



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

TRABAJO FIN DE GRADO

**FORMULACIONES VAGINALES PARA LA
PREVENCIÓN DEL SIDA I**

Autor: Baeza Díez, Irene

DNI: 05334966R

Tutor: Roberto Ruiz Caro

Convocatoria: Junio 2016

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de transmisión sexual (ETS) son infecciones que se pueden adquirir por tener relaciones sexuales con alguien que esté infectado. Son causadas por bacterias, parásitos y virus. Las ETS y sus complicaciones se encuentran entre las cinco principales enfermedades de los países más desfavorecidos, lo que obliga a los servicios sanitarios a buscar y desarrollar soluciones para el control y la prevención de las mismas.

La prevalencia del SIDA, una de las ETS más comunes, se considera actualmente una pandemia. Es uno de los principales problemas mundiales en el ámbito de la salud, sobre todo en los países menos desarrollados. Ahora mismo, está estimado que unos 35 millones de personas son seropositivos, y entre éstos, 19 millones no saben que están infectados [1].

Se trata de una enfermedad crónica, causada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), virus que mata o daña las células del sistema inmunitario del organismo (especialmente los linfocitos T CD4+), hasta que el individuo alcanza un estado de “inmunodeficiencia”. Los primeros signos de infección con VIH suelen ser sintomáticos en más de la mitad de los casos, presentando inflamación de los ganglios y síntomas típicos gripales o de otra virosis (fiebre, cefalea, mialgia, sudoración nocturna...). Esta infección aguda progresa durante unas semanas o meses para convertirse en una infección por VIH sin síntomas. La carga inmunitaria se va recuperando poco a poco y entramos en la etapa asintomática, que puede durar de 10 a 20 años, donde el virus está presente, pero latente (el individuo no se da cuenta que está infectado, lo que contribuye a la transmisión).

Se han identificado dos tipos diferentes del virus de inmunodeficiencia humana, el VIH-1 y el VIH-2, los cuales comparten propiedades epidemiológicas pero desde el punto de vista serológico y geográfico, son relativamente diferentes. Al parecer, la patogenicidad del VIH-2 sería menor a la del VIH-1 ya que, en una infección por el primero, el número de virus circulantes en el organismo es menor, por lo que su evolución sería más lenta y su periodo de incubación más largo. Sin embargo, ambos serotipos acaban causando el Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), que se corresponde a la etapa más avanzada de la infección por VIH, donde el sistema inmunológico se encuentra muy afectado y debilitado, y no es capaz de responder ni de realizar

adecuadamente sus funciones. Aparecerían las llamadas infecciones oportunistas, infecciones que en un individuo inmunocompetente no causarían problema, pero que en el caso de un individuo seropositivo, su desarrollo podría causarle la muerte, debido a la pérdida de la capacidad de defensa del organismo. En la clínica, se considera que un individuo sufre SIDA cuando el recuento de sus linfocitos T CD4+ es inferior a 200/mm³ o cuando el estado de inmunodeficiencia se evidencia por la presencia de una enfermedad oportunista grave, que amenaza la vida del paciente [2].

El virus se transmite a partir del contacto entre fluidos corporales como semen, sangre, fluido vaginal y leche materna. Una vez que el VIH ha logrado entrar en el organismo, la gp 120 de su envoltura se une a la molécula diana, la CD4 de la membrana de los linfocitos T CD4+, macrófagos, células dendríticas, monocitos y, en general, a cualquier célula que exprese en su superficie este receptor. Tras la unión, tiene lugar la fusión de la envoltura viral con la membrana celular, lo que permite la liberación del material genético viral (ARNviral) en la célula diana. El ARN viral es transformado en ADN proviral por la transcriptasa inversa, enzima presente en el virus. Este nuevo ADN es conducido hasta el núcleo de la célula huésped donde una nueva enzima viral, la integrasa, se encargará de incorporar el ADN vírico dentro del propio ADN celular. Así, esta célula infectada, puede permanecer inactiva varios años sin producir copia alguna de VIH, o bien produciendo pocas. En el momento en el que recibe una señal para volverse activa, con la ayuda de la polimerasa, se crean copias del material genético viral y nuevas proteínas virales, donde actúa también la proteasa (como una tijera, corta y activa las nuevas proteínas formadas) y se procede al ensamblaje de las nuevas moléculas del VIH. El nuevo virus ensamblado “brota” de la célula, quiere liberarse de ésta e ir a infectar nuevas células, por lo que al desprenderse, se lleva consigo parte de la membrana celular de la célula hospedadora, lo que le provoca la muerte. De este modo, las nuevas copias del VIH ya están libres y preparadas para infectar otras células, donde se replicarán y volverán a liberarse, destruyéndolas [3].

