

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA



TRABAJO DE FIN DE GRADO

“FORMULACIONES VAGINALES PARA LA PREVENCIÓN DEL SIDA (II)”

Autora: Teresa Molina Giles

Tutor: Roberto Ruiz Caro

Convocatoria: 21 Junio 201

1. RESUMEN

El SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Humana) es una enfermedad inmunodegenerativa para la que no existe un tratamiento definitivo, por lo que es necesario prevenir su contagio, habitualmente con el uso del preservativo y con la realización de análisis periódicos. En este caso hablaremos de la profilaxis del contagio de hombre a mujer mediante el uso de fórmulas vaginales, cuyo estudio ha pasado desde las formas más básicas como geles que suponen una barrera al inactivar el virus, hasta anillos vaginales que contienen fármacos que liberan de forma prolongada. Con los avances de la ciencia en el descubrimiento de los antirretrovirales, los nuevos materiales y la modificación genética de plantas y microorganismos, han ido mejorando los métodos de prevención ante el contagio vía vaginal.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Si se ampliara el tratamiento antirretrovírico a todas las personas portadoras de VIH (*Virus de la Inmunodeficiencia Humana*) y aumentaran las opciones preventivas se podrían evitar 21 millones de muertes relacionadas con el SIDA y 28 millones de nuevas infecciones para 2030, según la OMS. ¹ Existe un amplio grupo de riesgo que son las mujeres cuya situación no les permite garantizar su protección frente al VIH bien por el no uso del preservativo o por no practicar la monogamia.

El VIH-1 y el VIH-2 pertenecen a la familia de los *lentivirus*, mientras que el segundo se encuentra restringido en algunas zonas de África Oeste y en países con lazos comerciales o históricos, el VIH-1 se encuentra diseminado por todo el mundo.

El VIH es un retrovirus cuya enzima transcriptasa reversa es capaz de crear ADN a partir de ARN viral, se integra en el genoma de las células huésped (principalmente linfocitos CD4+) y se producen finalmente nuevos viriones. ² Podemos clasificar los principales antirretrovirales según el momento del ciclo vírico en el que actúan. ³

- La **entrada** del virus, en la que se une a la superficie de la célula. Los principales son Maraviroc que inhibe la unión, y Efurvitide (T-20) que inhibe la fusión del virus con la membrana tras la que se produce la internalización del mismo.
- La **transcripción reversa**, que puede inhibirse mediante inhibidores que actúan sobre la enzima transcriptasa inversa. Pueden ser nucleosídicos como Zidovudina (AZT),

Tenofovir (TFV), Emtricitabina, Lamivudina (que además actúan frente al virus de la hepatitis B) y Abacavir. A la combinación de Tenofovir Disoproxil Fumarato (TDF) y Emtricitabina se la conoce como Truvada. Éste último está recomendado como primer tratamiento profiláctico para prevenir el VIH en adultos sanos con elevado riesgo de infectarse.³ También hay inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleosídicos como Delavirdina, Efavirenz, Rilpivirina, Etravirina y Nevirapina.

- La **integración** del ADN viral en el ADN de la célula huésped es producida por la enzima integrasa, los inhibidores Raltegravir y Elvitegravir son los más utilizados.
- La **replicación** se produce después de la integración y sucede cuando la célula ya está activada. Se producen las proteínas víricas a partir del ADN integrado en la célula, con las mismas se procede al ensamblaje en la membrana.
- La **maduración** se produce una vez el virus es liberado y una proteasa vírica es la responsable de transformarlo en una partícula viral infecciosa. Los inhibidores de la proteasa evitan así el paso final del ciclo. Suelen administrarse asociados con otros dos antirretrovirales nucleosídicos, y los más utilizados son Darunavir y Atazanavir.

El virus en individuos seropositivos se encuentra en la sangre, y como consecuencia en el semen y las mucosas, y por esta vía se produce el contagio más fácilmente. El mecanismo de permeación en la vagina para la mayoría de sustancias es por difusión pasiva, las sustancias lipófilas atraviesan los poros mientras que las hidrófilas utilizan la ruta intracelular. La absorción, distribución y eliminación se pueden simplificar con un modelo farmacocinético de primer orden. A pesar de la alta permeabilidad de esta zona, nos interesa que las fórmulas farmacéuticas que se vayan a utilizar permanezcan el tiempo necesario. La superficie interior de la vagina tiene numerosos pliegues por lo que las paredes están en contacto y ejercen una cierta presión, lo cual es una ventaja.

El epitelio vaginal permite el paso de los xenobióticos y varía según los estímulos hormonales (en la fase luteal aumenta el diámetro de los canales y la absorción será mayor) La secreción que baña el epitelio tiene una alta carga microbiana saprófita que fundamentalmente son lactobacilos. Debido a la secreción de ácido láctico y peróxido de hidrógeno el pH de la vagina está entre 3,8 y 4,2. Es importante ya que las fórmulas deberán adaptarse a las condiciones de la vagina. Deben ser fáciles de aplicar sin asistencia médica, no deben dañar el epitelio ni la flora, deben permanecer en contacto

con la pared vaginal, poseer una alta biodisponibilidad y mínima interferencia con el modo de vida del paciente. Todas ellas deben presentar una adecuada viscosidad, isotonicidad y pH. Podrían clasificarse las principales fórmulas vaginales en:

- Los geles, que tienen muchas ventajas por sus propiedades reológicas, biocompatibilidad y biodisponibilidad de los fármacos en los mismos.
- Los óvulos, preparaciones unidosos de consistencia semisólida y de entre 1 y 15 g. Para su formulación se emplean bases hidrófilas formadas por glicerogelatina o polietilenglicoles.
- Los comprimidos vaginales cuya composición es similar a los comprimidos convencionales, pero que a diferencia de éstos carecen de aristas. Suele utilizarse lactosa como excipiente ya que es un sustrato para la microflora vaginal, excipientes de carácter ácido y tensioactivos suaves con capacidad humectante.
- El anillo vaginal es un sistema de dosificación de fármacos muy estudiado, tiene la ventaja de que consigue concentraciones plasmáticas constantes y prolongadas. Hecho a base de polímeros como acetato de viniletileno, polisiloxano, etc.

