



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: FORMULACIONES DE LIPOSOMAS EN LA
TERAPIA OFTÁLMICA**

Autor: Rocío Peña Busto

Fecha: Junio 2019

Tutor: María del Rocío Herrero Vanrell

ÍNDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....	3
1. LIPOSOMAS	3
1.1. Definición y estructura	3
1.2. Composición general y clasificación	3
1.3. Ventajas	4
1.4. Inconvenientes	4
1.5. Formulaciones comercializadas de liposomas	4
1.6. Preparación de liposomas	4
2. ADMINISTRACIÓN OFTÁLMICA	4
2.1. Características anatomofisiológicas.....	4
2.2. Vías de administración oftálmicas	7
2.3. Formulaciones de administración oftálmica	8
2.3.1. Formulaciones convencionales	8
2.3.2. LIPOSOMAS EN LA TERAPIA OFTALMOLÓGICA	8
OBJETIVOS.....	12
METODOLOGÍA	12
DISCUSIÓN Y RESULTADOS.....	12
1. UTILIZACIÓN DE LIPOSOMAS EN EL TRATAMIENTO DE PATOLOGÍAS OFTÁLMICAS	12
1.1. Segmento anterior.....	12
1.2. Segmento posterior	12
2. FORMULACIONES LIPOSOMALES DE ADMINISTRACIÓN OFTÁLMICA COMERCIALIZADAS Y EN INVESTIGACIÓN	13
2.1. Comercializadas	13
2.2. En investigación	13
2.2.1. Administración tópica.....	13
2.2.2. Administración intraocular y periocular	15
CONCLUSIONES	17
BIBLIOGRAFÍA	18

RESUMEN

Los liposomas son sistemas de liberación de fármacos muy estudiados actualmente para su uso en terapia oftálmica. Se trata de vesículas lipídicas capaces de transportar sustancias de naturaleza lipófila, hidrófila y anfótera. Están compuestos principalmente por fosfolípidos y colesterol, y se clasifican según su tamaño y bicapas que los conforman (SUV, LUV, MLV). Para su preparación se utiliza generalmente el método Banham. Presentan elevada biocompatibilidad, y permiten modificaciones sobre características como la carga de la superficie, tamaño liposomal, composición lipídica, así como estabilidad y tiempo de residencia corneal. Con ello se consigue mejorar la administración. Sin embargo, son poco estables físicamente, ya que tienden a agregarse, pueden sufrir oxidación lipídica y perder parte de su contenido.

Existen numerosas formulaciones liposomales comercializadas para el tratamiento de patologías no oculares, aunque su desarrollo en terapia oftálmica es más limitado. Su objetivo principal, al igual que el resto de los sistemas de liberación ocular, es superar las barreras estáticas (las diferentes capas de la córnea, esclerótica, y retina, incluyendo las barreras hematoacuosa y hemoretinales) y barreras dinámicas (circulación sanguínea coroidea y conjuntival, circulación linfática, drenaje y dilución lagrimal) presentes en el ojo, así como barreras metabólicas.

Es muy importante para la biodisponibilidad del fármaco que la formulación de los preparados presente unas características fisicoquímicas adecuadas, sobre todo en cuanto a osmolaridad, pH, tensión superficial y viscosidad.

Se han conseguido desarrollar formulaciones liposomales específicas para determinadas situaciones fisiopatológicas, como los liposomas Stealth, liposomas vectorizados, liposomas sensibles a pH o liposomas catiónicos.

De las pocas formulaciones que se encuentran actualmente comercializadas en forma de liposomas de administración oftálmica, se encuentra el Aquoral Lipo, Visudyne, Anfotericina B liposomal y Tears Again Advanced. Por el contrario, las formulaciones en vías de comercialización son muy numerosas, habiendo estudios para antivirales, antibacterianos, antiinflamatorios, inmunomoduladores, y antiglaucomatosos, dirigidos tanto al segmento anterior como al posterior.

Palabras clave: liposomas, administración ocular, terapia oftálmica, administración tópica, administración intraocular, administración periocular.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

1. LIPOSOMAS

1.1. Definición y estructura

Los liposomas son vesículas esféricas que funcionan como sistemas de liberación de fármacos o genes, y que contienen una única bicapa lipídica de fosfolípidos o múltiples interconectadas encapsulando un núcleo acuoso. Su estructura vesicular les permite transportar diferentes tipos de sustancias. Los fármacos hidrófilos son encapsulados dentro de este volumen acuoso interno protegido por la bicapa lipídica, para después ser liberados en el organismo. En cambio, si los fármacos son hidrófobos, pueden encapsularse en la bicapa lipídica. Estos sistemas también resultan eficaces en el transporte de fármacos anfipáticos. (1) (2) (3) (4)

Los liposomas son biocompatibles, biodegradables y no tóxicos. En cuanto a su empleo en oftalmología, pueden formularse en gotas oftálmicas, geles o ungüentos para administración tópica, así como en otras formulaciones para administración intra y periocular. (4) (5)

1.2. Composición general y clasificación

Los fosfolípidos de origen natural o sintético son los componentes más habituales de los liposomas, siendo comúnmente utilizados la fosfatidilcolina de huevo, fosfatidilserina sintética, esfingomielina, dipalmitoil-DL- α -fosfatidilcolina, fosfatidilinositol y ovolécitina. También pueden incorporar otros lípidos para modular la carga eléctrica o reducir la permeabilidad. La incorporación de colesterol mejora la fluidez de la bicapa lipídica y su estabilidad. Se pueden adicionar también antioxidantes como el α -tocoferol o el ácido ascórbico para proteger a los fosfolípidos de la oxidación. La esfingolisina, glucolípidos u otros compuestos anfipáticos como el polietilenglicol (PEG) pueden añadirse a la composición del liposoma para modificar sus propiedades intrínsecas. (4) (6)

Para referirse a los distintos tipos de liposomas se puede recurrir al criterio de tamaño y número de bicapas que conforman la pared de la estructura vesicular (*Figura 1*). Es el método de clasificación más adecuado, aunque también se puede hacer según su proceso de elaboración o tipo de carga eléctrica. (2)

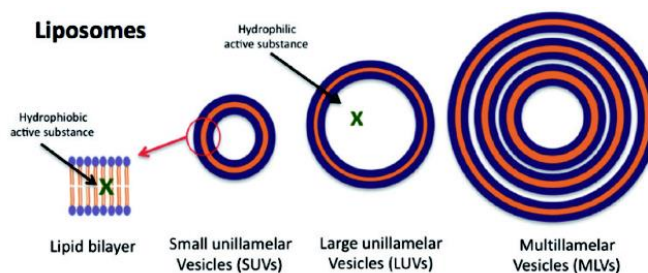


Figura 1: Estructura general y clasificación de liposomas (5)

En función de su tamaño y del número de bicapas que los constituyen, los liposomas se clasifican en 3 grupos: unilaminares pequeños (SUV) y unilaminares grandes (LUV), formados por una única bicapa lipídica; y multilaminares (MLV), que consisten en más de una bicapa, separadas entre sí por compartimentos acuosos (*Tabla 1*). (6) (4)

Los liposomas con mayor capacidad de incorporación son los LUV por contar con un compartimento central más voluminoso. (6)

Type of liposome	Size
SUVs	~ 10 nm to 200 nm
LUVs	~ 200 nm to 1 μ m
MLVs	> 0.5 μ m

1.3. Ventajas

Este tipo de sistemas resultan de gran interés dada su excelente biodisponibilidad. Como se ha señalado anteriormente pueden encapsular sustancias activas hidrofílicas y lipofílicas. (3)

Las propiedades físicas de los liposomas como la carga superficial, tamaño, permeabilidad, rigidez de la pared o capacidad de carga pueden ser fácilmente modulables. (2)

Utilizando lípidos funcionalizados se pueden unir anticuerpos u otros ligandos a la superficie, convirtiéndose en sistemas de transporte con capacidad de acceder a tejidos específicos. (2) (7)

1.4. Inconvenientes

La principal limitación de los preparados liposomales está relacionada con su estabilidad. Los componentes lipídicos insaturados son susceptibles de experimentar procesos de degradación por oxidación o hidrólisis, por lo que se deben incorporar agentes antioxidantes y almacenarlos en atmósfera de nitrógeno. (4) (8)

Los liposomas también plantean problemas de inestabilidad física ya que puede producirse la salida de parte de su contenido a través de la bicapa lipídica hacia el medio acuoso, y tienen tendencia a agregarse para formar partículas de mayor tamaño y los hace susceptibles de ser fagocitados por células fagocíticas para su posterior eliminación. Se puede prevenir la agregación regulando adecuadamente la carga eléctrica superficial. (4) (6)

1.5. Formulaciones comercializadas de liposomas

Los productos liposomales comercializados hasta la fecha incluyen doxorrubicina, daunorrubicina, citarabina, vincristina, irinotecan, anfotericina B, morfina, verteporfina, bupivacaína. También se han desarrollado vacunas para Hepatitis B e Influenza. Daunorrubicina en combinación con citarabina fue aprobado como el primer medicamento liposomal combinado (US FDA). (1)

También hay formulaciones de liposomas de administración oftálmica comercializadas que se desarrollarán más adelante.