En los tratamientos antirretrovirales actuales, se utilizan fármacos que ejercen su acción en diferentes momentos del ciclo viral, teniendo como objetivo reducir la carga vírica a niveles prácticamente indetectables, de manera que el individuo recobre la inmunocompetencia y pueda evitarse el contacto. De esta manera, tenemos:

- Inhibidores de la fusión: como el Enfuvirtide.

- Inhibidores de la transcriptasa inversa, que pueden ser:
 - Análogos de nucleótidos/nucleósidos, como el Tenofovir o la Zidovudina.
 - No análogos de nucleótidos/nucleósido, como la Ripilvirina o la Dapivirina.
- Inhibidores de proteasas, como el Ritonavir.
- Inhibidores de la integrasa, como el Dolutegravir o Raltegravir.

El tratamiento de elección consiste en combinar tres fármacos, en los que se incluyen dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleótidos/nucleósidos junto a un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleótido, un inhibidor de proteasa, o bien un inhibidor de la integrasa. Es fundamental decidir adecuadamente el momento en el que la persona debe iniciar el tratamiento antirretroviral ya que éste debe ser mantenido en el tiempo, y saber frente a que serotipo de VIH estamos, ya que los inhibidores de transcriptasa no análogos de nucleósidos y los inhibidores de la fusión no son eficaces contra el VIH-2, pues éste presenta resistencia intrínseca (en este caso, se recomienda la asociación de dos inhibidores de transcriptasa inversa análogos de nucleótidos/nucleósidos y un inhibidor de proteasas) [4].

Pese a la magnitud de la pandemia, los últimos datos obtenidos por el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA nos indican que en los últimos años se ha logrado reducir el número de casos de nuevas infecciones así como el índice de mortalidad y que continúa disminuyendo en todo el mundo.

La Organización de las Naciones Unidas, se compromete a acabar con la pandemia en el 2030, y para ello ha elaborado una serie de objetivos a cumplir para el 2020 [5]:

1. Que el 90% de la población (niños, adolescentes y adultos) viviendo con VIH conozca su estado y reciba tratamiento.
2. Que haya cero infecciones entre niños y madres.
3. Que el 90% de la población joven esté bien informada y concienciada, y que sea capaz de protegerse a sí misma de la infección.
4. Que el 90% de hombres y mujeres, especialmente individuos jóvenes y aquellos que se encuentren en zonas geográficas de alta prevalencia, tengan acceso a los tratamientos preventivos antiVIH, así como, a los servicios sanitarios de sexualidad y reproducción.
5. Que 27 millones de hombres adicionales en lugares de alta prevalencia sean voluntariamente sometidos a realizarse circuncisiones médicas, como parte de los servicios sanitarios de integración sexual y reproductiva en hombres.

6. Que el 90% de la población, incluidos los individuos que trabajen del sexo, aquellos individuos que consuman drogas, los homosexuales, los encarcelados, así como los inmigrantes, tengan acceso a los tratamientos preventivos del VIH.
7. Que el 90% de las mujeres y niñas vivan libres y en igualdad de condiciones, sin violencia de género, con el fin de disminuir el impacto y el riesgo de infección por el VIH.
8. Que las inversiones financieras globales para el SIDA en respuesta a los bajos y medianos ingresos de los países alcancen al menos un valor de 30 mil millones de dólares.
9. Que el 75% de la población viviendo en riesgo o afectado por el VIH se beneficie de protección social, si la necesita.