Además, la Real Farmacopea Española distingue otras formulaciones vaginales: cápsulas vaginales, disoluciones, emulsiones, suspensiones vaginales, comprimidos para disoluciones y suspensiones vaginales, preparaciones vaginales semisólidas, espumas vaginales y tampones vaginales medicamentosos.⁵ Otros avances en este campo están enfocados en los probióticos modificados, microorganismos propios de la flora saprófita que además de evitar infecciones asociadas al virus de la inmunodeficiencia podría evitar su propio contagio.⁶ Lo más novedoso sin embargo son los films a base de sistemas nanopoliméricos (NPs) que actúan como protectores vaginales ante el VIH. Los films son finos, suaves, flexibles y translúcidos, tienen formas cuadradas y son hojas que se obtienen por fusión o por extrusión en caliente. De momento se ha comprobado que los NPs en sistemas de film son más adecuados para la liberación intravaginal de microbicidas. Pese a los buenos resultados, los films presentan aún algunos problemas y se están buscando sistemas similares, con ingeniería biomédica, como la asociación de NPs a fibras poliméricas.⁷

3. OBJETIVOS

A 30 de junio de 2016 se habían recibido las notificaciones de 3428 nuevos casos de diagnósticos en el año 2015 en España. Entre las mujeres, la transmisión heterosexual es más frecuente que la homosexual, constituyendo un 79'5% de los nuevos diagnósticos en mujeres.⁸ Se hace necesario reforzar los métodos de profilaxis, y una buena opción es protegiendo a las mujeres del contagio vía sexual.

El objetivo principal del trabajo será encontrar la protección frente a la infección por el VIH-1 por contagio via vaginal en mujeres heterosexuales que sea eficaz y segura, y como consecuencia disminuir la incidencia de la enfermedad. Los objetivos secundarios serán encontrar formulaciones que sean adecuadas y para las que se produzca adherencia al tratamiento, además de hacer un repaso por los hallazgos ya realizados y actualizar los datos hasta el momento.

4. METODOLOGÍA

Se ha realizado una búsqueda a través de los principales medios que tuvieran acceso a publicaciones relacionadas con el tema. Los principales motores de búsqueda utilizados fueron en primer lugar Google Scholar, con acceso a servidores como PubMed y SciELO. Una vez formalizada la estructura del trabajo y el contenido del mismo, se ha procedido a la búsqueda específica a través de las fuentes de búsqueda más completas y actualizadas. Además se han utilizado datos procedentes del INE, de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid (COFM) y se han consultado libros disponibles gracias a la Biblioteca de la Facultad de Farmacia, tanto en formato físico como online. Las palabras clave más utilizadas fueron “Antirretrovirales”, “Antivirales”, “Fórmulas vaginales”, “Microbicidas”, “Prevención de VIH” y principalmente búsquedas en lengua inglesa.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los microbicidas son compuestos que pueden ser aplicados vía intravaginal para prevenir infecciones de transmisión sexual. Deberían tener un amplio espectro de actividad frente a las principales secuencias del VIH; selectividad hacia el virus o hacia determinadas células hospedadoras; prevención de la transmisión del virus entre unas células y otras; estabilidad tanto *in vitro* como *in vivo*, que respete la mucosa, ausencia de toxicidad en la superficie de la misma, incluyendo irritación directa, inmunogenicidad, mutagenicidad;

y por último que sea posible su producción en grandes cantidades de una forma económica. ⁹ A continuación se realizará un breve análisis de la evolución en estas formulaciones.

5.1.AGENTES SURFACTANTES EN GELES

Los agentes surfactantes son moléculas tensoactivas con características anfifílicas, pueden formar geles y según su comportamiento pueden diferenciamos distintos tipos: iónicos (si la parte hidrofílica de la molécula es negativa, son aniónicos; si la parte hidrofílica es positiva, son catiónicos), no iónicos (son moléculas que no se dividen en iones, si no en parte polar y parte apolar) o anfóteros (cambian su comportamiento según el pH del medio, se utilizan mucho por sus características humectantes y solubilizantes en este tipo de fórmulas.