1.6. Preparación de liposomas

Para preparar liposomas se puede acudir a una gran variedad de procedimientos, que siempre consisten en procesos estériles en laboratorios o a escala industrial. Uno de los más sencillos es el método Bangham, por el que se obtienen liposomas de tipo MLV que presentan una dispersión de tamaños bastante elevada. Para obtener liposomas más pequeños y homogéneos se aplica ultrasonido o se hace pasar varias veces la dispersión por extrusión a través de filtros de membrana de policarbonatos. Otros métodos utilizados son la extrusión, evaporación de fase inversa (REV), método de congelación y descongelación, presión French, inyección de etanol, diálisis detergente o la combinación de varios métodos. (1) (6) (5)

2. ADMINISTRACIÓN OFTÁLMICA

2.1. Características anatomofisiológicas

2.1.1. Estructura del ojo

El ojo es una estructura esférica conformada por tres capas que consisten en una exterior fibrosa denominada esclerótica; una intermedia vascular formada principalmente por el coroides, junto con el iris y el cuerpo ciliar; y el tejido nervioso interno que constituye la retina. El segmento anterior incluye la superficie ocular, el iris, el cristalino y el cuerpo ciliar; mientras que el segmento posterior está constituido por el vítreo, el epitelio pigmentario de la retina, la retina y la coroides. Tres cámaras separan las diferentes estructuras, siendo la cámara anterior

aquella que separa la córnea y el iris, la cámara posterior aquella que se encuentra entre el iris y la lente, y la cámara vítrea, que se extiende desde la lente hasta la retina. El humor acuoso, que mantiene la presión intraocular, ocupa las cámaras anterior y posterior, mientras que el humor vítreo, producido por un proceso del cuerpo ciliar, ocupa la cámara vítrea. (8) (9)

La esclerótica o esclera es la capa más exterior del segmento anterior y se encuentra constituida, principalmente, por fibras de colágeno y proteoglicanos embebidos en una matriz extracelular. (10) (11)

La córnea es un tejido transparente sin irrigar. Se encuentra constituida por el epitelio, el estroma y el endotelio. Mientras que el epitelio y el endotelio tienen carácter lipídico, el estroma es de naturaleza hidrofílica. Constituye únicamente el 5% de la superficie ocular total, mientras que el resto está formado por la conjuntiva. (8) (4) (10) (11)

El sistema lagrimal mantiene la córnea permanentemente lubricada y protegida. La película del fluido lagrimal es una capa muy fina que baña los epitelios de la córnea y de la conjuntiva, así como las paredes del saco conjuntival. La capa más superficial es de naturaleza lipídica, constituida por ceras y esteres de colesterol, y tiene la función de reducir la evaporación de la capa acuosa, constituida por un gel acuo-mucinoso. Debajo de esta capa acuosa se sitúan mucinas con dominios hidrofóbicos sobre la superficie de las células epiteliales. (11)

El líquido lagrimal es drenado a través del conducto nasolacrimal hasta alcanzar la cavidad nasal. (4)

La coroides es una capa muy vascularizada que asegura la nutrición del globo ocular, mientras que la retina conforma la capa más interna y contiene los fotorreceptores. (11)

2.1.2. Barreras oculares

Cuando se instila una formulación oftálmica se aumenta el volumen de la lágrima y se estimula un movimiento reflejo de parpadeo. Se estima que la absorción por el tejido ocular de fármacos administrados de forma tópica es menor del 5%. La mayor parte del fármaco perdido se debe al desbordamiento, ya que el volumen que puede ser retenido en la superficie conjuntival es muy limitado. (4) (11)

Las barreras principales que restringen el acceso al segmento anterior son de naturaleza estática (epitelio corneal, estroma corneal, y la barrera hematoacuosa), dinámica (circulación sanguínea conjuntival, circulación linfática, drenaje lagrimal) y barreras metabólicas. (9)

La córnea constituye la barrera biológica que deben vencer los fármacos en su acceso al segmento anterior. Así, la capacidad que tenga un fármaco para alcanzar el humor acuoso depende de su capacidad para atravesar el epitelio y el estroma corneal. (8)

El mecanismo mayoritario empleado para el acceso de fármacos al interior del ojo es la difusión pasiva a través de la membrana corneal que viene, a su vez, condicionado por la naturaleza hidrofílica o lipofílica y por el coeficiente de reparto de las sustancias administradas. También es importante el tiempo de contacto de la formulación en la superficie ocular. El epitelio será la principal barrera de absorción de moléculas hidrófilas y compuestos ionizados ya que tiene un alto contenido en lípidos, mientras que el estroma lo será de moléculas más lipófilas por su elevado contenido acuoso. (8) (4) (10) (11)

El paso de sustancias a través de la superficie ocular tiene lugar de forma transcelular o paracelular dependiendo de la naturaleza hidrófila o lipófila de la sustancia de la que se trate. Fármacos lipófilos utilizan la absorción transcelular mientras que fármacos hidrófilos y moléculas de gran tamaño son transportadas a través de espacios paracelulares. (4)

La permeabilidad paracelular depende del tamaño de molécula del fármaco administrado y del tamaño de poro paracelular. La conjuntiva tiene espacios paracelulares de mayor tamaño en comparación con la córnea. La presencia de numerosos vasos sanguíneos y linfáticos en la conjuntiva hace que el fármaco pase en un porcentaje elevado a circulación sistémica. (4) (10) (11)

El papel del transporte activo depende de la expresión de los transportadores correspondientes en la membrana de las células apicales, la afinidad del fármaco por el transportador y la concentración de fármaco. Se han identificado en el epitelio corneal transportadores de aminoácidos, oligopéptidos, nucleósidos y transportadores de aniones orgánicos. (4)

Además, la presencia de enzimas que metabolizan los fármacos también es considerado un factor limitante. La actividad de esterasas, peptidasas y proteasas pueden ser consideradas como una limitación, aunque no se debe olvidar que pueden favorecer el uso de profármacos como la dipivefrina o las prostaglandinas. (4)

El acceso de las sustancias activas al segmento posterior está limitado por las barreras hematoacuosa y hematorretiniana. En la barrera hematoacuosa, presente en el segmento anterior, intervienen el epitelio ciliar y los capilares del iris. De la barrera hematorretiniana, localizada en el segmento posterior, son responsables los capilares de la coroides y las uniones del epitelio pigmentario de la retina. Estas barreras fisiológicas impiden el acceso de sustancias al interior del ojo. En caso de inflamación, se produce una alteración de las mismas, favoreciendo el paso de moléculas. (8) (9)

La esclerótica también constituye una barrera en el paso ocular de fármacos, dependiendo su permeabilidad fundamentalmente del tamaño. (4)