Se ha observado que la probabilidad de transmisión de una ETS de hombre a mujer es muy alta. Esto tiene una fácil explicación, ya que los métodos preventivos actuales como pueden ser la abstinencia, la monogamia y el más común, el preservativo, se encuentran fuera del control de las mujeres y adolescentes, teniendo el hombre prácticamente todo el poder de decisión. Es por ello, que en la actualidad, más del 50% de las nuevas infecciones por el VIH se dan en mujeres. De la misma manera, la transmisión de ETS es más propensa en algunos países, como son los países subdesarrollados, donde la falta de acceso a los servicios de educación sexual y la violencia sexual contra las mujeres dificulta y obstaculiza los esfuerzos y objetivos puestos en marcha para la prevención del SIDA. Anualmente, se producen unas 380.000 infecciones nuevas por VIH en mujeres de entre 10 y 24 años y de entre ellas, el 80% de estos casos son mujeres que viven en el África subsahariana [6].

Por ello, los nuevos avances en prevención del VIH, que trataremos en este trabajo, son formulaciones vaginales destinadas al uso y protección de la mujer, para que de esta manera, ella también tenga poder de decisión, y no tenga que depender del hombre para protegerse de la infección.

Las formulaciones vaginales tienen como objetivo la administración de medicamentos con efecto a nivel local o sistémico. La biodisponibilidad depende del espesor del epitelio vaginal, la composición del fluido y su pH. En este caso concreto, como estamos buscando la prevención de la infección de un virus, utilizamos las formulaciones vaginales para la administración de un microbicida.

Un microbicida vaginal se puede definir como cualquier agente incluido en una formulación tópica destinada a prevenir la transmisión de patógenos sexuales, ya sea por la inactivación de mecanismos en el patógeno, mediante la formación de una barrera física entre las células y los patógenos, o mediante la mejora de los mecanismos de protección naturales del cuello uterino y vagina.

Éste ha de tener determinadas características para una buena administración vaginal. De esta manera, el microbicida vaginal ideal ha de presentar [7]:

- Adecuadas propiedades farmacocinéticas para una buena penetración en la mucosa vaginal, así, los derivados lipófilos, han demostrado ser tres veces más eficaces que los hidrófilos.
- Una concentración en la mucosa, distribución y retención adecuadas.
- Seguridad. Los microbicidas vaginales destinados a la prevención serán utilizados por personas en un principio sanas, por lo que estos microbicidas han de ser seguros, y no presentar ningún peligro ni riesgo para la persona que lo usa. Por ello, no debe causar ningún tipo de irritación ni toxicidad, ni presentar riesgos de causar infertilidad o, en caso de embarazo, anomalías en el feto.
- Eficaz. Los microbicidas han de tener efecto, y ser capaces de prevenir la transmisión de VIH.
- Aceptabilidad, fácil de utilizar. Los microbicidas vaginales han de ser compatibles con la práctica sexual, por lo que deben ser discretos, que no se noten, fáciles de colocar, y que liberen una dosis adecuada de principio activo (en este contexto, las fórmulas de liberación prolongada son las preferidas).
- Protección duradera. Algunos microbicidas vaginales solo permiten una protección segura y 100% fiable durante pocos minutos tras la aplicación, lo que no resulta útil.
- Estabilidad. Que sean compatibles con el medio vaginal, y que pueda soportar estas condiciones.
- Bajo precio, para que de esta manera sea posible su adquisición en los países más pobres, que son a su vez los más afectados y los que más lo necesitan.

Desafortunadamente, es difícil encontrar un microbicida vaginal con todas estas características, incluso algunas formas vaginales dejan de dar una respuesta protectora no solo por falta de eficacia sino también por una mala formulación.

Algunas de las formas de dosificación vaginales más utilizadas y que estudiaremos en este trabajo son geles, comprimidos, cápsulas y anillos vaginales.

Si se encontrase la manera de desarrollar un microbicida vaginal eficaz, seguro, de fácil fabricación, económico, estable, de cómoda administración para la mujer e indetectable por el hombre, se lograría un avance muy importante para frenar la transmisión del VIH y estaríamos más cerca que nunca de frenar esta pandemia que el mundo está viviendo actualmente.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es identificar y estudiar las formulaciones microbidas vaginales utilizadas para prevenir la infección por VIH, y de esta manera saber el estado actual en el que se encuentra el desarrollo de éstas. Veremos que formulaciones son las más utilizadas, cuales son las mejor aceptadas por la población (las más cómodas), analizaremos las ventajas y los inconvenientes, veremos las modificaciones y los avances que han sufrido las primeras formulaciones desarrolladas. De esta forma, podremos concluir si estamos cerca de acabar con la pandemia actual de SIDA, y más concretamente, si estamos cerca de ofrecer a la mujer una manera fácil, económica, y sobretodo segura y eficaz para poder protegerse a sí misma de la infección por VIH, sin que influya la voluntad de su pareja.