- Nonoxynol-9 es un surfactante no iónico cuya fórmula había sido aprobada como espermicida. ¹⁰ En las pruebas *in vitro* de este surfactante se observó una actividad anti-VIH-1, pero los resultados *ex vivo* no eran concluyentes por lo que se realizó un estudio sobre la efectividad del gel COL-1492, el cual contiene éste surfactante. Fue un ensayo fase II/III, triple ciego, randomizado y controlado con placebo en trabajadoras sexuales de 4 países con alto riesgo de contraer VIH. En el ensayo no solo se llegó a la conclusión de que COL-1492 no ejercía un efecto protector, sino que además se comprobó que había mayor riesgo de padecer VIH debido a la irritación del epitelio vaginal que podría provocar el producto. ¹¹
- El cloruro de benzalconio es un surfactante catiónico que también se utilizaba como espermicida al igual que el anterior, no obstante se observó un incremento de las citoquinas proinflamatorias por lo que no se pudo utilizar como microbicida. ¹²
- C31G o SAVVY es un surfactante anfótero rápidamente suspendido de los ensayos clínicos por su inutilidad, aunque llegó a estudios de fase III. No se pudo determinar que hubiera un efecto perjudicial del gel, pero tampoco se pudo demostrar protección frente al virus. ¹³

5.2.POLIANIONES EN GELES

Los polianiones que reaccionan con la glicoproteína viral 120 (gp120) con carga positiva, son aquellos que tienen cargas negativas debido a los sulfatos, impidiendo la entrada del virus a las células diana. Se ha visto que tienen mayor capacidad de bloquear aquellos

virus que utilizan el correceptor CXCR4 que los que poseen el CCR5, pero son los virus que utilizan este último los más vinculados a la transmisión del VIH. ¹⁴

- PRO2000 es un polianión cuyo principio activo, el sulfonato de naftaleno, había demostrado tanto *in vitro* como en macacos protección frente al VIH. El estudio en mujeres se realizó con gel PRO2000 al 2% y al 0,5%. En el caso del primero, el estudio se abandonó debido a que se observó cierta inflamación en la zona de aplicación que podría provocar aún más la transmisión del virus. Tampoco se obtuvieron buenos resultados con el gel al 0,5% ya que no se observó una disminución significativa de la incidencia respecto al grupo placebo. ¹⁵
- Sin embargo se cambió el polianión PRO2000 por el gel 3% StarPharma LTD 7013 (VivaGel®). En este caso se basa en polímeros dendrímeros con un núcleo de bencil hidramina y ramificaciones que proporcionan a la molécula una alta carga aniónica. Esto hace que supere en tamaño a los polianiones del anterior y pueden atrapar fácilmente al virus. VivaGel® ha demostrado una potente actividad antiviral para VIH-1 y también para VHS-2 (*Herpes Simplex Virus*) inmediatamente después de su aplicación e incluso 3 horas después. A pesar de que no se encontraron pruebas de que produjera algún tipo de irritación, más tarde se hizo un estudio en el que se comprobó que el uso del gel provocaba un aumento de biomarcadores inmunológicos asociados a inflamación y daño del epitelio de forma reversible. ¹⁶
- Carraguard® (PC-515) es un gel que contiene carragenina, un polisacárido producido por las algas *Rhodophyceae*, un vehículo muy adecuado para estas formulaciones, ya que aunque no se pudo demostrar un efecto anti-VIH-1 debido a la falta de adherencia al tratamiento durante el ensayo, no produce daño alguno y tiene unas buenas características reológicas. ¹⁷ Un estudio de fase III realizado a raíz del anteriormente citado, sugirió que la carragenina podría bloquear la transmisión del *Papillomavirus* (HPV) ¹⁸
- El gel de celulosa-acetato-ftalato (CAP) forma una matriz que impide la entrada del VIH en la célula, bloqueando las glucoproteínas de membrana virales. Se realizó un estudio en macacos donde se demostró que CAP es efectivo frente al VISH (*Virus de la Inmunodeficiencia Simia/Humana*) de ambos tipos X5 y R5 *in vivo*. ¹⁹ También ha mostrado protección frente al Virus del Herpes Simple (VHS-1 y VHS-2).
- Por último, un gel de sulfato de celulosa, un compuesto polianiónico derivado del algodón, Ushercell® llegó a estudios de fase III. Este estudio tuvo que ser cerrado

después de que se obtuvieran los primeros datos que indicaban que las pacientes que utilizaban el gel tenían una tasa de infección por VIH mayor que las que utilizaban placebo. *In vitro* se observó que el gel tenía un efecto bifásico: a altas concentraciones inhibía la infección pero a bajas concentraciones incrementaba las tasas de infección de forma significativa. Se llegó a la conclusión de que Ushercell® no es seguro para la aplicación sobre mucosas en humanos. ²⁰

5.3.AGENTES ACIDIFICANTES EN GELES

Los agentes acidificantes mantienen la acidez normal de la vagina. El semen y muchos patógenos responsables de infecciones, incluyendo el *Herpes Simplex Virus* (HSV-1 y HSV-2), *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi* y varias bacterias asociadas a la vaginosis de transmisión sexual son inactivados *in vitro* a un pH por debajo de 5.