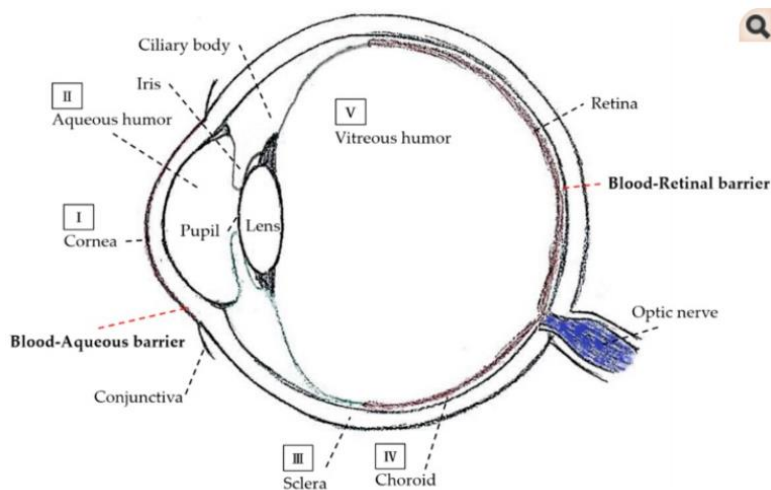


Figura 2: Esquema de la estructura ocular. Las barreras oculares en el segmento anterior son (I) la película lagrimal y epitelio corneal, (II) humor acuoso y barrera hematoacuosa. Las barreras oculares en el segmento posterior son (III) la esclera, (IV) coroides, (V) humor vítreo y barrera hematorretiniana. (12)

2.1.3. Propiedades fisicoquímicas de los preparados oftálmicos

Es de gran importancia la formulación de los preparados con unas características fisicoquímicas adecuadas que son, entre otras, osmolaridad, pH, tensión superficial y viscosidad. Si las formulaciones no presentan unas propiedades adecuadas, se puede disminuir notablemente la biodisponibilidad del fármaco. (8)

La osmolaridad de las lágrimas es directamente proporcional al número de iones disueltos y de solutos no ionizados. Cuando una formulación oftálmica se instila en el ojo se mezcla con la película de fluido precorneal. La presión osmótica de la mezcla dependerá de la osmolaridad de las lágrimas y de la formulación. Aunque en condiciones normales el ojo tolera soluciones hiper e hipotónicas, se prefiere que las formulaciones sean isotónicas. (8) (11)

Desde el punto de vista fisiológico, el pH de las formulaciones oftálmicas mejor tolerado por el ojo es 7,4, valor similar al de las lágrimas naturales, aunque se admiten valores comprendidos entre 7,4 y 9,6. Sin embargo, en determinadas ocasiones, la estabilidad del fármaco en el preparado oftálmico obliga a sobrepasar estos límites. En estos casos debe

recurrirse a la utilización de soluciones tampón de baja capacidad de amortiguación que puedan ser neutralizadas fácilmente por el flujo lagrimal. (8) (11)

La viscosidad de las soluciones oftálmicas se incrementa fundamentalmente para aumentar la retención de los principios activos que contienen en la superficie corneal, aunque debe tenerse en cuenta que la instilación de soluciones viscosas puede inducir irritación ocular. El uso de conservantes en concentraciones elevadas también puede causar irritación y lesionar la superficie ocular. (11)

2.2. Vías de administración oftálmicas

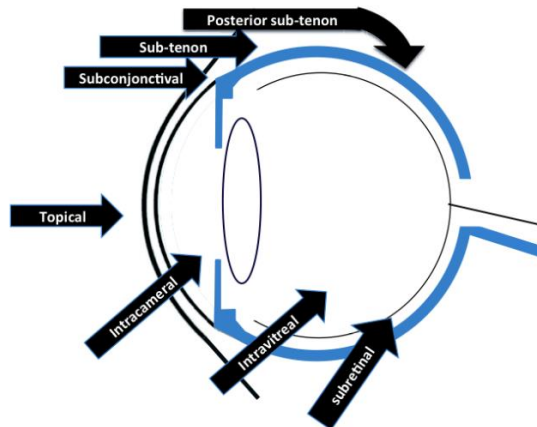


Figura 3: Vías de administración oftálmica (5)

2.2.1. Administración tópica

La administración tópica es la más empleada en el tratamiento de patologías oculares. Dentro de las ventajas de esta vía destacan su simplicidad y la posibilidad de que el paciente pueda administrarse el preparado. (5) (8)

Los factores capaces de influir en la biodisponibilidad de las sustancias activas administradas por vía tópica dependen del estado y funcionamiento de la superficie ocular, de las propiedades fisicoquímicas de las sustancias activas empleadas y de la propia formulación. Una de las estrategias tecnológicas más empleada para incrementar la biodisponibilidad de los fármacos tras su administración tópica es el aumento del tiempo de residencia del mismo en la superficie ocular, principalmente por interacción con mucinas oculares, y la mejora de la permeabilidad corneal. (5) (8)

2.2.2. Administración intraocular

La inyección intravítrea es la vía de administración más común y más recomendada en el tratamiento de enfermedades del segmento posterior. La ventaja de las inyecciones intravítreas es la liberación inmediata del fármaco y un incremento en el efecto terapéutico de éste en el tejido diana. Los sistemas “depot” eliminan la necesidad de administrar inyecciones repetidas, pero adiciona el riesgo asociado a la intervención invasiva para colocar el dispositivo. (7) (13)

Sin embargo, la corta semivida de los fármacos inyectados en la cavidad vítrea requiere administraciones frecuentes o de la inyección de soluciones concentradas de la sustancia activa. Las inyecciones repetidas pueden producir efectos adversos como infecciones, endoftalmitis, hemorragia vítrea, desprendimiento de retina o trauma lenticular, asociado a una mala tolerancia por el paciente. (3) (5) (7) (14) (13)

2.2.3. Administración periocular

La administración periocular se consigue mediante inyección en la zona que rodea el globo ocular, que incluye las rutas peribulbar, yuxtaescleral posterior, retrobulbar, sub-Tenon y subconjuntival. Es una vía de administración menos invasiva y por tanto más segura que la intraocular. Puede minimizar potencialmente los efectos adversos sistémicos, pero el fármaco sigue necesitando pasar a través de diferentes barreras oculares. (5) (10) (13)

2.3. Formulaciones de administración oftálmica

2.3.1. Formulaciones convencionales

Dentro de la clasificación de preparaciones oftálmicas convencionales encontramos:

- Colirios: disoluciones, emulsiones o suspensiones acuosas u oleosas, estériles, de uno o más principios activos, destinadas a su instilación en el ojo.
- Baños oculares: disoluciones acuosas estériles, destinadas a enjuagar o lavar el ojo o a impregnar compresas que se aplican sobre el ojo.
- Polvos para colirios y polvos para baños oculares: productos sólidos destinados a ser disueltos o dispersados en un vehículo líquido apropiado en el momento de su administración.
- Preparaciones oftálmicas semisólidas: preparaciones de consistencia semisólida (pomadas, cremas o geles estériles) destinadas a ser aplicadas en la conjuntiva o en los párpados.
- Insertos oftálmicos: sistemas poliméricos estériles, sólido o semisólido, destinados a ser insertados en el saco conjuntival. El principio activo se libera en un periodo de tiempo determinado.
- Hay otros preparados como las lágrimas artificiales que son, en su mayor parte, soluciones oftálmicas que no contienen ningún principio activo. (8)

2.3.2. LIPOSOMAS EN LA TERAPIA OFTALMOLÓGICA

Los liposomas ofrecen numerosas ventajas en la administración oftálmica. Se han empleado para aumentar la penetración de sustancias activas a través de la córnea en la administración tópica y para reducir la toxicidad de las formulaciones y dirigir la administración específicamente al epitelio pigmentario de la retina en la administración intraocular. (7)

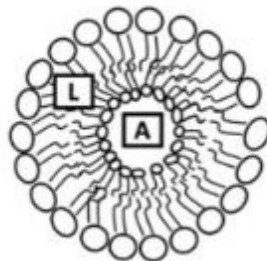


Figura 4: Liposoma convencional con bicapa lipídica exterior y núcleo interior acuoso. A: fármaco hidrosoluble; L: fármaco liposoluble. (4)

2.3.3. Sistemas liposomales de administración tópica

Los liposomas facilitan un contacto íntimo con las superficies de la córnea y conjuntiva favoreciendo el acceso del fármaco encapsulado al segmento anterior. Esto tiene mucha importancia, sobre todo en fármacos con coeficiente de reparto reducido y solubilidad deficiente, y aquellos de peso molecular medio o elevado. (2) (4)

Con el objetivo de reducir las limitaciones de los liposomas convencionales de administración ocular tópica y conseguir las características de un sistema de liberación ideal, se han estudiado diversas modificaciones, particularmente en la superficie y en la composición lipídica liposomal. (4)