METODOLOGÍA

Para realizar este trabajo se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica exhaustiva, utilizando bases de datos donde existe acceso a multitud de artículos de investigación biomédica (como Pubmed), webs institucionales y libros científicos, disponibles en las bibliotecas de las facultades en formato libro o bien online.

El método utilizado fue analizar y estudiar las diferentes formulaciones vaginales microbidas por forma farmacéutica (centrándonos en las más importantes) redactando primero las más sencillas desarrolladas y luego observando si éstas sufrieron modificaciones, con el fin de mejorar sus características farmacocinéticas y por lo tanto

su eficacia clínica, y así llegar a las formas farmacéuticas actuales que presentan mejores expectativas y más proyección de futuro. Toda la información obtenida se ha sacado únicamente de fuentes precisas y fiables, como pueden ser artículos que definen ensayos preclínicos y clínicos *in vitro* o *in vivo*, por lo que absolutamente todo está demostrado científicamente.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Existen diversos ensayos clínicos con microbicidas destinados a la aplicación vaginal que ejercen una acción local o una acción sistémica, y cuyo objetivo es prevenir la infección por VIH [7]. A lo largo de su descripción, vamos a clasificarlos por forma farmacéutica: comprimidos, cápsulas, geles o anillos vaginales... que tienen características distintas.

En lo que concierne a la duración de liberación intravaginal del microbicida investigado, los geles vaginales liberan microbicida de forma controlada hasta un máximo de 6h (no ofrecen protección más allá de este intervalo de tiempo), los comprimidos lo hacen hasta 8h, y los anillos vaginales hasta 71 días. En efecto, los geles y los comprimidos vaginales permiten una rápida liberación del microbicida, por lo tanto para que sea efectivo durante un tiempo más o menos largo debe aplicarse varias veces al día. En cambio, los anillos vaginales permiten una liberación prolongada de microbicida por lo que con una sola aplicación el efecto dura más tiempo. Además, la distribución del microbicida en el tejido vaginal varía considerablemente en función de la naturaleza de la forma farmacéutica de liberación. Para un efecto local en la vagina, formas semisólidas o que se disuelven rápidamente son las más adecuadas. Para un efecto sistémico, serán más adecuados los anillos vaginales o los mucoadhesivos, ambas formas de liberación prolongada [8].

La mayoría de las formulaciones vaginales microbicidas desarrolladas y evaluadas corresponden a geles hidrófilos y a los anillos vaginales, sin embargo, hasta hace poco tiempo, las más utilizadas en la práctica eran las formas semisólidas, como las cremas, los geles, y los ungüentos. Desde la pasada década, se han realizado importantes avances en el desarrollo de anillos vaginales de liberación microbicida prolongada, y en éstos es donde actualmente se centra la investigación.

Geles

Dentro de los geles, los más desarrollados y evaluados en las décadas anteriores han sido los hidrogeles como por ejemplo con el Nonoxynol-9 (N-9), un surfactante (es decir, una sustancia virucida que actúa reduciendo la tensión superficial en la superficie del patógeno provocando su muerte antes de que éste entre en la mucosa vaginal). Este gel de alginato al 3%, se investigó por su actividad espermicida, sin embargo, los ensayos clínicos no probaron su eficacia en la prevención del VIH, y no solo eso, sino que además demostró causar un aumento en la incidencia de lesiones y úlceras genitales, lo cual son factores de riesgo para adquirir ETS [9].

Otro gel estudiado fue el SAVVY gel[®], surfactante que difunde más rápidamente que el Nonoxynol-9 en la mucosa vaginal. Incluye C31G al 1% y presenta un amplio espectro antimicrobiano además de ser un agente espermicida. Se compone de una mezcla de alquil-dimetil-glicina y de óxido de alquil-dimetil-amina, que posee actividad frente a bacterias, hongos, levaduras y virus con envoltura. Su acción antimicrobiana ocurre una vez que el agente microbicida difunde a través del gel, formulado con hidroxietilcelulosa, y ataca la superficie microbiana, impidiendo la adhesión del patógeno a las células de la mucosa vaginal. Sin embargo, SAVVY gel[®] no demostró ser eficaz en la prevención de la infección por VIH, es más, en los ensayos clínicos realizados, se observó que en los pacientes tratados con placebo, hubo menos infecciones por VIH que en aquellos tratados con SAVVY gel[®] [10]. Aún así, faltan datos y estudios que nos permitan afirmar que dicho gel favorezca la infección.

