosa. Las drogas hidrofóbicas se mezclan con lípidos apropiados en solventes, previa hidratación de los fosfolípidos. Durante la formación de los bicapas y de las cápsulas liposomales, la droga hidrofóbica se solubiliza de una vez en la bicapa en un 100% y no queda droga fuera del liposoma que remover. Por ejemplo, el colesterol y los esteroides son liposolubles y se incorporan fácilmente a la membrana del liposoma.

Estos problemas de encapsulación y de escasa eficiencia del atrapamiento pasi-

vo pueden revertirse manipulando la carga iónica del liposoma y creando gradientes iónicos entre el medio acuoso exterior y la bicapa o el interior del liposoma.<sup>2</sup> Este procedimiento se denomina atrapamiento activo. Un ejemplo de atrapamiento activo consiste en incorporar lípidos cargados negativamente a la membrana del liposoma, para así aumentar la asociación con drogas cargadas positivamente. Otro ejemplo, es el método utilizado con la doxorubicina. Esta es una droga lipofílica y con ella se utilizó un procedimiento que permitió una eficacia de atrapamiento del 100%. Se mezcló la doxorubicina con liposomas que tenían un gradiente de protones a través de la bicapa, es decir, ácidos en su interior. La doxorubicina entra a la vesícula como molécula no cargada y se protona a través de su paso por la bicapa; la carga positiva resultante que adquiere impide que la molécula se salga. La energía del gradiente de protones, se usa para acumular activamente la droga del liposoma en concentraciones que no pueden ser alcanzadas por ningún otro método (Figura 5).

Métodos para mejorar la estabilidad de los liposomas: otra desventaja de los liposomas ha sido su poca estabilidad, lo cual disminuye su vida de almacenamiento. Los fosfolípidos insaturados

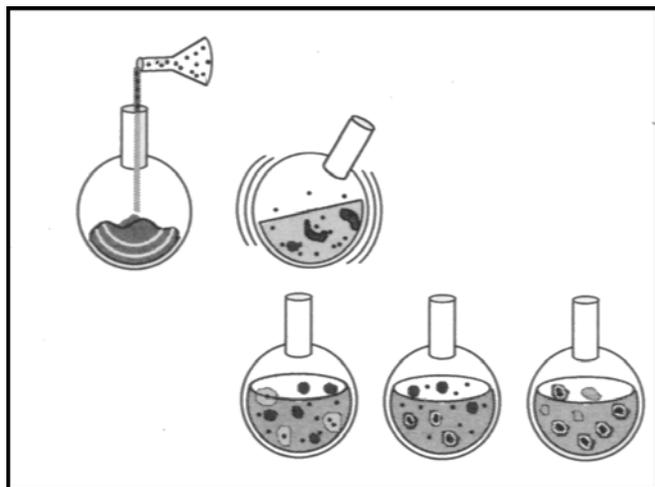


FIGURA 3: Método de preparación de liposomas (Fuente: Sabés M. Trullas C. Piel. 1993; 8: 154-57.

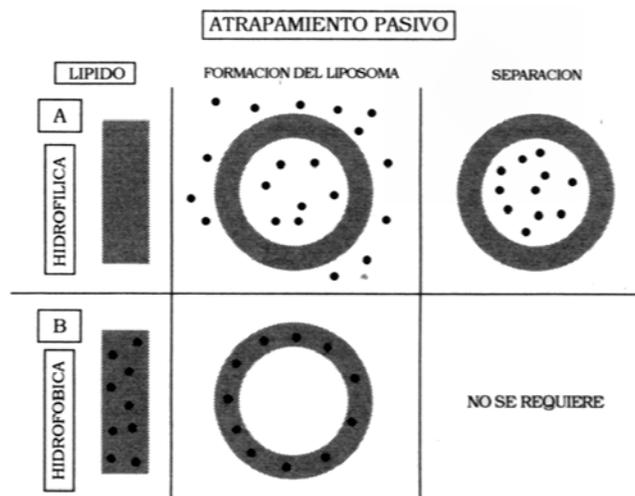
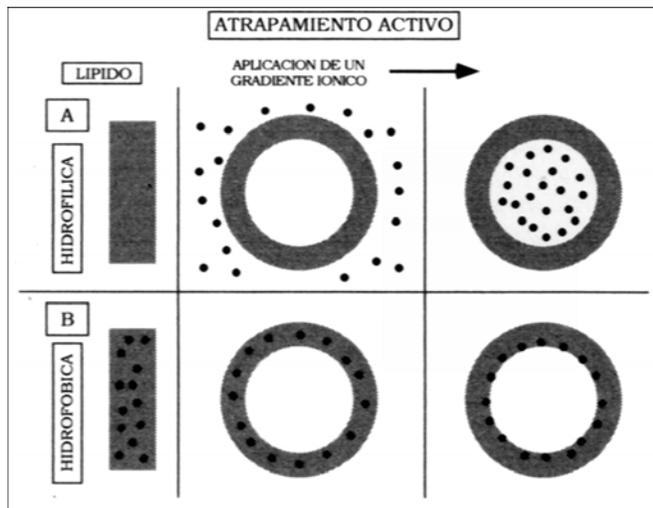
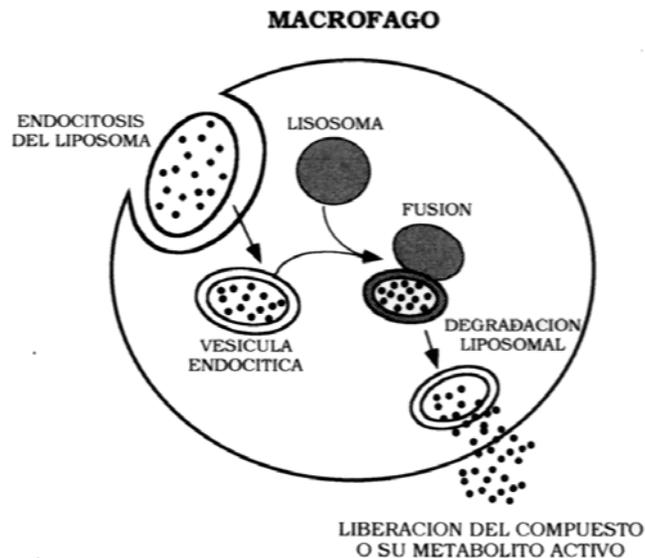