- Carga de la superficie y tamaño liposomal

Por lo general, los liposomas cargados son más resistentes a la agregación, además que aquellos cargados positivamente ofrecen una acción más prolongada en comparación con los de carga negativa. Esto se debe a que los liposomas catiónicos interaccionan con la córnea, cargada negativamente, consiguiendo prolongar el tiempo de residencia del fármaco en la superficie ocular. También se ha sugerido que los sistemas catiónicos retrasan el drenaje a través del fluido lagrimal por incrementar la viscosidad y por su interacción con cargas negativas de la mucosa. A pesar de sus ventajas, hay que tener en cuenta que los sistemas cargados positivamente presentan generalmente una menor tolerancia que los neutros o cargados negativamente. (4)

El tamaño de los liposomas también afecta su eficacia como sistemas de liberación. Los MLV presentan mayor tiempo de retención en comparación con SUV con la misma composición lipídica, y la interacción liposomal con la córnea decrece en el orden $MLV^+ > SUV^+ > MLV^- > SUV^- < MLV$. Se han realizado otros estudios que han demostrado que el incremento del tamaño vesicular impide el drenaje, prolongando el tiempo de residencia. (4)

- Composición lipídica

La composición lipídica de la membrana liposomal determina su capacidad para resistir la salida del fármaco encapsulado. Se ha observado que la salida de fármaco inducida por el líquido lagrimal puede reducirse mediante la incorporación de cantidades crecientes de colesterol en las bicapas lipídicas. La composición lipídica de los liposomas debe ser optimizada dependiendo del fármaco a encapsular. La proporción de fosfolípido/fármaco también es importante para la eficacia de encapsulación. El tipo de lípido utilizado también determina la carga de la superficie liposomal. (4)

- Estabilidad y tiempo de residencia corneal

Con el fin de aumentar el tiempo de residencia de las formulaciones de liposomas en la superficie ocular, se ha estudiado el uso de polímeros bioadhesivos. Uno de los polímeros es el quitosano, sustancia mucoadhesiva biodegradable y no tóxica, empleada en el recubrimiento de liposomas con el fin de inhibir su agregación, incrementar la viscosidad y con ello el tiempo de residencia. Este compuesto ralentiza la liberación del fármaco y consigue una mayor penetración corneal por potenciar la absorción debido a su naturaleza. También se ha demostrado un incremento en la estabilidad liposomal en aquellos que incluyen cloruro de N-trimetil quitosano (TMC). (4)

Polímeros derivados del Carbopol (Carbopol 934P y carbopol 1342), de naturaleza mucoadhesiva, han sido utilizados también como vehículos de las formulaciones liposomales, aumentando la biodisponibilidad del fármaco por reducción del drenaje precorneal. (4)

- Liposomas “fantasmas” o Stealth

Con ellos se busca reducir la pérdida de liposomas como consecuencia de la fagocitosis por células del sistema inmune. Para ello, se recubre los liposomas con polímeros biocompatibles e inertes como el polietilenglicol (PEG), que forma una capa protectora sobre la superficie liposomal, confiriéndole un impedimento estérico que impide la captación por el retículo endotelial mediado por opsoninas. (2) (4)

A pesar de todas las ventajas de la tecnología Stealth, está demostrado que el PEG no es biodegradable, por lo cual su acumulación en los tejidos debido a su administración crónica puede resultar tóxica. Como sustitutivo del PEG se utiliza ácido siálico como polímero protector de liposomas, que es un constituyente natural del organismo y es completamente biodegradable y no inmunogénico, aun cuando se une a proteínas. (2) (4)

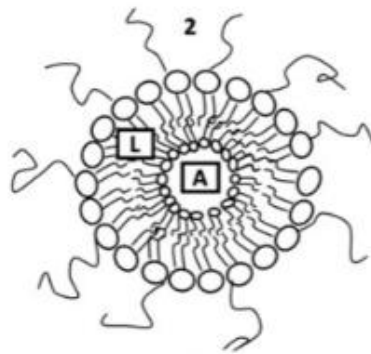


Figura 5: Liposoma Stealth protegido por cadenas poliméricas ancladas a la superficie. A: fármaco hidrosoluble; L: fármaco liposoluble. (4)

- Vectorización de liposomas

La vectorización de liposomas se consigue con la inserción de grupos funcionales o ligandos en la superficie de los liposomas. Si se insertan anticuerpos, estos son capaces de reconocer proteínas específicas que se encuentran localizadas en las células diana. Inmunoglobulinas de la clase IgG y sus fragmentos son comúnmente utilizadas. Los ligandos también pueden ser proteínas y péptidos, como el péptido TAT o el péptido de penetración celular (CPP), dirigidos a proteínas específicas de la célula diana. Estos péptidos facilitan la rápida internalización celular de los liposomas. (1) (4)

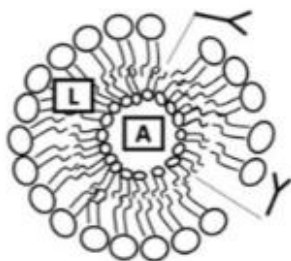


Figura 6: Vectorización de liposomas mediante el anclaje de anticuerpos en la superficie. A: fármaco hidrosoluble; L: fármaco liposoluble. (4)

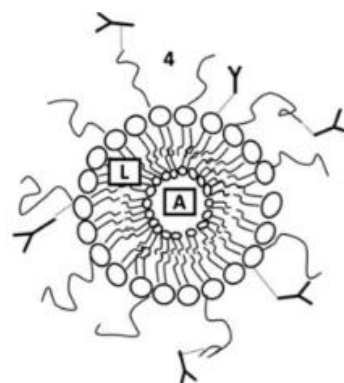


Figura 7: Vectorización de liposomas Stealth mediante el anclaje de anticuerpos en la superficie o en el extremo de la cadena polimérica. A: fármaco hidrosoluble; L: fármaco liposoluble. (4)

- Liposomas sensibles a pH

Los liposomas, tras sufrir endocitosis, liberan su contenido en endosomas y posteriormente pasa a los lisosomas. La degradación enzimática por las enzimas lisosomales puede resultar en la pérdida de fármaco.

Algunos virus expresan en su superficie péptidos fusogénicos, lo que les permite su unión con la célula diana y la fusión de las membranas como medio de entrada del virus en la célula huésped. Se pueden incorporar estos péptidos fusogénicos en la superficie de los liposomas para desestabilizar la membrana de los endosomas y lisosomas, y con ello liberar el fármaco al citoplasma y evitar su degradación. Estos péptidos se activan con el bajo pH de los endosomas. (4)

- Liposomas catiónicos

Se trata de liposomas que se modifican en la superficie utilizando polímeros catiónicos. De esta forma se consigue mejorar la absorción y la interacción con la célula. Este tipo de liposomas ha demostrado una mayor eficacia que los neutros o aniónicos en administración ocular como consecuencia de su interacción con cargas negativas de la superficie corneal. (8) (3) (4) (15) (7) (16)

A pesar de que presentan peor tolerancia ocular que los liposomas sin carga o los de carácter aniónico, los liposomas catiónicos resultan de interés por su capacidad de establecer interacciones electrostáticas con las mucinas oculares y aumentar así el tiempo de contacto con la superficie del ojo. (8)

Su principal aplicación es la vehiculización de material genético, como oligonucleótidos, plásmidos o ácidos nucleicos. Los lípidos catiónicos constitutivos de estos liposomas neutralizan la carga negativa del DNA o RNA formando así una estructura compacta diferente de la estructura vesicular típica de los liposomas. Estos complejos resultantes se denominan lipoplexes, y proporcionan una protección al material genético y promueven la internalización y la expresión de este en el interior celular. (1) (2) (4) (5)

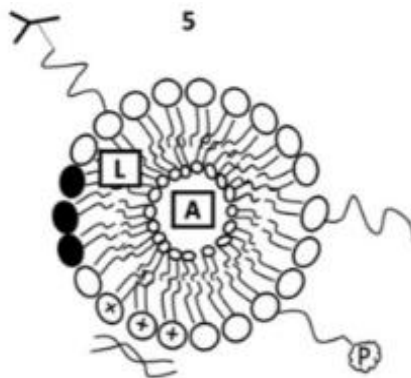


Figura 8: Liposoma multifuncionalizado con cadenas poliméricas protectoras; vectorización por anclaje de anticuerpos; lípidos sensibles a pH para conseguir liberación intracelular del fármaco (*); incorporación de lípidos catiónicos para vehiculización de material genético (+); anclaje de péptidos de penetración celular (P). A: fármaco hidrosoluble; L: fármaco liposoluble. (4)