El Carraguard[®] es otro gel cuyo principio activo es el carragenano, un polisacárido lineal sulfatado que se extrae de algas marinas y se utiliza a menudo como agente gelificante, espesante y conservante en la industria farmacéutica. Inhibe la penetración del virus formando una especie de revestimiento en la vagina al ser mucoadhesivo. Se diseñó con el fin de ser aplicado una hora antes de la relación sexual, para proteger a la mujer de la infección por VIH [11]. Demostró tener una muy buena biodisponibilidad, versatilidad, ser seguro y económico. Se presentó como uno de los microbicidas más prometedores en la prevención de la infección por VIH, había muchas expectativas en él. Sin embargo, en 2008 se demostró su ineficacia. Actualmente, se está valorando

utilizar el gel como un vehículo en el que se incluyan otros fármacos antirretrovirales [12,13].

El PC-815[®] es otro gel que también contiene carragenano, y lo combina con un inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleósidos/nucleótidos, el MIV-150, que previene la replicación de las células ya infectadas por VIH (y por lo tanto, impide la expansión del virus) y acetato de zinc. Estudios preclínicos con MIV-150 demostraron un aumento significativo de la actividad frente al VIH sin efectos tóxicos, además de una baja biodisponibilidad oral, que le hace ser un componente ideal para la administración vaginal. Además el gel PC-815[®] (carragenano/MIV-150/zinc) en sí, presentó *in vitro* una mayor actividad microbicida frente al VIH que el Carraguard[®] [14].

El PRO2000[®], gel que tiene como principio activo un polímero sintético, el sulfonato de naftaleno. Se trata de un polianión con cargas negativas que tiene la habilidad de interactuar con las cargas positivas de la glicoproteína 120 del virus, impidiendo que ésta reconozca la proteína diana CD4+ de las células inmunes, y por lo tanto inhibe la fusión del virus y su entrada en la célula. Ensayos *in vitro* e *in vivo* han demostrado que PRO2000[®] es seguro y bien tolerado, no presenta efectos tóxicos, y es compatible con el uso de preservativos. Sigue en ensayos de fase III, y aunque parecía prometedor, aún no ha demostrado ser efectivo en la prevención de la transmisión sexual del VIH [15].

Otro polianión es el VivaGel[®], que tiene SPL7013 como principio activo. Este principio activo es un dendrímero (creado mediante nanotecnología) que no es un vector si no un microbicida en sí, con actividad antiviral frente al VIH. Tras los ensayos clínicos, emergió como el dendrímero más prometedor, capaz de unirse al virus y bloquear su entrada en la célula hospedadora. Actualmente, sigue en estudio [16].

La CAP (celulosa acetato-ftalato) forma otro gel que es capaz de inhibir la fusión del VIH con la célula diana (y por lo tanto impide su entrada) ya que se une y bloquea las proteínas gp120 y gp41. Es el candidato más importante dentro de la categoría de inhibidores de la entrada del virus. Ha demostrado actividad frente al Virus del Herpes simple tipo 1 y 2 (VHS-1 y VHS-2) y VIH-1, y al no ser absorbido por el epitelio vaginal, posee una acción local microbicida sin efectos sistémicos tóxicos. Por ahora, continúa estudiándose [17].

Un último gel es el Ushercell[®], formado por sulfato de celulosa que es un polianión formulado como hidrogel, con viscosidad elevada. Ha mostrado ser activo frente al VIH-1 *in vitro* además de seguro, sin embargo *in vivo* resulta ser ineficaz [18].