- BufferGel® es un gel acuoso, formulado a pH 3,9 que tampona el doble de su volumen de semen hasta un pH menor o igual a 5, manteniendo una acidez protectora de la vagina durante el coito. La sustancia tamponadora es el Carbopol® 974P, de alto peso molecular. Es un ácido poliacrílico utilizado ampliamente en galénica. Presenta una alta seguridad para el tejido mucoso, tanto en animales como en humanos, ampliamente documentada. ²¹ Estudios recientes han demostrado que BufferGel® es protector frente a la transmisión de HSV, *Papillomavirus* y *Chlamydia trachomatis* en modelos animales y además funciona como contraceptivo en conejos. En estudios en mujeres BufferGel® demostró ser altamente seguro pero ineficaz frente al VIH-1, sin embargo presenta eficacia frente a bacterias causantes de vaginosis. ²²
- Acidform® es una fórmula bioadhesiva que contiene ácido láctico como principal agente acidificante (en cambio, BufferGel® tiene como principal agente el ion hidrógeno que es liberado por el Carbopol® 974P) Acidform® es capaz de tamponar el semen en la misma proporción que el anterior, es espermicida y activo frente a los mismos agentes infecciosos y además consigue mantener un pH ligeramente más bajo que BufferGel®. Se realizó un estudio en el que se examinaba el efecto antimicrobiano y los mediadores inmunológicos de la mucosa que presentaba la aplicación de Acidform® frente a un gel placebo, se comprobó que Acidform® provocaba una mayor proporción de síntomas de irritación media. El pH del cérvix de la vagina tras dos horas después de la aplicación del gel garantizaba la inmovilidad de los espermatozoides y un aumento de la actividad bactericida frente a *Escherichia*

coli, así como un descenso de la concentración de *Gardnerella vaginalis* que se recuperaba a los 14 días, esto puede sugerir que promueve una microbiota vaginal más sana. Sin embargo, la aplicación de Acidform® dos veces al día se asoció con irritación media y niveles de mediadores inmunes más bajos respecto al placebo. Tampoco fue posible garantizar la efectividad frente a VIH-1. ²³

La falta de éxito frente a la primera generación de microbicidas no específicos para el VIH ha hecho que se comenzara a buscar otras alternativas en el campo de los fármacos antirretrovirales (ARV).

5.4. LECTINAS EN GELES

Las lectinas son anticuerpos neutralizantes contra la gp120, y han demostrado eficacia moderada en animales. La tecnología actual no permite introducirlos en formulaciones en una concentración suficiente, sin embargo se conocen anticuerpos con actividad microbicida como b12, 2G12 y PRO140. ²⁴

- La Cianovirina-N no actúa igual que los anticuerpos aunque es una lectina. Se trata de una proteína procedente de una cianobacteria, capaz unirse de manera irreversible a la gp 120, inactivando así el VIH-1 y otros *lentivirus*. Ha demostrado eficacia en el bloqueo de VIH-1 en explantes (tejidos vivos) ectocervicales, y eficacia *in vivo*, en hembras de macacos. En el estudio, las hembras que recibieron el tratamiento con el gel vaginal de Cianovirina-N no mostraron evidencia de contagio en un 83,3%. ²⁵
- La Griftisina (GRFT) es una proteína aislada en pequeñas cantidades a partir de un alga roja, pero se consiguió su producción a partir de una planta transgénica (*Nicotiana benthamiana*) de forma que se abarató su producción. La GRFT producida mostró actividad contra el VIH y en concentraciones picomolares, virulencia directa al unirse directamente a las glicoproteínas capsulares del virus, y capacidad de bloquear la transmisión del virus de una célula a otra. La GRFT tiene un amplio espectro de actividad frente a VHS-2, hepatitis C y *coronavirus*. Además no provoca irritación ni inflamación en la mucosa vaginal, tanto *in vitro* como *in vivo*.

26

5.5.ANTIRRETROVIRALES

5.5.1. INHIBIDORES DE LA ENTRADA

Para que el virus vacíe el contenido de la cápside en el interior del linfocito, es necesario que la gp120 se una a receptores específicos del linfocito, la unión provoca un cambio conformacional en otra glicoproteína, la gp41 que hace que quede expuesto un péptido de fusión que inicia la entrada. Las alteraciones en determinadas secuencias de esta glicoproteína viral hacen que el proceso de fusión no pueda llegar a término, y por tanto se ha investigado sobre péptidos con secuencias basadas en la gp41. Se ha demostrado que los péptidos que imitan estas secuencias inhiben la entrada del virus y por tanto la infección. Algunos ejemplos son el T-20, el C52L y el T1249. Son moléculas que tienen un amplio espectro contra la mayoría de subtipos del VIH, pero su uso está limitado por su elevado coste de producción.

- Se llevaron a cabo ensayos *in vitro* para determinar la seguridad, la eficacia y el sinergismo de T-20 como microbicida en formulaciones vaginales, en asociación con otras moléculas con otros mecanismos de acción que podrían presentar sinergismo y que también eran candidatas a formar parte de un microbicida: HHA (*Hippeastrum hybrid* aglutinina, una lectina vegetal que se une a gp-120) y KRV2110 (un inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa reversa). Se demostró una sinergia significativa del T-20 con los otros dos péptidos *in vitro*, sin embargo había que garantizar la tolerancia de las células cervicovaginales frente a estos microbicidas, y las combinaciones con el T-20 dieron los valores más bajos de viabilidad.²⁷
- Sifurvitide (SFT) es otro inhibidor basado en la conformación tridimensional de la gp41, en comparación con T-20, SFT es más potente contra las infecciones frente a un amplio rango de secuencias víricas, incluyendo las que son resistentes a T-20. SFT también mostró seguridad y tolerabilidad en el estudio de fase Ia vía subcutánea, por lo que parece ser prometedor en el desarrollo de microbicidas. Se procedió a la formulación con un gel utilizado en fórmulas rectales y vaginales, el de 1'5% hidroxietilcelulosa (HEC), el gel de SFT mostró una buena seguridad y estabilidad en los dos modelos, *in vitro* e *in vivo*.²⁸

Maraviroc y PSC-RANTES tienen como blanco la proteína CCR5 del hospedador, por lo que son capaces de evadir mutaciones virales, lo cual es una ventaja, aunque esto puede

llevar a la selección de nuevas cepas virales que tengan afinidad por otros correceptores, y es posible que pueda causar la aparición de respuestas inflamatorias o humorales.