2.3.3.1. Sistemas liposomales de administración intraocular

La administración de principios activos en liposomas mediante inyección intravítrea presenta ventajas en comparación con la administración del fármaco en solución, ya que se

mantiene las concentraciones de las sustancias activas durante más tiempo y presentan además menor toxicidad. Los liposomas liberan su contenido de forma paulatina, evitando las concentraciones elevadas que se producen cuando se inyecta el fármaco libre con la consiguiente toxicidad. Permiten por ello la administración de dosis mayores de fármaco. Estos efectos se han demostrado en estudios con liposomas de antibióticos y antifúngicos como penicilina, gentamicina, clindamicina y anfotericina B. (7)

De forma inherente o tras sufrir modificaciones, los liposomas presentan cualidades que los hacen ideales para determinados usos tras su administración en el segmento posterior. Como se ha señalado anteriormente, los liposomas son fagocitados por diferentes tipos de células, incluyendo las del epitelio pigmentario de la retina. Además, las membranas de los liposomas pueden ser modificadas para favorecer su interacción con el endotelio de vasos en proliferación, o para liberar su contenido “in vivo” tras estimulación externa, inducido por calor o láser. (7)

2.3.3.2. Sistemas liposomales de administración periocular

En cuanto a la utilización de liposomas en la administración periocular, se ha demostrado eficacia en el tratamiento de infecciones por *Herpes simplex virus*. (7)

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es conocer los sistemas de liberación que se plantean en la actualidad para la terapia oftalmológica, centrando el estudio en las formulaciones liposomales y las ventajas que ofrecen respecto a las terapias clásicas, así como en conocer el panorama actual respecto a las aplicaciones de las formulaciones liposomales en oftalmología, tanto las comercializadas como en vías de comercialización.

METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica de las diferentes formulaciones liposomales de administración ocular, tanto comercializadas como en investigación, en diferentes libros de oftalmología, así como en bases de datos de artículos científicos.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

1. UTILIZACIÓN DE LIPOSOMAS EN EL TRATAMIENTO DE PATOLOGÍAS OFTÁLMICAS

1.1. Segmento anterior

Se ha estudiado el uso de liposomas en el tratamiento de patologías oftálmicas como la enfermedad de ojo seco, keratitis (tanto por *Pseudomonas*, *Candida*, o *Herpes*), uveoretinitis, uveítis, *Herpes simplex virus*, *Varicella zoster*, infecciones fúngicas superficiales, neovascularización corneal e infecciones superficiales por Gram positivos y negativos.

Las formulaciones liposomales también ofrecen una buena alternativa ante el rechazo a injertos corneales, debido que son afines a la fagocitosis por macrófagos del sistema inmune.

1.2. Segmento posterior

La administración de liposomas en el segmento posterior se ha llevado a cabo mediante inyecciones subconjuntivales e intravítreas. Así, se han ensayado para el tratamiento de

numerosas patologías como son *Herpes simplex virus* 1 y 2, retinitis por *Citomegalovirus*, necrosis retiniana aguda (ARN), glaucoma, hipertensión ocular, vitreoretinopatías, endoftalmitis y enfermedades oculares hereditarias como distrofia retinal, patologías inmunomediadas y retinopatía degenerativa.

2. FORMULACIONES LIPOSOMALES DE ADMINISTRACIÓN OFTÁLMICA COMERCIALIZADAS Y EN INVESTIGACIÓN

2.1. Comercializadas

Aunque los liposomas desarrollados para administración parenteral llevan tiempo utilizándose en el tratamiento de distintas enfermedades, los diseñados para administración oftálmica son muy limitados. De hecho, la mayoría de ellos se utiliza para la administración tópica oftálmica. (1)

Aquoral Lipo: solución oftálmica lubricante y antioxidante sin conservantes a base de sal sódica de ácido hialurónico entrecruzado, liposomas y crocina. Está indicado para el tratamiento del ojo seco con excesiva evaporación de la película lagrimal, blefaritis y disfunción de las glándulas de meibomio. También puede usarse para la protección corneal como sustituto lagrimal tras intervenciones quirúrgicas, traumatismos oculares o en casos de estrés ambiental o visual. (17)

Gracias a la combinación de ácido hialurónico entrecruzado con liposomas, Aquoral lipo está indicado para todos los tipos de sequedad ocular por producción insuficiente de lágrima o excesiva evaporación de película lagrimal. Los liposomas regeneran la capa lipídica de la película lagrimal y la estabilizan, reduciendo la tensión superficial y previniendo el exceso de evaporación. (17)

Anfotericina B liposomal: se emplea en fórmulas magistrales para el tratamiento de infecciones fúngicas de la superficie del ojo. (18)

Tears Again Advanced (Alemania): spray liposomal de fosfolípidos diseñado para su aplicación sobre los párpados cerrados. Los liposomas migran a través del párpado transportando fosfolípidos y agua a la película lagrimal protegiendo al ojo de la pérdida de hidratación. Esta formulación también contiene vitaminas (A, C y E). Se utiliza en la enfermedad del ojo seco y proporciona mejoría ante la irritación ocular. No se encuentra comercializado en España. (19) (3) (20)

Está indicado para el tratamiento de la enfermedad de ojo seco leve a moderado. (7)

Visudyne: se trata de liposomas de verteporfina. Es la primera formulación liposomal desarrollada para el tratamiento de neovascularización coroidea subfoveal (NCS) y la miopía patológica. Se administra por infusión intravenosa y se activa por láser aplicado directamente a través del ojo. (1) (3) (21)

2.2. En investigación

2.2.1. Administración tópica

2.2.1.1. Antivirales

Distamicina A: preparación liposomal tópica preparada con fosfatidilcolina y colesterol, para instilación en la superficie ocular. Estudio sobre ratones para determinar su potencial uso en el tratamiento antiviral de *Herpes simplex virus* (tipos 1 y 2) y *Varicella zoster* en comparación con el uso del fármaco libre. Mediante la utilización de liposomas se mejora la penetración y la permanencia del fármaco, aumentando el efecto terapéutico. (22)

Aciclovir: utilizado en el tratamiento de keratitis, sobre todo en aquella causada por *Herpes simplex virus*. Se realizó un estudio sobre la administración tópica en colirio de aciclovir en forma de liposomas catiónicos y aniónicos en conejos. Se observó que los liposomas catiónicos establecen interacciones electrostáticas con las cargas negativas de la superficie corneal, lo que conlleva un mayor tiempo de residencia corneal y un incremento en la absorción del aciclovir. (1) (3) (7) (23)

Idoxuridina: utilizado en el tratamiento de keratitis. El estudio sobre conejos con idoxuridina marcada demostró que la administración tópica de formulaciones liposomales da lugar a concentraciones de fármaco superiores en córnea, humor vítreo y acuoso, en comparación con la administración del fármaco libre. (7)

2.2.1.2. Antibacterianos

Norfloxacino: estudio de su aplicación tópica en formulaciones liposomales de diferente composición lipídica, siendo la dimiristoilfosfatidilcolina la que mayor retención corneal presentó. (1) (24)

Ciprofloxacino hidrocloreuro: utilizado en el tratamiento tópico de infecciones bacterianas oculares como conjuntivitis, keratitis bacteriana y keratoconjuntivitis. Se ha estudiado su uso en liposomas de hidrogel en el tratamiento de infecciones por Gram positivos y negativos. (25) (26)

2.2.1.3. Antifúngicos

Anfotericina B: utilizado en el tratamiento de keratitis, sobre todo la fúngica por *Candida*. Se administra habitualmente como Anfotericina B liofilizada para inyección, pero presenta baja penetración ocular y elevada nefrotoxicidad. En gotas oftálmicas su penetración ocular es mínima, debido a que el espacio corneal es limitado, al rápido desplazamiento por lagrimeo, la baja biodisponibilidad ocular e irritación ocular. Se utiliza la combinación de liposomas con polímeros mucoadhesivos y biodegradables para aumentar el tiempo de permanencia en la córnea y la conjuntiva, y aumentar así la biodisponibilidad del fármaco. (1) (7) (27) (28) (29)