Otros geles diseñados para impedir la entrada del patógeno son los denominados acidificantes, soluciones tampón capaz de mantener la acidez normal de la vagina en presencia del semen eyaculado, por lo que destruiría las células del espermatozoide. Es el caso del BufferGel[®] y del Acidfrom[®] gel, cuyos estudios proponen que un medio ácido podría inhibir la transmisión del VIH. Por el momento, se ha demostrado su seguridad, pero no parece que interfiera de ninguna manera en la transmisión del virus [19].

Algunos geles son formulados con proteínas, como las lectinas. La Cianovirina-N (CV-N) es una proteína procedente de cianobacterias capaz de unirse irreversiblemente a la proteína gp120 y por lo tanto, evitar la entrada del virus, inactivando eficazmente tanto el VIH-1 como el VIH-2. Es por ello, que se formularon geles con CV-N al 1% y al 2% y ambos demostraron ser seguros en macacos, además de ofrecer una eficaz protección frente al virus. Por lo tanto, la Cianovirina-N podría ser una buena opción para ser utilizada en ensayos clínicos como microbicida de aplicación vaginal [20]. La Grifitsina es otra lectina extraída de algas rojas, y posee el mismo mecanismo de acción que la CV-N. Actualmente sigue en estudio, y está resultando prometedor, ya que demuestra eficacia en concentraciones ínfimas y no es ni irritante ni inflamatorio. Además, la Grifitsina se ha conseguido expresar y purificar a partir de plantas transgénicas, lo que supone un buen avance económico [21].

Finalmente, hablaremos de los geles microbicidas que incluyen fármacos antirretrovirales capaces de inactivar al VIH.

El Maraviroc, es un fármaco aprobado para el tratamiento de la infección por VIH con tropismo CCR5 en adultos. Es un antagonista de los receptores CCR5, proteínas localizadas en los linfocitos T, a las que se une el virus para poder entrar en las células. El fármaco se une a estos receptores impidiendo la unión por el virus, y por lo tanto, evitando que el VIH infecte y se multiplique en las células. Cabe destacar, que no es un fármaco activo en todos los pacientes, ya que en algunas personas el virus utiliza otro receptor llamado CXCR4 para penetrar en la célula [22].

Se han realizado varios ensayos con geles de Maraviroc. Por ejemplo, se evaluó la eficacia de un gel tópico vaginal de hidroxietilcelulosa con Maraviroc al 2,2% en ratones. Se aplicó el gel a las hembras y una hora después se expusieron al VIH-1 por vía vaginal para comparar la acción protectora de dicho gel frente a placebo, observando que ningún ratón se infectó por el virus, mientras que todos aquellos tratados con placebo sí fueron infectados [23].

Otro ensayo estudió la eficacia en macacos de un gel de hidroxietilcelulosa con Maraviroc en distintas concentraciones, consiguiéndose una protección completa frente al virus al usar el gel con 3,3% de Maraviroc. Sin embargo, para conseguir esta protección completa frente al virus es esencial una concentración elevada en fluido vaginal, algo que solo se consiguió en el intervalo desde los 30 minutos a las 2 horas tras la administración del gel, por lo que, para una protección eficaz, es necesario controlar el tiempo entre la aplicación y el contacto con el virus [24].

Esto muestra el gran problema que tienen los geles vaginales: los antirretrovirales que se administran en geles no tienen una acción prolongada en el tiempo, por lo que su uso debe ser restringido a periodos cortos, o bien ser administrados varias veces. Para solucionar este problema, se realizaron nuevos estudios para intentar alargar el tiempo de permanencia y la mucoadhesión del gel. Uno de ellos propone formulaciones de Maraviroc en un gel de silicona. Se evaluó la acción de estos geles frente a aquellos de hidroxietilcelulosa (citados anteriormente) consiguiéndose con los primeros concentraciones mayores y más sostenidas (prolongadas en el tiempo) de Maraviroc en fluido vaginal [25].

Los análogos de nucleósidos/nucleótidos son un grupo de inhibidores de la transcriptasa inversa. El primero que demostró su actividad antirretroviral frente al VIH, y el más estudiado de éstos, es el Tenofovir. Este fármaco, bloquea la actividad de la transcriptasa inversa, por lo que impide que el material genético viral pueda replicarse y por lo tanto evita que el virus se multiplique e infecte otras células. Se aprobó su administración para el tratamiento de seropositivos de al menos dos años de edad [26].