- Maraviroc es un antagonista de la CCR5 que además ha mostrado efectividad frente a VISH. Es uno de los mejores candidatos para su uso como microbicida debido a su amplia utilización. Maraviroc ha sido formulado en un gel a una concentración de 5 mM en 2,2% de hidroxietil celulosa (HEC), se realizó un ensayo en ratones y se demostró que aplicando el gel una hora antes, protegía frente al VIH-1.²⁹ Para investigar la farmacocinética de Maraviroc, se administró el mismo gel de HEC a distintas concentraciones en un rango de 0'003% - 3'3% p/p, midiendo su eficacia en macacos frente al VISH. Se comprobó que la protección completa frente al virus se alcanzó con la máxima concentración.³⁰

Para garantizar que en la vagina se alcanzan las concentraciones efectivas adecuadas y facilitar la adherencia al tratamiento, se comenzaron a producir anillos vaginales que fueran liberando el antirretroviral de forma continuada. Recientemente se ha descrito un estudio en macacos a los que se les aplicaba un anillo elastómero de silicona tipo matriz con Maraviroc y CMPD167 (otro inhibidor CCR5), los estudios tanto *in vitro* como *in vivo* sugirieron protección frente al VISH, alcanzándose concentraciones inhibitorias óptimas.³¹

- PSC-RANTES se formuló en forma de nanopartículas de liberación controlada, hechas a partir de un co-polímero biodegradable (ácido láctico co-glicólico o PLGA) para comprobar su actividad frente al virus. El estudio *in vitro* demostró que PSC-RANTES podía ser utilizado con éxito como microbicida tópico, facilitando en forma de nanopartículas su distribución y aumentando la penetración a través de la mucosa, proporcionando una liberación sostenida.³²
- Como los linfocitos CD4+ son las principales células diana, se ha pensado también en el compuesto ciclo-triazona-sulfamida (CADA) que es capaz de regular a la baja la expresión de los CD4+. Si se comprueba su seguridad representaría una interesante estrategia, sin embargo el impacto de la depleción de los linfocitos es todavía desconocido. La alternativa podría ser mimetizar la acción de CD4+ sobre la gp120, pero bloqueando el cambio conformacional de forma que no se produzca. La última opción sería mimetizar la gp41, como el caso de los péptidos C52L y T1249 que mostraron protección en macacos frente a infección de VISH.³³

5.5.2. INHIBIDORES NUCLEOSÍDICOS

- La AZT es un análogo nucleosídico que fue el primero en demostrar actividad antiviral.³⁴ Se requieren varios pasos de fosforilación por quinasas y fosfotransferasas hasta pasar de la forma original a la forma activa. Una vez metabolizado por la célula se convierte en un análogo nucleotídico capaz de inhibir la transcriptasa inversa.

AZT y BP36 se combinaron en un sistema de liberación sostenida capaz de liberar los agentes anti-VIH-1 durante 28 días. Consistía en un sistema compuesto por una capa que contiene AZT y submicroesferas de glicol pectin-mucin-polietileno cargadas con BP36 que a su vez están embebidas en una matriz basada en polímeros (Kollidon® SR). Se evaluó *in vitro* e *in vivo*, en cerdos. Las imágenes de rayos-X permitieron observar cómo la matriz iba liberando el fármaco a través del sistema. Se midieron los niveles de AZT en plasma y en fluido vaginal observando cómo iba disminuyendo con los días gradualmente. La concentración en el tejido vaginal al final de los 28 días era mayor que en el plasma. Se ha demostrado por tanto que es posible mantener concentraciones eficaces de manera controlada pero se observaron efectos histopatológicos en la mucosa vaginal al finalizar la investigación.³⁵

- TFV es uno de los antirretrovirales más estudiados, tanto en formulaciones tipo gel, como anillos vaginales e incluso cápsulas.

El estudio CAPRISA 004 demostró que un gel con 1% de TFV reducía la incidencia de VIH un 39%, además de reducir hasta un 51% la de VHS-2. Sin embargo se observó una muy baja adherencia a la aplicación del gel.³⁶

Después, en el estudio VOICE se examinó la seguridad y efectividad de este gel administrado diariamente evaluando a su vez la administración de oral de TDF también de forma diaria, el ensayo no demostró buenos resultados.³⁷

El estudio FACTS 001 buscó extender lo que se había descubierto con CAPRISA 004. Se administraba el gel de TFV al 1% antes y después del coito. La eficacia se vio aumentada aunque la adherencia a este tratamiento se hizo mucho más difícil dificultando el estudio. También se demostró que en concentraciones de 0,3% a 1%, la máxima era la que proporcionaba mayor eficacia y seguridad. TFV y Truvada también fueron estudiados en el ensayo FEM-PrEP realizado en mujeres con alto riesgo de contraer el VIH pero también mostró ausencia de eficacia probablemente

debido a la falta de adhesión. El mismo número de personas fueron infectadas en ambos grupos de la investigación.³⁸