Fluconazol: el fluconazol se utiliza en el tratamiento de keratitis por *Candida* mediante administración liposomal (2 mg/ml) por instilación tópica. Se consiguió el incremento de su semivida en conejos. (3) (30) (31)

2.2.1.4. Antiinflamatorios y agentes inmunomoduladores

Dexametasona: los esteroides tópicos tienen muy poca penetración ocular a través del epitelio corneal intacto. Gracias a la utilización de liposomas se pueden conseguir concentraciones más elevadas de la sustancia activa en la córnea, humor acuoso, iris, cuerpo ciliar y esclera, según un estudio realizado en conejos. (7) (32)

Ciclosporina: es el inmunosupresor más utilizado en el tratamiento de enfermedades como uveítis o rechazo a un injerto corneal. Su uso en forma liposomal da lugar a concentraciones superiores del fármaco en la córnea, esclera anterior, humor vítreo y acuoso, en comparación con su uso en formulaciones oleosas. También ha sido estudiado ante patologías inmunomediadas del segmento posterior. (1) (7) (33)

Difosfonato de diclorometilo: se ha estudiado en ratas y conejos en formulaciones liposomales de administración tópica, en casos de rechazo a injertos corneales en keratoplastia, demostrando su acción sobre la actividad citotóxica de linfocitos T y la formación de anticuerpos contra antígenos del injerto, resultando en la prevención del rechazo. (7)

Diclofenaco: se utiliza en forma de sal sódica en solución al 0,1% en el tratamiento de enfermedades oftálmicas que cursan con dolor e inflamación. Al pH fisiológico del fluido lagrimal se encuentra mayoritariamente en forma ionizada, por lo que su absorción es muy

limitada. Se han ensayado formulaciones de liposomas catiónicos que contienen este agente antiinflamatorio obtenidas mediante evaporación de fase inversa, y se ha estudiado su uso tópico en conejos. En comparación con la solución, el aclaramiento precorneal de los liposomas fue más lento, y la concentración máxima en córnea y humor acuoso, así como la biodisponibilidad del fármaco, fueron mayores. (4)

Utilizando el método de gradiente de acetato cálcico en la preparación de la formulación de liposomas, se consigue una encapsulación del diclofenaco con una mayor eficacia en comparación con el método convencional por hidratación. La modificación de los liposomas con PVA o PVA-R mejoró la estabilidad física de los liposomas. (34)

Tacrolimus: en un estudio sobre el uso de liposomas de tacrolimus compuestos por tres tipos de sales biliares (glicolato, desoxicolato, y taurocolato sódicos) para evaluar su penetración transcorneal, así como la absorción y posible toxicidad. Para su preparación se utilizó un método de dispersión en capa fina. Se propone su uso en el tratamiento del rechazo tras un trasplante corneal. (35)

2.2.1.5. Agentes antiglaucomatosos

Brinzolamida: se trata de un Inhibidor de la anhidrasa carbónica para el tratamiento de glaucoma de ángulo abierto e hipertensión ocular. Se estudia su uso en nanoliposomas modificados con TPGS (d-alfa-tocofenil polietilenglicol 1000 succinato) de administración tópica, con los que se consigue aumentar la penetración corneal y el tiempo de retención del fármaco. (36)

Demeclocilina (DEM): la demeclocilina reduce la presión intraocular por bloqueo de la desmopresina. En este estudio se llevó a cabo la comparación entre la administración tópica de la solución de pilocarpina actualmente comercializada, y la demeclocilina encapsulada en liposomas catiónicos. La formulación liposomal logró efectos terapéuticos en conejos más rápido, cuando administrada 3 veces al día durante 3 días. (37)

2.2.1.6. Otros usos

siGP (glucógeno fosforilasa silenciada) + siSP (serin fosfatasa silenciada): estudio del uso de liposomas catiónicos pegilados para proteger siRNA utilizado en el tratamiento de keratitis ocular sobre la superficie del ojo. Se ha evaluado su empleo en un modelo murino combinándolo también con clorhexidina. Este último produjo los mejores resultados en el estudio. (38)

Análogos de cGMP: la diana es la señalización del cGMP, que es una molécula clave en la transducción de la célula fotorreceptora de la retina. Se estudia en formulación liposomal como protector en retinopatía degenerativa hereditaria, ya que niveles anormalmente altos de cGMP en los fotorreceptores se considera una característica común a varios tipos de esta patología. En este trabajo se combinaron inhibidores de cGMP encapsulados en nanoliposomas que funcionen como sistemas de liberación capaces de facilitar el transporte hasta la retina. (39)

2.2.2. Administración intraocular y periocular

2.2.2.1. Antivirales

Aciclovir: se ha evaluado la administración intravítrea de liposomas para las retinitis virales, por *Citomegalovirus* (CMV) o necrosis retinal aguda (ARN). En cuanto a la utilización de estos sistemas por vía periocular, se observó que las concentraciones intravítreas de aciclovir superaron la concentración mínima inhibitoria para *Herpes simplex virus 1* y *2* tras la inyección subconjuntival de las vesículas. Se ha descubierto que aciclovir incorporado a inmunoliposomas con las proteínas del virus HSV 1 como diana, frena la replicación viral en córneas de ratones mejor que el fármaco libre o en forma de liposomas convencionales. (7)

Ganciclovir: en este estudio se llevó a cabo la comparación entre la administración subconjuntival de ganciclovir y en encapsulado de liposomas. Las concentraciones intravítreas de la sustancia activa administrada en forma de liposomas resultaron superiores en un 50% a la dosis inhibitoria para determinadas cepas de la familia del virus *Herpes simplex*. No se observó toxicidad asociada a la administración del fármaco. (21)

2.2.2.2. Antibacterianos

Tobramicina: el estudio de liposomas cargados con tobramicina en administración subconjuntival en conejos se comparó con su administración liposomal tópica y la inyección subconjuntival del fármaco libre, consiguiendo los mejores resultados en administración subconjuntival de la forma liposomal. (1) (7) (40)

Clindamicina: estudio de los efectos de inyecciones intravítreas de 750µg/0.1ml en comparación con inyecciones de fármaco libre. (1) (41)

Gentamicina: se llevó a cabo un estudio en conejos para el tratamiento de keratitis. Se utilizaron formulaciones de liposomas y se compararon con el fármaco libre, ambos administrados mediante inyección subconjuntival. Las concentraciones de sustancia activa alcanzada en la córnea en las primeras 24 horas fueron de 5 a 20 veces superiores utilizando la formulación liposomal. (1) (7)

2.2.2.3. Antiinflamatorios e inmunomoduladores

Dexametasona: la inyección intravítrea de liposomas cargados con dexametasona se ha ensayado con el objeto de demostrar la llegada del principio activo hasta el nervio óptico. (14)

Tacrolimus: tras una única inyección intravítrea de tacrolimus encapsulado en liposomas se consiguió mantener una concentración vítreo durante 14 días. (1) (3) (7) (42)

Semaxanib (SU 5416): se ha estudiado el uso de liposomas modificados con APRPG (Ala-Pro-Arg-Pro-Gly), un péptido dirigido a vasos angiogénicos, en el tratamiento de neovascularización coroidea mediante inyección intravítrea única. El fármaco encapsulado es un inhibidor de la angiogénesis. (43)

2.2.2.4. Agentes antiglaucomatosos

Latanoprost: en forma de liposomas, los únicos fármacos que han pasado de fase preclínica a clínica incluyen liposomas convencionales portadores de latanoprost para administración subconjuntival. Se han completado las fases 1 y 2 de seguridad y eficacia para estos liposomas para el tratamiento de hipertensión ocular y glaucomas de ángulo abierto primario (*Ensayos clínicos* (44) (45)). Mediante inyección subconjuntival única de latanoprost liposomal en ojo de conejo se observó una disminución sostenida de la presión intraocular por un periodo superior a 50 días, en comparación con la disminución de la presión intraocular que se consigue con la administración diaria del fármaco en forma de colirio. (1) (3) (46)

2.2.2.5. Otros usos

5-Fluorouracilo: se ha ensayado el uso de liposomas en el tratamiento de la vitreoretinopatía proliferativa (PUR). Tras la administración subconjuntival las concentraciones intravítreas de la forma liposomal fueron casi el doble de altas que las conseguidas con el fármaco libre. Tras la inyección intravítrea, las concentraciones fueron 5 veces superiores. (1) (7) (47)

Edaravone: se estudió su uso en patologías que cursan con daño retinal debido a estrés oxidativo, como la degeneración macular asociada a la edad, retinopatía diabética, retinitis pigmentosa o daño del nervio óptico asociado a glaucoma. En formulación liposomal logró reducir de forma más efectiva el daño retinal en comparación con el fármaco libre, tras administración por inyección intravítrea. Esto se consigue por aumento del tiempo de residencia del fármaco en la retina y mejora de la absorción celular. (48)

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo indican la ventaja de las formulaciones liposomales de administración ocular respecto al tratamiento tradicional, suponiendo una alternativa al mismo.