El estudio CAPRISA 004 evaluó la eficacia de un gel de Tenofovir al 1% como preventivo del VIH en mujeres sudafricanas. Se observó que el gel lograba disminuir en un 39% las infecciones del VIH, llegándose incluso al 54% de protección cuando las mujeres tenían alta adherencia al tratamiento [27,28]. Sin embargo, no todos los estudios dieron tan buenos resultados. Existen estudios más recientes donde al utilizarse

el gel de Tenofovir al 1% en mujeres africanas, no se redujo la posibilidad de contagio por VIH, aunque haya que destacar la poca adherencia al tratamiento, que resulta esencial [29]. También se ha demostrado que dicho gel de Tenofovir de administración vaginal no tiene una citotoxicidad significativa en mujeres y que por lo menos es seguro. Así pues, aunque se hayan obtenido tanto resultados negativos como positivos en los ensayos clínicos, se apoya la eficacia de este gel de Tenofovir en la prevención de la transmisión del VIH-1, siempre que la adherencia al tratamiento sea la adecuada [7].

Una vez habiendo descrito los geles más estudiados y más utilizados actualmente, solo nos queda decir que estas formulaciones farmacéuticas son las más utilizadas para la administración vaginal de microbicidas por su comodidad, pero que sin embargo, son también las más molestas de usar ya que hay que aplicarlas varias veces al día para ofrecer una protección adecuada.

Comprimidos y cápsulas vaginales

Los comprimidos y cápsulas vaginales están diseñados para fundirse, dispersarse o bien disolverse en la vagina liberando el principio activo que contienen.

Al igual que los geles, pueden incluir polímeros mucoadhesivos en su composición, lo que hace aumentar el tiempo de residencia del principio activo en la vagina, y por lo tanto, incrementar el tiempo de protección frente al VIH.

Como comprimidos, tenemos aquellos que contienen Tenofovir, y que son de liberación prolongada. En efecto, se formulan junto a polímeros mucoadhesivos, con el fin de aumentar la capacidad de unión a la mucosa permitiendo incrementar el tiempo de permanencia del fármaco en el lugar de acción, pudiendo proteger así a la mujer de la infección por VIH durante periodos de tiempo más largos (y aplicarse menos veces al día o a la semana).

En comparación con otras formulaciones, los comprimidos también presentan ventajas: son de fácil elaboración, económicos, estables en diferentes condiciones ambientales y de fácil y cómodo manejo. Así pues, si se consiguiese hallar el polímero mucoadhesivo apropiado, o bien una mezcla idónea de éstos, se podría desarrollar una formulación vaginal óptima para la liberación controlada *in situ* del fármaco, en la zona donde se produce la transmisión del VIH [30].

Como cápsulas, cabe destacar las cápsulas blandas con gel que contiene *Lactobacillus*. Las bacterias de los géneros *Lactobacillus* son consideradas como probióticos y aunque su potencial como microbicidas aún es controvertido, cada vez tienen mayor reconocimiento al intentar promover la colonización de la vagina. De este modo, se estudian las bacterias de este género con el objetivo de modificarlas genéticamente para que sean capaces de expresar moléculas con capacidad de inhibir al VIH. Así mismo, han de resultar estables genéticamente, se deben de adherir y persistir correctamente en la mucosa vaginal, para así producir el compuesto de interés (microbicida) en concentraciones suficientes y sostenidas para inhibir al virus, sin afectar al balance normal de la microflora vaginal [31,32].

Así, se ha logrado desarrollar una cepa de *Lactobacillus jensenii* capaces de colonizar correctamente la vagina de ratones y producir altos niveles de CV-N durante largos periodos de tiempo [33].

Debido al éxito del ensayo en ratones, esta misma cepa se estudió posteriormente en macacos con el fin de valorar su influencia en el medio vaginal y sobre la mucosa, observándose que, aunque no todos los macacos fueron capaces de retener la cepa, aquellos que si lo lograron tenían un pH vaginal más bajo y menores niveles de mediadores de la inflamación. Por lo que este estudio demostró que la cepa bacteriana no solo era segura, sino que también puede tener un impacto positivo en el medio vaginal [34].