FIGURA 4: Método de atrapamiento pasivo (Fuente: Hope M. Kitson N. Dermatologic Clinics. 1993 11(1): 143-154.



**FIGURA 5:** Método de atrapamiento activo (Fuente: Hope M. Kitson N. *Dermatologic Clinics*. 1993 11(1): 143-154.



**FIGURA 6:** Hipótesis sobre el mecanismo de acción sostenido e indirecto de una droga liposómica al ser inyectada por vía endovenosa.

experimentan peroxidación y este proceso de oxidación puede ser efectivamente detenido incluyendo vitamina E en la bicapa, almacenándolo en un medio con nitrógeno o argón o protegiéndolo de la luz.<sup>3</sup> Igualmente, la desecación por congelamiento elimina el agua del medio donde están los liposomas y por tanto la hidrólisis y oxidación ocurren a una rata mucho más baja, contribuyendo así a la estabilidad de los mismos.

### PROPIEDADES DE LOS LIPOSOMAS

1. Variación del estado físico de acuerdo al grado de saturación: según el grado de saturación de los fosfolípidos que constituyen los liposomas, éstos variarán su estado físico. Cuando predominan los ácidos grasos saturados a la temperatura corporal los liposomas adquieren el estado de gel, siendo estructuras más rígidas y más impermeables a los contenidos atrapados. Su desventaja es que son más difíciles de elaborar, tienden a agregarse cuando se les almacena y son removidos más rápidamente de la circulación que las vesículas con membranas fluidas. Cuando predominan los ácidos grasos insaturados a temperatura

corporal, adquieren un estado líquido y son menos estables?

Si se incorpora colesterol a la membrana, éste interactúa con las cadenas acil de los fosfolípidos e incrementa la estabilidad del estado líquido y la fluidez del estado gel. Además, el colesterol tiene la propiedad de aumentar dramáticamente la vida media en la circulación de los liposomas administrados por vía intravenosa? Se ha postulado que este efecto se debe a que el colesterol inhibe la interacción de las proteínas plasmáticas con la superficie del liposoma, algunas de las cuales posiblemente actúan como opsoninas que marcan las partículas liposómicas para que sean eliminadas por el sistema retículoendotelial. Sin embargo, esta hipótesis no se ha demostrado en forma concluyente. Algunas proteínas séricas como la fibronectina, inmunoglobulina y proteína C reactiva, pueden modificar las propiedades biológicas de los liposomas promoviendo su interacción con las células del sistema retículoendotelial (S RE) y/o activando la cascada del complemento.<sup>4</sup>

2. Los liposomas son capaces de adherirse a cualquier tipo de célula,

fundirse con la misma e intercambiar lípidos con la membrana celular.<sup>5</sup>

3. Biodistribución: se sabe que los liposomas se depositan preferentemente en tejidos con un sistema capilar de tipo sinusoidal (por ejemplo: hígado y bazo) y en tejidos ricos en células del SRE.<sup>9</sup> Luego de su administración por vía endovenosa, ocurre la endocitosis de los liposomas. Una vez dentro de la célula, el liposoma se une al lisosoma y ocurre degradación de los lípidos liposomales y liberación de las drogas transportadas por ellos (Figura 6). La rata de degradación de las vesículas depende de la composición de la bicapa y su degradación completa puede variar de horas a días. Este mecanismo permite que el liposoma realice una liberación indirecta de la droga, creando así un efecto sostenido y prolongado de la misma. Una pequeña parte de los liposomas inyectados puede extravasarse a otros tejidos como pulmón, piel y médula ósea.