El TFV se ha presentado también en comprimidos de TDF y ha demostrado en humanos seguridad, tolerabilidad y eficacia, se alcanzan concentraciones altas en la zona vaginal mientras son bajas de forma sistémica, aunque el gel es más aceptado por las mujeres en comparación.³⁹ En el desarrollo de tabletas vaginales de liberación sostenida, el quitosano (CH) se comparó con distintos polímeros. Las tabletas de CH se adhieren a la mucosa vaginal hasta que todo el fármaco ha sido liberado, tienen toxicidad baja y se hinchan moderadamente, proporciona mayor comodidad que ninguno de los polímeros. Se concluyó que el CH y HPMC son los que tienen mayor potencial para lograr la liberación controlada de TFV a partir de fórmulas vaginales compactas y bioadhesivas.⁴⁰

Sin embargo la aplicación más prometedora hasta ahora es el anillo vaginal de TDF que confiere una completa protección durante 28 días, ha sido probado en macacos durante 4 meses consecutivos. El diseño de este anillo es simple y puede ser llevado a la industria de forma económica. Se está evaluando el diseño para humanos.⁴¹

5.5.3. INHIBIDORES NO NUCLEOSÍDICOS

Tienen entre 100 y 1000 veces más potencia que los fármacos anteriores. El inconveniente es la resistencia que el VIH puede desarrollar rápidamente así como problemas farmacocinéticos. Los más estudiados como microbicidas son el MIV-150, UC781, Dapivirina y Rilpivirina. Ejercen un “efecto memoria” que consiste en que la actividad antiviral persiste de forma prolongada aunque las células expuestas *in vitro* sean lavadas antes de ser inoculadas con VIH.

- Medivir desarrolló el MIV-150 que ha sido formulado en anillo vaginal y se demostró su capacidad de bloquear el VIH en modelos animales.⁴² El MIV-150 también se ha incluido en un gel de carragenina y acetato de zinc, mostrando una protección completa hasta 8 horas después de su aplicación en macacos expuestos a altas dosis de VIH, incluso 24 horas después todavía hay una disminución importante de la infección.
- El UC781 es un inhibidor no nucleosídico muy potente e hidrofóbico. *In vitro* demostró efectividad a múltiples concentraciones frente a VIH-1 y además retenía el efecto durante 4 días en el interior de la célula. En estudios de Fase I demostró su

seguridad como fórmula vaginal a concentraciones menores del 1%. Se midió la cantidad de fármaco en el fluido vaginal de dos grupos de mujeres que utilizaban geles a distinta concentración. Los resultados sugerían que los niveles anti-VIH estaban asociados al tipo de células del fluido cervicovaginal de las mujeres. ⁴³

- La Dapivirina ha sido formulada en geles y anillos vaginales. El anillo vaginal, Ring-004 (con silicona catalizada con platino) fue evaluado por ASPIRE, un estudio clínico en fase III. El anillo contenía 25 mg de Dapivirina y era renovado cada mes, mostrando evidencia de protección frente al VIH-1. La eficacia era significativa pero no tanto como se esperaba. ⁴⁴
- El inhibidor IQP-0528 se incluyó en un sistema de liberación tipo film llamado Eudragit® S-100 NPs. En macacos se observaron mejores valores inhibitorios que *in vitro* incluso a las 24 horas. A raíz de este ensayo, en un film similar, se administró TFV adherido a NPs, se incorporaron estas NPs en mayor porcentaje que en el anterior y se aplicó en ratones durante 14 días. Hubo divergencia en los resultados *in vitro/in vivo*, probablemente por la adsorción de las moléculas del film a la superficie las NPs, que conlleva interacciones perjudiciales con la mucosa. ⁷

5.5.4. INHIBIDORES DE LA INTEGRASA

Los inhibidores de la integrasa del VIH también están desarrollándose para utilizarlos como microbicidas, tienen una alta actividad y no requieren ser activados por células diana. Cabotegravir (CAB) es un inhibidor de la transferencia de la cadena de la integrasa (INSTI), similar a Dolutegravir estructuralmente, tiene una estructura cristalina con baja solubilidad en agua y vida media de 40 horas en administración oral. Ya ha demostrado prevención frente a VIH a vía vaginal, rectal e intravenosa en macacos. Se trata de uno de los pocos ARV que presentan buenas características para la administración en forma de nanopartículas. ⁴⁵

5.5.5. INHIBIDORES DE LA EXOCITOSIS

Gu *et al.* propuso un sistema film de poli-vinil-alcohol (PVA)/lamda-carragenano como plataforma de liberación de siARN (un inhibidor de una proteína involucrada en la exocitosis del VIH) adherido a NPs poliméricas. Sólo se han realizado ensayos *in vitro*, aunque sugirieron buenos resultados en la penetración a través de la mucosa y la selectividad en la liberación intracelular de siARN en las células dendríticas, donde se encuentra la dicha proteína. ⁷

5.5.6. PROBIÓTICOS

Las formulaciones que llevan probióticos tratan de promover la colonización de la vagina, para ello introducen microorganismos modificados genéticamente. La modificación hace que expresen moléculas capaces de inhibir al VIH o a otros responsables de ETS. Debido a la biota vaginal, las bacterias más utilizadas son las del género *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*. Se debe asegurar el mantenimiento de la microflora vaginal normal, además de que estos probióticos persistan y mantengan la estabilidad genética, produciendo concentraciones suficientes y sostenidas para bloquear la transmisión de VIH.²⁴

6. CONCLUSIÓN

La ventaja de los agentes surfactantes, polianiones, agentes acidificantes y lectinas es que no generan resistencias en el VIH-1, aunque se ha comprobado que la falta de especificidad (siendo los agentes surfactantes más inespecíficos y las lectinas las más específicas) genera también una falta de efectividad y seguridad; no obstante sería de gran utilidad disponer de una sola formulación para detener distintos agentes infecciosos. Esto último se ha podido alcanzar en algunos casos pero sin garantizar la protección frente al VIH-1.