Gracias al desarrollo de estos nuevos sistemas de administración se puede conseguir mejorar el tiempo de residencia del fármaco en la superficie ocular y aumentar su penetración corneal, en el caso de la administración tópica, así como reducir la toxicidad y dirigir la administración hacia el tejido diana en administración intraocular y periocular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Eldem T, Eldem B. Ocular drug, gene and cellular delivery systems and advanced therapy medicinal products. *Turk J Ophthalmol.* 2018; 48: p. 132-141.
2. A, López. Liposomas de PC-PEG-TRAVAPROST para el tratamiento sostenido de la presión intraocular en la enfermedad de glaucoma [tesis]. Cimav. 2014.
3. Patel A, Cholkar K, Agrahari V, Mitra AK. Ocular drug delivery systems: An overview. *World J Pharmacol.* 2013; 2: p. 47-64.
4. Agarwal R, Iezhita I, Agarwal P, Abdul Nasir NA, Razali N, Alyautdin R, et al. Liposomes in topical ophthalmic drug delivery: an update. *Jour Drug Delivery.* 2014; 943336: p. 1075-1091.
5. Herrero-Vanrell R, Vicario de la Torre M, Andrés-Guerrero V, Barbosa-Alfaro D, Molina-Martínez IT, Bravo-Osuna I. Nano and microtechnologies for ophthalmic administration, an overview. *J Drug Del Sci Tech.* 2013; 23(2): p. 75-102.
6. Martínez R. Dispersiones coloidales y geles. In *Tratado de tecnología farmacéutica.* Madrid: Síntesis; 2016. p. 214-215.
7. Ebrahim S, Payman GA, Lee PJ. Applications of liposomes in ophthalmology. *Surv Ophthalmol.* 2005; 50: p. 167-182.
8. Martínez R. Formas de administración oftálmica. In *Tratado de tecnología farmacéutica. Volumen 3: Formas de dosificación.* Madrid: Síntesis; 2017.
9. Sánchez-López E, Espina M, Doktorovova S, Souta EB, García ML. Lipid nanoparticles (SLN,NLC): Overcoming the anatomical and physiological barriers of the eye - Part 1 - Barriers and determining factors in ocular delivery. *Eur J Pharm Biopharm.* 2017; 110: p. 70-75.
10. Lozano M, Córdoba D, Córdoba M. Formas de administración ocular. In *Manual de tecnología farmacéutica.* Madrid: Elsevier; 2012. p. 393-401.
11. Domenech J, Martínez J, Peraire C. Administración de fármacos por vía nasal, oftálmica y ótica. In *Tratado general de biofarmacia y farmacocinética. Volumen II. Vías de administración de fármacos: aspectos biofarmacéuticos. Farmacocinética no lineal y clínica.* Madrid: Síntesis; 2013. p. 143-155.
12. Tsai CH, Wang PY, Lin IC, Huang H, Liu GS, Tseng CL. Ocular drug delivery: Role of degradable polymeric nanocarriers for ophthalmic application. *Int J Moi Sci.* 2018; 19(9): p. 2830.
13. Meyer CH, Krohne TU, Charbel Issa P, Liu Z, Holz FG. Routes for drug delivery to the eye and retina: intravitreal injections. *Dev Ophthalmol.* 2016; 55: p. 63-70.
14. Lee J, Goh U, Park J, Park S, Heo H. Effective delivery of exogenous compounds to the optic nerve by intravitreal injection of liposome. *Korean J Ophthalmol.* 2018; 32(5): p. 417-423.
15. Sasaki H, Karasawa K, Hironaka K, Tahara K, Tozuka Y, Takeuchi H. Retinal drug delivery using eyedrop preparations of poly-L-lysine-modified liposomes. *Eur J Pharm Biopharm.* 2013; 83(3): p. 364-369.
16. Lee J, Goh U, Lee HJ, Kim J, Jeong M, Park JH. Effective Retinal Penetration of lipophilic and lipid-conjugated hydrophilic agents delivered by engineered liposomes. *Mol Pharm.* 2017; 14(2): p. 423-430.
17. Estevefarma. [Online]. [cited 2019 Marzo 3. Available from: <https://www.estevefarma.com/productos/aquoral>.
18. Anfotericina B 0.5% Colirio (Fórmula Magistral). [Online]. [cited 2019 Marzo 3. Available from: http://www.madrid.org/cs/Satellite?c=Page&cid=1354537991748&pagename=HospitalGregorioMaranon%2FPPage%2FHGMA_contenidoFinal.
19. Wang MT, Ganesalingam K, Loh IS, Albuquerque T. Compatibility of phospholipid liposomal spray with silicone hydrogel contact lens wear. *Cont Lens Anterior Eye.* 2017; 40(1): p. 53-58.
20. Craig JP, Purslow C, Murphy PJ, Wolffsohn JS. Effect of a liposomal spray on the pre-ocular tear film. *Cont Lens Anterior Eye.* 2010; 33: p. 83-87.
21. Bochot A, Fattal E. Liposomes for intravitreal drug delivery: A state of the art. *J Control Release.* 2012; 161: p. 628-634.
22. Chetoni P, Monti D, Tampucci S, Matteoli B, Ceccherini-Nelli L, Subissi A. Liposomes as a potential ocular delivery system of distamycin A. *Int J Pharm.* 2015; 492(1-2): p. 120-126.
23. Law SL, Huang KJ, Chiang CH. Acyclovir-containing liposomes for potential ocular delivery. Corneal penetration and absorption. *J Control Release.* 2000; 63: p. 135-140.