Las drogas encapsuladas en liposomas al inyectarse por vía intramuscular o subcutánea van abandonando lentamente el sitio de la inyección, ya sea en forma libre o

asociada al liposoma, para entrar a la circulación o al sistema linfático.' El proceso de liberación de la droga puede tomar de unas pocas horas a días o semanas de acuerdo a la estructura del liposoma, permitiendo una liberación lenta y un efecto sostenido de la droga. La encapsulación de drogas en los liposomas produce cambios en la biodistribución de la misma que conlleva a una marcada reducción de los efectos secundarios, si el órgano sensible a estos efectos está expuesto a niveles más bajos de la droga activa.

Desde hace muchos años se sabe que en los modelos animales los liposomas reducen la toxicidad de las drogas sin comprometer su actividad. El ejemplo más ilustrativo es lo que se ha logrado con la doxorubicina (Adriamicina), un agente citostático ampliamente usado en el tratamiento del cáncer, cuyo efecto colateral más importante es la cardiotoxicidad cuando se llega a una dosis acumulada de aproximadamente 550 mgs/ m<sup>2</sup> de superficie corporal. Está ya demostrado que cuando la droga se administra en liposomas, se reduce significativamente la cardiotoxicidad con preservación y aún potenciación del efecto citostático en animales de experimentación<sup>8, 9</sup> Ello puede explicarse porque los liposomas penetran poco en el compartimiento extravascular de tejidos con capilares continuos, tales como el músculo cardíaco y sistema nervioso central. La doxorubicina liposomal, se concentra preferentemente en pulmón y bazo, quedando el músculo cardíaco relativamente libre.<sup>9</sup> Se ha propuesto también queladoxorubicina asociada con los lípidos liposómicos interactúa con menos eficacia con los fosfolípidos intracelulares que la droga libre.<sup>10</sup> Además la encapsulación de la doxorubicina en liposomas atenúa la toxicidad dérmica en ratones inyectados vía intradérmica, por tanto se reduce el daño tisular severo producido por la doxorubicina libre extravasada a la piel durante su infusión.<sup>11</sup>

4. Los liposomas se acumulan activamente en áreas de inflamación y en

tejido tumoral.<sup>12</sup> Esta propiedad se debe a la presencia de una vasculatura inmadura y permeable en estos sitios, lo cual permite a los liposomas cruzar la barrera endotelial y quedar atrapados en los tejidos.<sup>2</sup> Esta observación ha resultado en el desarrollo de productos radioactivos para estudios imagenológicos (ejemplo, gammagramas) basados en la tecnología de liposomas.<sup>2</sup>

5. Los liposomas tienen la propiedad de solubilizar drogas lipofílicas pobremente solubles en agua. De manera que son de gran interés para la administración parenteral de este tipo de compuestos, evitando el uso de solventes orgánicos irritantes.

6. Los liposomas pueden utilizarse como proyectiles contra determinadas células que se quieren atacar, lo cual se denomina "active targeting". El liposoma se recubre con anticuerpos y con polímeros que contienen grupos hidróxilo o carbohidratos, de modo de prolongar el tiempo de circulación de las vesículas administradas por vía intravenosa.<sup>12</sup> Si el liposoma puede circular durante varios días, los anticuerpos que se proyectan de su membrana tendrán suficiente tiempo para buscar la célula blanco y unirse a ella. El rol de los polímeros de superficie es impedir la unión de las opsoninas al liposoma, prolongando así su tiempo de circulación. El complemento y las alfa 2 macroglobulinas pueden interactuar con los liposomas y destruirlos. Esta tecnología, que está aún en etapas tempranas de desarrollo, se utilizaría en el caso de tumores, células circulantes del sistema inmune y células endoteliales de los vasos sanguíneos con antígenos específicos de superficie (por ejemplo, pulmón, piel y barrera hematoencefálica).<sup>2</sup>

7.- Los liposomas tienen otra ventaja sobre otros sistemas de transporte; por estar constituidos por colesterol y fosfolípidos son fácilmente metabolizados, son relativamente carentes de toxicidad y no son antigénicos.<sup>5</sup>

## APLICACIONES POTENCIALES DEL USO DE LIPOSOMAS EN FORMA SISTEMICA

Las propiedades ya mencionadas de los liposomas, permiten su aplicación potencial o actual en las siguientes áreas:

1. Como vehículo que permite una liberación sostenida y prolongada de drogas administradas por vía intramuscular, subcutánea o endovenosa, reduciendo los efectos colaterales y aumentando la eficacia. En este sentido, existe una formulación de anfotericina B vehiculizada por liposomas ya aprobada para el uso clínico en varios países europeos, donde se han logrado excelentes respuestas terapéuticas y mínima toxicidad y efectos colaterales, en el tratamiento de las micosis sistémicas.<sup>13</sup> La anfotericina B encapsulada en liposomas, reduce los efectos inmunosupresores ejercidos por la anfotericina B libre, lo cual justifica su uso en el tratamiento de las infecciones micóticas sistémicas.<sup>14</sup>
2. Para el ataque directo de las células del sistema retículoendotelial invadidas por tumores, bacterias o protozoarios. La particular biodistribución y predilección de los liposomas por las células del SRE, permite transportar antibióticos y otras drogas directamente a los macrófagos infectados o invadidos. Se ha obtenido cierto éxito en el tratamiento de infecciones intracelulares por bacterias y protozoarios utilizando liposomas. Un ejemplo es la Leishmaniasis, en la cual se ha observado un aumento de la eficacia de las drogas cuando son incorporadas a liposomas.<sup>6</sup>
3. Para la activación de macrófagos in vivo. Se han utilizado en ensayos clínicos liposomas que contienen fosfatidilserina e inmunomoduladores atrapados, para evaluar si son capaces de activar macrófagos in vivo. La presencia de fosfatidilserina estimula la fagocitosis de los liposomas por los macrófagos in vitro.<sup>7</sup>

4. Como medio de transporte para marcadores radioactivos usados en estudios imagenológicos para la detección de tumores.<sup>2</sup>
5. Para aumentar la eficacia y actividad de drogas usadas en quimioterapia, disminuyendo sus efectos colaterales sobre otros órganos. Esto ya se ha logrado con la doxorubicina, la cual ya se encuentra en la fase II de ensayos clínicos en Norte-América, Inglaterra e Israel.<sup>2</sup> Estudios similares en animales de experimentación se han realizado con la vincristina liposomal, obteniéndose resultados alentadores.<sup>15</sup>
6. Para solubilizar drogas hidrofóbicas, evitando así el uso de solventes orgánicos irritantes.
7. Para transportar anticuerpos específicos contra células que se quieran atacar, como células tumorales o células portadoras de antígenos.
8. Se ha ensayado el uso de insulina en liposomas para uso endovenoso con el objeto de dirigirla directamente al hepatocito, el cual es una de las células blanco más importantes en el metabolismo de los carbohidratos. De esta forma, se prolongaría la duración de su acción y desde el punto de vista de investigación, es un método farmacológico adecuado para descifrar el rol del hígado en las complicaciones metabólicas a la diabetes mellitus.<sup>76</sup>

## LOS LIPOSOMAS Y LA PIEL

Hasta ahora se ha hecho referencia a la importancia de las formulaciones de los liposomas en cuanto al aumento de la eficacia de la droga y la disminución de la toxicidad. Esto se logra restringiendo la biodistribución y biodisponibilidad de la droga libre, junto con la liberación gradual de la misma en el tiempo. A continuación, se discutirá como esos factores afectan el uso de los liposomas como vehículos de drogas tópicas y cómo, en general los liposomas interactúan con la piel

## ABSORCION PERCUTANEA DE LOS LIPOSOMAS

El estrato córneo es una efectiva barrera de permeabilidad para la mayoría de las moléculas. La principal barrera para la difusión transepidérmica reside en las lamelas intercelulares compuestas de ceramidas, ácidos grasos y colesterol; estas lamelas están separadas entre sí por espacios de 6 a 13 nm, de modo que es difícil que los liposomas atraviesen los lípidos intercelulares del estrato córneo por difusión pasiva. No se sabe aún si los liposomas son capaces de penetrar la capa córnea en forma intacta y llegar a las células epidérmicas. Sin embargo bajo ciertas circunstancias, los liposomas aplicados en forma tópica son capaces de ponerse en contacto directo con los queratinocitos en las capas más profundas de la epidermis, por ejemplo, cuando hay un estrato córneo incompleto o defectuoso como en las superficies mucocutáneas, heridas superficiales y algunas dermatosis.<sup>2</sup>

Los mecanismos propuestos para la penetración percutánea de los liposomas son: fusión de los lípidos liposomales con la membrana celular y fagocitosis de los liposomas por los queratinocitos. Korting y colaboradores expusieron queratinocitos humanos in vitro a grandes cantidades de liposomas oligolamelares. Estas partículas se adhirieron y fueron invaginadas por los queratinocitos, encontrándose liposomas intactos en su citoplasma, tanto dentro como fuera de los liposomas. Los lípidos estructurales de los liposomas que se encontraron dentro de los liposomas, se desintegraron y se difundieron por todo el fagolisosoma. Esto se comprobó marcando los liposomas con oro radioactivo. Este trabajo confirma la hipótesis de que existe una captación de liposomas intactos por las células de la epidermis.<sup>17</sup>

Sea cual sea su modo de penetración, los liposomas aplicados a la piel pueden controlar la distribución y localización de una droga en la superficie corporal y de este modo aminorar su toxicidad. Las drogas retenidas dentro de los liposomas no pueden ejercer su efecto farmacológico, de manera que el liposoma debe ser considerado como un reservorio de la

droga en la superficie de la piel, similar a las proteínas séricas, que libera la droga en forma sostenida y controlada.