Los antirretrovirales por otra parte han demostrado mayor eficacia al dirigirse más directamente a la inhibición del virus, y tienen la ventaja de que su espectro de acción es muy amplio ya que pueden combinarse deteniendo la infección en las distintas etapas de virulencia. Queda aún por demostrar la plena seguridad de la mayoría de las formulaciones en humanos, aunque este objetivo parece estar cada vez más cerca.

En cuanto al tipo de fórmula vaginal, los anillos y comprimidos vaginales presentan más ventajas frente a los geles gracias a la seguridad de que se está liberando el fármaco paulatinamente y no son necesarias más aplicaciones durante un amplio espacio de tiempo. Además, no se aprecian durante el coito.

Aunque actualmente no hay una única solución al problema y hay distintas formas de enfocararlo, parece que los avances de la biotecnología permitirán en unos años diseñar moléculas para fórmulas vaginales capaces de impedir la infección y de detener finalmente la pandemia del SIDA.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Nota de Prensa de la Organización Mundial de la Salud, de Noviembre de 2016. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/world-hepatitis-day/es/>
Disponible en marzo de 2017.
2. Soto L E. Mecanismos patogénicos de la infección por VIH. Revista de investigación clínica, 2004, vol. 56, no 2, p. 143-152.
3. Info Salus. Luz verde en la UE al tratamiento del VIH como prevención en personas sanas, Madrid, 22 julio. EUROPA PRESS. <http://www.infosalus.com/farmacia/noticia-luz-verde-ue-tratamiento-vih-prevencion-personas-sanas-20160722171604.html>
Disponible en marzo de 2017.
4. Günthard H F, et al. Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in adults: 2016 recommendations of the International Antiviral Society–USA panel. Jama, 2016, vol. 316, no 2, p. 191-210.
5. Lozano E, et al. Manual de tecnología farmacéutica. Elsevier Ciencias de la Salud, España, 2012. Parte 4, Capítulo 40, p. 435-440.
6. Pérez-Leonard H, et al. Lactobacillus probióticos: sustancias naturales bioactivas para la prevención de infecciones urogenitales. Biotecnol, 2007, vol. 10, no 1, p. 6-11.
7. Das Neves J, et al. Antiretroviral drug-loaded nanoparticles-in-films: a new option for developing vaginal microbicides? Expert Opinion on Drug Delivery, 2017, vol. 14, no 4, p. 449-452.
8. Vigilancia Epidemiológica del VIH y SIDA en España. Actualización 30 de junio de 2016. Dirección General de Salud Pública, Calidad e Innovación, Sistemas Autonómicos de Vigilancia Epidemiológica, Centro Nacional de Epidemiología, 2010. https://www.msssi.gob.es/ciudadanos/.../sida/vigilancia/InformeVIH_SIDA_2016.pdf
Disponible en marzo de 2017.

9. Scott Y, et al. Non-Antiretroviral Microbicides for HIV Prevention. *AIDS reviews*, 2016, vol. 18, no 3, p. 145.
10. Hillier S, et al. In vitro and in vivo: the story of nonoxynol 9. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 2005, vol. 39, no 1, p. 1-8.
11. Van Damme L, et al. Effectiveness of COL-1492, a nonoxynol-9 vaginal gel, on HIV-1 transmission in female sex workers: a randomised controlled trial. *The Lancet*, 2002, vol. 360, no 9338, p. 971-977.
12. Trifonov R T, et al. Biomarkers of leukocyte traffic and activation in the vaginal mucosa. *Biomarkers*, 2007, vol. 12, no 6, p. 608-622.
13. Feldblum P J, et al. SAVVY vaginal gel (C31G) for prevention of HIV infection: a randomized controlled trial in Nigeria. *PloS one*, 2008, vol. 3, no 1, p. 1474.
14. Fletcher P S., et al. Candidate polyanion microbicides inhibit HIV-1 infection and dissemination pathways in human cervical explants. *Retrovirology*, 2006, vol. 3, no 1, p. 46.
15. McCormack S, et al. PRO2000 vaginal gel for prevention of HIV-1 infection (Microbicides Development Programme 301): a phase 3, randomised, double-blind, parallel-group trial. *The Lancet*, 2010, vol. 376, no 9749, p. 1329-1337.
16. Price C F, et al. SPL7013 Gel (VivaGel®) retains potent HIV-1 and HSV-2 inhibitory activity following vaginal administration in humans. *PLoS One*, 2011, vol. 6, no 9, p. 24095.
17. Skoler-Karpoff S, Et al. Efficacy of Carraguard for prevention of HIV infection in women in South Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*, 2008, vol. 372, no 9654, p. 1977-1987.
18. Marais D, et al. The effectiveness of Carraguard, a vaginal microbicide, in protecting women against high-risk human papillomavirus infection. *Antiviral therapy*, 2011, vol. 16, no 8, p. 1219.
19. Boadi T, et al. Cellulose acetate 1, 2-benzenedicarboxylate protects against challenge with pathogenic X4 and R5 simian/human immunodeficiency virus. *Aids*, 2005, vol. 19, no 15, p. 1587-1594.