24. Lin HH, Ko SM, Hsu LR, Tsai YH. The preparation of norfloxacin-loaded liposomes and their in-vitro evaluation in pig's eye. *J Pharm Pharmacol.* 1996; 48: p. 801-805.
25. Abdelbary G. Ocular ciprofloxacin hydrochloride mucoadhesive chitosan-loaded liposomes. *Pharm Dev Technol.* 2011; 16: p. 44-56.
26. Hosny KM. Ciprofloxacin as ocular liposomal hydrogel. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2010; 11: p. 241-246.
27. Fu T, Yi J, Lu S, Zhang B. Ocular amphotericin B delivery by chitosan modified nanostructured lipid carriers for fungal keratitis-targeted therapy. *J Liposome Res.* 2017; 27(3): p. 228-233.
28. Tremblay C, Barza M, Szoka F, Lahav M, Baum J. Reduced toxicity of liposome-associated Amphotericin B injected intravitreally in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1985; 26: p. 711-718.
29. Pleyer U, Grammar J, Pleyer JH, Kosmidis P, Friess D, Schmidt KH, Thiel HJ. Amphotericin B-bioavailability in the cornea. Studies with local administration of liposome incorporated amphotericin B. *Ophthalmologe.* 1995; 92: p. 469-475.
30. Abdel-Rhman MS, Soliman W, Habib F, Fathalla D. A new long-acting liposomal topical antifungal formula: human clinical study. *Cornea.* 2012; 31: p. 126-129.
31. Habib FS, Fouad EA, Abdel-Rhman MS, Fathalla D. Liposomes as an ocular delivery system of fluconazole: in vitro studies. *Acta Ophthalmol.* 2010; 88: p. 901-904.
32. Choksi A, Sarojini KVL, Vadnal P, Dias C, SureshPK, Khandare J. Comparative anti-inflammatory activity of poly (amidoamine)(PAMAM) dendrimer-dexamethasone conjugates with dexamethasone-liposomes. *Int J Pharm.* 2013; 449(1-2): p. 28-36.
33. Pleyer U, Elkins B, Rückert D, Lutz S, Grammar J, Chou J, Schmidt KH, Mondino BJ. Ocular absorption of cyclosporine A from liposomes incorporated into collagen shields. *Curr Eye Res.* 1994; 13(3): p. 177-181.
34. Fujisawa T, Miyai H, Hironaka K, et al. Liposomal diclofenac eye drop formulations targeting the retina: formulation stability improvement using surface modification of liposomes. *Int J Pharm.* 2012; 436: p. 564-567.
35. Dai Y, Zhou R, Liu L et al. Liposomes containing bile salts as novel ocular delivery systems for tacrolimus (FK506): in vitro characterization and improved corneal penetration. *Int J Nanomedicine.* 2013; 8: p. 1921-1933.
36. Jin Q, Li H, Jin Z, Huang L, Wang F, Zhou Y. TPGS modified nanoliposomes as an effective ocular delivery system to treat glaucoma. *Int J Pharm.* 2018; 553(1-2): p. 21-28.
37. Afouna MI, Khattab IS, Reddy IK. Preparation and characterization of demeclocycline liposomal formulations and assessment of their intraocular pressure-lowering effects. *Cutan Ocul Toxicol.* 2005; 24: p. 111-124.
38. Zorzi GK, Schuh RS, Maschio VJ, Brazil NT, Rott MB, Teixeira HF. Box Behnken design of siRNA-loaded liposomes for the treatment of a murine model of ocular keratitis caused by *Acanthamoeba*. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2019; 173: p. 725-732.
39. Vighi E, Trifunovic D, Veiga-Crespo P, Rentsch A, Hoffmann D, Sahaboglu A. Combination of cGMP analogue and drug delivery system provides functional protection in hereditary retinal degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2018; 115(13): p. E2997-E3006.
40. Assil KK, Fruchr-Perry J, Ziegler E, Schanzliaf DJ, Schneiderman T, Weinreb RN. Tobramycin liposomes. Single subconjunctival therapy of pseudomonas keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1991; 32: p. 3216-3220.
41. Fiscella R, Peyman GA, Fishman GH. Duration of therapeutic levels of intravitreally injected liposome-encapsulated clindamycin in the rabbit. *Can J Ophthalmol.* 1987; 22: p. 307-309.
42. Zhang R, He R, Quan J, Guo J, Xue K, Yuan YF. Treatment of experimental autoimmune uveoretinitis with intravitreal injection of tacrolimus (FK 506) encapsulated in liposomes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51: p. 3575-3582.
43. Honda M, Asai T, Umamoto T, Araki Y, Oku N, Tanaka M. Suppression of choroidal neovascularization by intravitreal injection of liposomal SU5416. *Arch Ophthalmol.* 2011; 123(3): p. 317-321.
44. NCT01987323, Safety and efficacy of liposomal latanoprost in ocular hypertension. .
45. NCT02466399, An open-label comparison of the safety and efficacy of subconjunctival liposomal latanoprost (Polat 001). .
46. Natarajan JV, Ang M, Darwitan A, Chattopadhyay S, Wong TT, Venkatraman SS. Nanomedicine for glaucoma: liposomes provide sustained release of

- latanoprost in the eye. *Int J Nanomedicine*. 2012; 7: p. 123-131.
47. Joondeph BC, Peyman GA, Khoobehi B, Yue BY. Liposome encapsulated 5-fluorouracil in the treatment of proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmic Surg*. 1988; 19: p. 252-256.
48. Hironaka K, Inokuchi Y, Fujisawa T, et al. Edaravone-loaded liposomes for retinal protection against oxidative stress-induced retinal damage. *Eur J Pharm Biopharm*. 2011; 79: p. 119-125.
49. Carvalho ELS, De la Fuente M, Seijo B. El potencial de los liposomas como formas de administración ocular de fármacos. *Arch Soc Esp Ophthalmol*. 2004; 79(4).
50. Martínez R. Micro y nano encapsulación de fármacos. In *Tratado de tecnología farmacéutica. Volumen II: Operaciones básicas*. Madrid: Síntesis; 2017.
51. Phua J, Hou A, Lui Y, Bose T, Chandy G. Topical delivery of senicapoc nanoliposomal formulation for ocular surface treatments. *International Journal of Molecules Science*. 2018; 19(10): p. 2977.
52. Masuda I, Matsuo T, Yasuda T, Matsuo N. Gene transfer with liposomes to the intraocular tissues by different routes of administration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996; 37: p. 1914-1920.
53. Fishman PH, Peyman GA, Lesar T. Intravitreal liposome-encapsulated gentamicin in a rabbit model. Prolonged therapeutic levels. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1986; 27: p. 1103-1106.
54. Fishman P, Peyman GA, Hendricks R, Hui SL. Liposome encapsulated 3H-%FU in rabbits. *Int Ophthalmol*. 1989; 13: p. 361-365.
55. Lajunen T, Nurmi R, Kontturi L, Viitala L, Yliperttula M, Murtomaki L, Urtti A. Light activated liposomes: functionality and prospects in ocular drug delivery. *J Control Release*. 2016; 244: p. 157-166.
56. Arroyo CM, Quinteros D, Cózar-Bernal MJ, Palma SD, Rabasco AM, González-Rodríguez ML. Ophthalmic administration of a 10-fold-lower dose of conventional nanoliposome formulations caused levels of intraocular pressure similar to those induced by marketed eye drops. *Eur J Pharm Sci*. 2017; 111: p. 186-194.
57. FDA Federal Registrar, Vol 80, No 210, Liposome drug products: chemistry, manufacturing and controls; Human pharmacokinetics and bioavailability and labeling documentation; Draft Guidance for Industry, 2015. .
58. Yasukawa T, Ogura Y, Tabata Y, Kimura H, Wiedemann P, Honda Y. Drug delivery systems for vitreoretinal diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2004; 23(3): p. 253-281.
59. Sánchez-López E, Espina M, Doktorovova S, Souto EB, García ML. Lipid nanoparticles (SLN, NLC): Overcoming the anatomical and physiological barriers of the eye - Part II - Ocular drug-loaded lipid nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm*. 2017; 110: p. 58-69.
60. Gregoriadis G, Ryman BE. Liposomes as carriers of enzymes or drugs: A new approach to the treatment of storage diseases. *Biochem J*. 1971; 124: p. 58.
61. Cullis PR, Mayer LD, Bally MB, Madden TD, Hope MJ. Generating and loading of liposomal systems for drug delivery applications. *Adv Drug Del Rev*. 1989; 3: p. 267-282.
62. Berger W, Kloeckener-Gruissem B, Neidhardt J. The molecular basis of human retinal and vitreoretinal diseases. *Prog Retin Eye Res*. 2010; 29: p. 335-375.
63. Cholkar K, Dasari SR, Pal D, Mitra AK. Eye: Anatomy, physiology and barriers to drug delivery. *Woodhead Pub Lim*. 2013;: p. 1-36.
64. Radhika M, Mithal K, Bawdekar A, Dave V, Jindal A, Relhan N, et al. Pharmacokinetics of intravitreal antibiotics in endophthalmitis. *J Ophthalmic Inflamm Infect*. 2014; 4: p. 22.
65. Eljarrat-Binstock E, Pe'er J, Domb AJ. New techniques for drug delivery to the posterior eye segment. *Pharm Res*. 2010; 27(4): p. 530-543.
66. Mishra GP, Bagui M, Tamboli V, Mitra AK. Recent applications of liposomes in ophthalmic drug delivery. *Jour Drug Delivery*. 2011; 863734.
67. Ahmed I, Gokhale RD, Shah MV, Patton TF. Physicochemical determinants of drug diffusion across the conjunctiva, sclera and cornea. *J Pharm Sci*. 1987; 76: p. 583-586.
68. Mokhtar Ibrahim M, Tawfique SAH, Mahdy MM. Liposomal diltiazem HCl as ocular drug delivery system for glaucoma. *Drug Dev Ind Pharm*. 2014; 40: p. 765-773.