## PENETRACION DE DROGAS LIPOSOLUBLES A LA PIEL POR LIPOSOMAS

El mejor ejemplo de drogas liposolubles aplicadas a la piel son los corticosteroides tópicos. Está demostrado que cuando se formulan con liposomas, aumenta la concentración de la droga retenida en las capas más externas de la piel y su absorción sistémica es nula o mínima, comparada con el mismo esteroide formulado con cremas, ungüentos o lociones. Se ha postulado que los liposomas dispersan los esteroides por difusión lateral sobre la superficie corporal.<sup>1</sup> Como los corticosteroides son hidrofóbicos, son retenidos por los lípidos liposomales. El transporte de la droga de la membrana liposómica hasta el estrato córneo, depende de la tasa de difusión lateral del esteroide en el plano de la bicapa y de la rata a la cual el esteroide experimenta difusión transbicapa. Por lo tanto los pasos que requiere el corticosteroide para penetrar la piel son 3: difusión lateral en el plano de la bicapa, intercambio intermembrana y movimiento de la droga transbicapa (Figura 7).

Mezei y Gulasekharan en 1980, aplicaron acetónido de triamcinolona (AcTm) a conejos 2 veces al día por 5 días.<sup>1</sup> La droga fue encapsulada en liposoma tipo MLV y se compararon los niveles de droga con los obtenidos con dosis idénticas de AcTm en gel y loción. Con la preparación liposómica las concentraciones de la droga en la epidermis y dermis fueron de 3 a 5 veces mayores que con los otros vehículos. Pero los niveles en tejido celular subcutáneo, sangre, hígado, cerebro y corazón fueron iguales que con la terapia convencional. La excreción urinaria fue 50% más baja después de la aplicación de la droga encapsulada en liposomas. El aumento de la penetración de AcTm liposómica también se ha observado en humanos.<sup>5</sup>

Korting, Zeneck y colaboradores demostraron que el dipropionato de betametasona liposómico es más efectivo en el

tratamiento de la dermatitis atópica que un gel convencional de propilénglicol con una concentración de la droga 2 veces mayor. Sin embargo, la droga liposómica fue menos efectiva en el tratamiento de la psoriasis vulgar. Los autores del estudio especulan que el liposoma induce la localización y penetración de la droga, lo que mejora su eficacia antiinflamatoria, pero no su actividad antiproliferativa, sugiriendo que la atrofia de la piel puede reducirse vehiculizando los corticosteroides en liposomas.<sup>20</sup>

En teoría la disminución de los efectos sistémicos de los corticosteroides tópicos cuando son vehiculizados por liposomas, especialmente la supresión adrenal, se debe en una liberación lenta de la droga que resulta en una mejor biotransformación a metabolitos inactivos.<sup>5</sup>

Además de los corticosteroides tópicos, se han formulado en liposomas otras drogas de aplicación dermatológica. El econazol liposómico en modelos de animales fue más efectiva en el tratamiento de la tiña pedis que la crema de ketoconazol al 2%.<sup>5</sup> En humanos, los niveles tisulares de la preparación liposómica fueron 3 veces mayor en comparación con una crema convencional. El econazol liposómico fue usado para tratar pacientes con varios tipos de micosis,

obteniéndose aclaramiento de las lesiones en el 92 al 100% de los pacientes después del tratamiento una vez al día por 2 a 3 semanas. En un estudio con el anestésico local tetracaína, Gesztes y Mezei demostraron la superioridad de la preparación liposómica comparada con la formulación convencional. Sólo con la preparación liposómica se obtuvieron niveles tisulares lo suficientemente altos como para producir anestesia en piel intacta. Sin embargo, el lento comienzo de la anestesia observado, sugiere que los liposomas se degradan en la piel a una velocidad muy lenta.<sup>21</sup> El ácido retinoico también ha sido vehiculizado en liposomas y hay estudios que demuestran que sus efectos irritantes se reducen casi totalmente y su efectividad como comedolítico aumenta cuando son aplicados en forma tópica incorporados a liposomas (Figura 7).<sup>1</sup>

#### LIPOSOMAS COMO VEHICULOS DE DROGAS HIDROFILICAS

Pocos estudios en la literatura han investigado si los liposomas pueden promover también la absorción percutánea de drogas hidrofílicas. El metotrexato por ejemplo, ha sido encapsulado en el interior hidrofílico del liposoma y Patel en 1984 demostró que el metotrexato lipo-

soma) es retenido en la piel de ratones desnudos por más tiempo que la droga libre.<sup>1,2</sup> Esta observación es muy interesante, porque las formulaciones liposómicas podrían beneficiar la terapia de la psoriasis, reduciendo a la vez su toxicidad.