20. Tao W, et al. Short communication: enhancement of HIV infection by cellulose sulfate. *AIDS research and human retroviruses*, 2008, vol. 24, no 7, p. 925-929.
21. Mayer K H, et al. Safety and tolerability of BufferGel, a novel vaginal microbicide, in women in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 2001, vol. 32, no 3, p. 476-482.
22. Karim S, et al. Safety and effectiveness of BufferGel and 0.5% PRO2000 gel for the prevention of HIV infection in women. *AIDS (London, England)*, 2011, vol. 25, no 7, p. 957.
23. Amaral E, et al. Study of the vaginal tolerance to Acidform, an acid-buffering, bioadhesive gel. *Contraception*, 1999, vol. 60, no 6, p. 361-366.
24. Fernández Romero J A, et al. Microbicidas para la prevención de infecciones de transmisión sexual: estado actual y estrategias para la evaluación preclínica de nuevos candidatos. *Revista argentina de microbiología*, 2014, vol. 46, no 3, p. 256-268.
25. Tsai C, et al. Cyanovirin-N inhibits AIDS virus infections in vaginal transmission models. *AIDS research and human retroviruses*, 2004, vol. 20, no 1, p. 11-18.
26. O'Keefe B R, et al. Scaleable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, vol. 106, no 15, p. 6099-6104.
27. Jenabian M, et al. In vitro synergistic activity against CCR5-tropic HIV-1 with combinations of potential candidate microbicide molecules HHA, KRV2110 and enfuvirtide (T20). *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2009, vol. 64, no 6, p. 1192-1195.
28. Li L, et al. Efficacy, stability, and biosafety of sifuvirtide gel as a microbicide candidate against HIV-1. *PloS one*, 2012, vol. 7, no 5, p. 37381.
29. Neff C P, et al. A topical microbicide gel formulation of CCR5 antagonist maraviroc prevents HIV-1 vaginal transmission in humanized RAG-hu mice. *PloS one*, 2011, vol. 6, no 6, p. 20209.
30. Malcolm R K, et al. Pharmacokinetics and efficacy of a vaginally administered maraviroc gel in rhesus macaques. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013, vol. 68, no 3, p. 678-683.

31. Malcolm R K, et al. Sustained release of the CCR5 inhibitors CMPD167 and maraviroc from vaginal rings in rhesus macaques. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2012, vol. 56, no 5, p. 2251-2258.
32. Ham A S, et al. Targeted delivery of PSC-RANTES for HIV-1 prevention using biodegradable nanoparticles. *Pharmaceutical research*, 2009, vol. 26, no 3, p. 502-511.
33. Shattock R J, et al. Microbicides: topical prevention against HIV. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2012, vol. 2, no 2, p. 007385.
34. Cihlar T, et al. Nucleoside and nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors: 25 years after zidovudine. *Antiviral research*, 2010, vol. 85, no 1, p. 39-58.
35. Mashingaidze F. Design of an intravaginal composite polymeric system for the reduction and prevention of STI and HIV transmission. Tesis Doctoral, 2014. Department of Pharmacy and Pharmacology, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa.
36. Karim Q A, et al. Effectiveness and safety of tenofovir gel, an antiretroviral microbicide, for the prevention of HIV infection in women. *Science*, 2010, vol. 329, no 5996, p. 1168-1174.
37. Celum, C et al. Tenofovir-based Pre-exposure prophylaxis for HIV prevention: Evidence and evolving questions. *Current opinion in infectious diseases*, 2012, vol. 25, no 1, p. 51.
38. Celum C, et al. Antiretroviral-based HIV-1 prevention: antiretroviral treatment and pre-exposure prophylaxis. *Antiviral therapy*, 2012, vol. 17, no 8, p. 1483.
39. Gengiah T N, et al. A drug evaluation of 1% tenofovir gel and tenofovir disoproxil fumarate tablets for the prevention of HIV infection. *Expert opinion on investigational drugs*, 2012, vol. 21, no 5, p. 695-715.
40. Notario-Pérez F, et al. Influence of Chitosan Swelling Behaviour on Controlled Release of Tenofovir from Mucoadhesive Vaginal Systems for Prevention of Sexual Transmission of HIV. *Marine drugs*, 2017, vol. 15, no 2, p. 50.

41. Smith J M, et al. Intravaginal ring eluting tenofovir disoproxil fumarate completely protects macaques from multiple vaginal simian-HIV challenges. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, vol. 110, no 40, p. 16145-16150.
42. Singer R, et al. An intravaginal ring that releases the NNRTI MIV-150 reduces SHIV transmission in macaques. Science translational medicine, 2012, vol. 4, no 150, p. 123-150.
43. Haaland R E, et al. UC781 microbicide gel retains anti-HIV activity in cervicovaginal lavage fluids collected following twice-daily vaginal application. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2012, vol. 56, no 7, p. 3592-3596.
44. Baeten J M, et al. Use of a vaginal ring containing dapivirine for HIV-1 prevention in women. New England Journal of Medicine, 2016, vol. 375, no 22, p. 2121-2132.
45. Nyaku A N, et al. Long-Acting Antiretrovirals: Where Are We now? Current HIV/AIDS Reports, 2017, vol. 14, no 2, p. 63-71.