Claramente si el estrato córneo está defectuoso o ausente, los liposomas tendrían acceso a los tejidos, epidérmicos profundos y dérmicos. Bajo estas circunstancias puede visualizarse en el futuro el uso de liposomas en drogas como antibióticos, antimicóticos y anestésicos directamente aplicados al tejido expuesto.

También se han utilizado los liposomas para mejorarla efectividad de sustancias complejas de difícil aplicación tópicacomó el factor de crecimiento epidérmico, factor de diferenciación celular beta, la superóxido dismutasa, la ciclosporina y el interferón.<sup>1</sup>

#### EFFECTOS DIRECTOS DE LOS LIPOSOMAS SOBRE LA PIEL

Una de las propiedades más interesantes de los liposomas tópicos, es que sus constituyentes lipídicos pueden incorporarse a las capas lipídicas del estrato córneo.<sup>2</sup> La estructura molecular de los lípidos liposómicos es similar a la de los lípidos endógenos; de hecho se pueden fabricar liposomas que contengan mezclas de los lípidos de la pie.<sup>22</sup> Por tanto, diseñar liposomas que específicamente modifiquen la composición lipídica de las capas más extremas de la piel para mejorar la función de barrera o cambiar sus propiedades de absorción, abre otro posible campo de investigación.

El intercambio de lípidos entre las membranas es un fenómeno fisiológico común; este intercambio ocurre mediante difusión molecular de una membrana ala otra. El colesterol, por ejemplo, se intercambia rápidamente entre membranas, Bonnekoh, Roding y colaboradores incubaron in vitro queratinocitos con liposomas oligolamelares constituidos principalmente por fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, ácido linoleico y otros ácidos grasos saturados y encontraron que

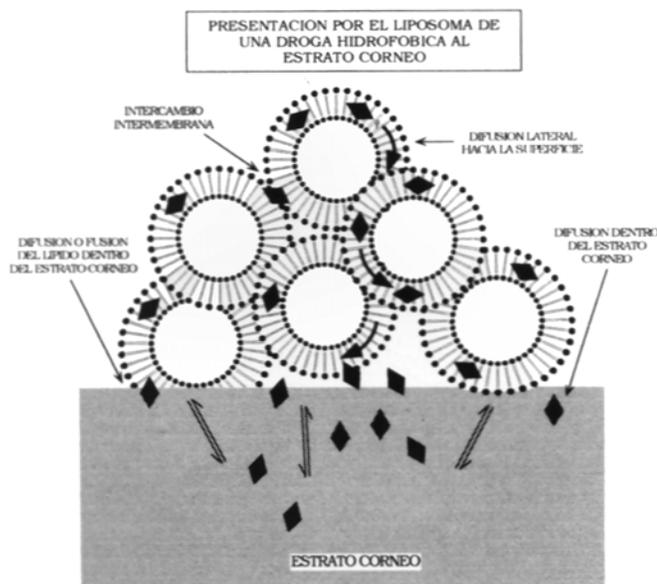


FIGURA 7: Mecanismo de entrada de una droga hidrofóbica liposomal al estrato córneo.

después de una hora de incubación aumentaba la fluidez de los lípidos celulares. Este aumento de la fluidez fue proporcional con el incremento de la concentración de liposomas y con el tiempo de incubación y era máximo a las 48 horas. Además la exposición a los lípidos liposómicos por 24 a 48 horas, resultó en una supresión de la proliferación celular. Los queratinocitos proliferaron de nuevo y su fluidez lipídica retornó a lo normal a los 7 días de discontinuar la incubación con los liposomas. Los autores concluyen que los liposomas por sí mismos tienen efectos directos sobre la piel y cuando se incorporan a los queratinocitos humanos aumentan la fluidez de los lípidos celulares, posiblemente regulando la función de receptores de superficie y enlenteciendo así la proliferación celular.<sup>23</sup>

Estas observaciones sugieren una activa interacción entre los liposomas y la piel, que es lo suficientemente importante como para cambiar la permeabilidad y otras propiedades de la capa córnea externa. Es importante resaltar que la piel pre-tratada con ciertos tipos de liposomas se hace más permeable a la hidrocortisona y se hidrata mejor que áreas no tratadas de la piel.<sup>1,21</sup> Ello pudiera deberse a que los fosfolípidos liposómicos fijan más agua en sus cabezas hidrofílicas que las ceramidas, que son los principales lípidos constituyentes de las lamelas intercelulares. En general, está reconocido que las preparaciones liposómicas mejoran la superficie de la piel de la cara en términos de contenido de agua y textura, lo que hace que la piel se vea más tersa y menos arrugada.<sup>25</sup>

Es claro que la modificación lipídica del estrato córneo es potencialmente muy importante no sólo desde la perspectiva del transporte de drogas, sino como una terapia en sí misma.<sup>2</sup> Sería muy interesante determinar la influencia de determinados tipos de lípidos de los liposomas en desórdenes descamativos de la piel asociados con una composición anormal de los lípidos del estrato córneo, por ejemplo, las ictiosis. El tratamiento con liposomas también sería útil para restaurar la función de barrera de la piel enferma o traumatizada, por ejemplo de la piel eczematosa.<sup>5</sup>

## LOS LIPOSOMAS Y LA INDUSTRIA COSMETICA

Hemos visto ya que los liposomas pueden por sí mismos tener efectos beneficiosos sobre la piel, por su efecto hidratante y fluidificante sobre los lípidos de la piel. De modo que el uso de liposomas en la industria cosmética tiene un enorme campo de investigación y aplicación:

1. Los liposomas convencionales que contienen fosfolípidos, cuando se les incorpora un humectante aumentan en 2 a 4 veces la capacidad fijadora de agua del estrato córneo normal o dañado.<sup>5</sup>
2. Es posible la fabricación de liposomas que tengan una composición lipídica muy similar a la de la piel. Se han fabricado ya mezclas de ceramidas, colesterol, ácido palmítico y sulfato de colesterol, que se aproximan mucho a la composición de los lípidos del estrato córneo y forman liposomas estables unilamelares de 20 a 200

nm.<sup>22,26</sup> Estos liposomas se aplanan y forman capas lamelares intercelulares que pueden usarse para proteger la piel enferma o manufacturar productos cosméticos.

3. En el futuro estarán disponibles protectores solares encapsulados en liposomas que tengan una mayor capacidad de adhesión a la piel. Ello puede lograrse incluyendo proteínas ricas en lisina e hidroxilisina dentro de la bicapa del liposoma, ya que estos aminoácidos pueden formar enlaces cruzados con los residuos de lisina de las proteínas de la capa córnea. La reacción es catalizada por la enzima  $\alpha$ -glucosidasa, que tendría que ser agregada a la preparación. Un protector solar así fabricado, sería más resistente al agua y tendría mayor duración.

En la Tabla 1 se muestran las preparaciones liposómicas para uso tópico en dermatología y cosmetología actualmente disponibles

<b>TABLA 1</b>	
<b>PREPARACIONES LIPOSOMALES EN DERMATOLOGIA Y COSMETOLOGIA ACTUALMENTE DISPONIBLES O EN INVESTIGACION</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Corticosteroides: dipropionato de betametasona, AcTm, pregnenolona</li> <li>• Antimicóticos: econazol, terconazol</li> <li>• Peróxido de benzoilo y ácido retinoico</li> <li>• Antibióticos</li> <li>• Hidroquinona</li> <li>• Minoxidil</li> <li>• Caroteno</li> <li>• Aminoácidos y proteínas</li> <li>• Fibronectina, úrea, colágeno y elastina</li> <li>• Ditranol</li> <li>• Rubefacientes</li> <li>• Antiinflamatorios</li> <li>• Ciclosporina</li> <li>• Factor de crecimiento epidérmico y factor de diferenciación celular beta.</li> <li>• Superóxido dismutasa</li> <li>• Interferón</li> </ul>	

## LIMITACIONES ACTUALES PARA EL USO DE LIPOSOMAS

1. Altos costos de preparación.
2. Poca estabilidad química y física.
3. Escape de la sustancia activa del liposoma por oxidación de los fosfolípidos o por difusión pasiva.
4. Dificil cuantificación exacta de la dosis de sustancia activa que queda dentro del liposoma.

A pesar de estas limitaciones, en un futuro se irán perfeccionando las técnicas de preparación de los liposomas y éstos serán una herramienta muy útil para un tratamiento más eficaz con menos efectos secundarios de muchas enfermedades de la piel.

## REFERENCIAS

1. Sabés M, Trullas C. Los Liposomas en Dermatología: aplicación tópica. *Piel*. 1963; 8: 154-7.
2. Hope MJ, Kitson N. Liposomes. A Perspective for Dermatologists. *Dermatologic Clinics*. 1993; 11 (1): 143-54.
3. Crommelin D, Storm, G. Liposomes as drug carriers systems in therapy: their potential and imitations. *International Pharmacy Journal* 1987; 1 (5): 179-81.
4. Bonte F, Juliano RL. Interactions of Liposomes with serum proteins. *Chem. Phys. Lipids*. 1986; 40: 359.
5. Schafer-Korting M, Korting HC, Braun-Falco O. Liposome Preparations: A step forward in topical drug therapy for skin disease? *J. Am. Acad. Dermatol*. 1989; 21: 1271-5.
6. Alving CR, Steck EA, Chapman VB, et al. Therapy of Leishmaniasis: superior efficacy of liposome encapsulated drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 75: 1959.
7. Schroit AJ, Madsen J, Moyer R. Liposome-cell interactions: In vitro discrimination of uptake mechanism and in vivo targeting strategies to mononuclear phagocytes. *Chem. Phys. Lipids*. 1986; 40: 373.
8. Ralman A, Kissler A, More N, et al. Liposomal protection of adriamycin induced cardiotoxicity in mice. *Cancer Research*, 1980; 40: 1532-37.
9. Gabizon A, Dagan A, Goren D, et al. Liposomes as in vivo carriers of adriamycin: reduced cardiac uptake and preserved antitumor activity in mice. *Cancer Research*, 1982; 42: 4734-39.
10. Gabizon A, Peretz T, Bin-Yosef R, et al. Phase I study with liposome associated adriamycin: preliminary report. *Proc. Ann. Meeting of Am. Soc. Clin. Oncology* 1986; 5.
11. Forssen EA, Tokes ZA. Attenuation of dermal toxicity of doxorubicin by liposomes encapsulation. *Cancer Treat. Rep*. 1983; 67: 481-84.
12. Gabizon A, Papahadjopoulos D. Liposome formulations with prolonged circulation times in blood and enhanced uptake by tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 89: 6949.
13. Lopez-Berestein G, Fainstein V, Hopfer R, Mehta K, et al. Liposomal amphotericin B for the treatment of systemic fungal infections in patients with cancer: A preliminary study. *J. Infect. Dis*. 1985; 151: 704-10.
14. Mehta AT, Mehta K, Lopez-Berestein G, Juliano RL. Effect of liposomal amphotericin B on murine macrophages and lymphocytes. *Infect. Immun*. 1985; 47 (2): 429-33.
15. Mayer LD, Bally MB, Loughrey H, et al. *Cancer Research* 1990; 50 (3): 575-9.
16. Spangler RS. Insulin administration via liposomes. *Diabetes Care*. 1990; 13:911 - 22.
17. Korting HC, Schmid MH, Hartinger A, Maierhofer F, Stolz W, Braun-Falco O. Evidence for the phagocytosis of intact oligolamellar liposomes by human keratinocytes in vitro and consecutive intracellular desintegration. *J. of Microencapsulation* 1993; 10 (2): 223-8.
18. Vermoken AJ, Hukkelhoven MW, Vermeesch AM, et al. The use of liposomes in the topical application of steroid. *J. Pharm. Pharmacol*. 1984; 36: 334-336.
19. Mezei M, Gulasekharan V. Liposomes: a selective drug delivery system for the topical route of administration-gel dosage form. *J. Pharm. Pharmacol*. 1982; 34: 473-4.
20. Korting HC, Zienicke H, Schafer-Korting M. Liposome encapsulation improves efficacy of betamethasone dipropionate in atopiceczemabutnotin psoriasis vulgaris. *Eur. J. Clin Pharmacol*. 1990; 39: 349-51.
21. Gesztes A, Mezei M. Topical anesthesia of the skin by liposome encapsulated tetracaine. *Anesth. Analg*. 1984; 67:107981.
22. Wertz PW, Abraham W, Landmann L, et al. Preparation of liposomes from stratum corneum lipids. *J. Invest. Dermatol*. 1986; 87: 582.
23. Bonnekoh B, Roding J, Krueger GR, Ghyczy M, Mahrle G. Increase of lipid fluidity and suppression of proliferation resulting from liposome uptake by human keratinocytes in vitro. *Br. J. Dermatol*. 1991; 124 (4): 333-340.
24. Molony ST. Effect of exogenous lipids on in vivo transepidermal water loss and percutaneous absorption. *Arch. Dermatol. Res*. 1988; 280: 67.
25. Korting HC, Beecher P, Schafer-Korting M, Wendel A. Topical Liposomes Drugs to come: What the patent literature tell us. *J. Am. Acad. Dermatol*. 1991; 25: 1068-71.
26. Abraham W, Wertz PW, Downing DT. Fusion patterns of liposomes formed from stratum corneum lipids. *J. Invest. Dermatol*. 1988; 90: 259-62.

*Schofield JK, et al.*

### **Recurrent Erytema Multiforme: Tissue typing in a large series of patients**

*British J Derm* 1994; 131: 532-35

En el presente trabajo se demuestra la asociación existente entre el Eritema Multiforme Recurrente y los antígenos: HLA-B62, HLA-B35, HLA-DR53. El Eritema Multiforme Recurrente es una enfermedad usualmente precipitada por una infección viral, siendo no solamente importante la presencia sino también la ausencia de

estos antígenos del sistema mayor de histocompatibilidad importantes en la determinación de la respuesta del huésped ante el antígeno viral.

*Ficha presentada por:  
Dr. Jorge Luis Vera Toledo*