Además, otro estudio posterior demostró que los macacos colonizados con este tipo de bacteria, presentaban una importante reducción de la infección de una cepa simio-quimérica del VIH (SHIV-SF162P3), y aunque la protección no fuese total, aquellas hembras que, pese a la colonización por *Lactobacillus* genéticamente modificados, si que habían sido infectadas, tenían picos de carga viral seis veces menores que aquellas que no habían sido colonizadas [35].

Por lo tanto, aunque aún sean necesarios muchos estudios sobre el tema de los probióticos, hoy por hoy demuestran ser una estrategia prometedora para el desarrollo de futuras formulaciones vaginales para la prevención de la infección por VIH.

Anillos vaginales

Los anillos vaginales se diseñaron para administrar una dosis única de un microbicida obien como sistemas de liberación sostenida. Se clasifican en función del tipo de

polímero que los forma, que principalmente suelen ser elastómeros de silicona o polímeros termoplásticos vaginales. Existen varias ventajas en el uso de estas formas farmacéuticas: una velocidad de liberación controlada, una dosificación exacta, la estabilización de la molécula activa, la prevención de interacciones entre medicamentos, una habilidad para separar fármacos y otras moléculas incompatibles. Además, es de fácil y cómoda colocación, indolora, inodora, e indetectable por la pareja sexual, lo que hace de los anillos la formulación vaginal preferida por la población femenina [36].

Este tipo de formulaciones vaginales empezaron a desarrollarse con el objetivo de ser utilizadas como anticonceptivos (NuvaRing®).

La posibilidad de usar anillos vaginales de silicona capaces de liberar microbicidas se estudió inicialmente con el N-9. Se realizó un ensayo *in vitro* con anillos vaginales que contenían diferentes cantidades de N-9, donde se observó que las dosis liberadas no solo no prevenían la infección por el VIH sino que destruían el epitelio vaginal favoreciendo la contaminación por el virus. [37].

Por otra parte, para intentar solventar el problema del reducido tiempo de protección del gel de Maraviroc, se trataron de conseguir formas farmacéuticas de liberación sostenida con este microbicida. Se realizaron ensayos con anillos vaginales de elastómero de silicona que incluían el fármaco y que liberaban el principio activo de forma controlada a lo largo de 28 días. En el estudio se llegaron a conseguir concentraciones en fluido vaginal superiores a la CI50 (concentración inhibitoria en el 50% de los casos) y por lo tanto, se demostró un tiempo de protección adecuado para la mujer [38].

Así mismo, como formulaciones alternativas a los geles de Tenofovir, se ha ensayado la eficacia de anillos vaginales cargados con Tenofovir disoproxil fumarato (TDF) en hembras de macaco frente a placebo. Durante un tiempo de 12 semanas, los animales se expusieron al virus por vía vaginal, una vez a la semana. Se observó que todos los macacos tratados con placebo sufrieron la infección, mientras que únicamente uno de los seis que recibieron anillos cargados con TDF resultó infectado. Por lo tanto, a la vista de los resultados, se puede afirmar que el anillo con TDF proporciona una protección duradera, aún frente a repetidas exposiciones al virus [39].

Finalmente, hablaremos del anillo de Dapivirina, el único anillo clínicamente evaluado para la liberación de un microbicida. Se trata de un anillo vaginal de silicona desarrollado con polímeros que modifican y controlan la cinética de liberación del fármaco. Ha sido extensamente probado y evaluado, y ha demostrado ser seguro y bien tolerado, además de una liberación controlada del fármaco durante 28 días [40]. Por lo tanto, se considera una de las estrategias más prometedoras para el desarrollo de microbicidas tópicos para la prevención de la transmisión del VIH-1, pero la más cara. Se ha estudiado también su combinación con Tenofovir en anillos intravaginales de poliuretano, sin embargo, la distinta hidrofilia de los fármacos obliga a formularlos por separado, provocando que la liberación de los principios activos desde la forma farmacéutica no se realice de forma simultánea [41].

Existen otro tipo de formas farmacéuticas vaginales para la prevención de la infección por VIH, como pueden ser las dispersiones sólidas (con Maraviroc), films... pero en este trabajo nos hemos centrado en las más importantes y en las que poseen mayor proyección de futuro. Por ahora, los anillos vaginales van en cabeza al permitir una protección eficaz y duradera en el tiempo, comodidad, además de ser indetectables. Son las preferidas por la población femenina.

CONCLUSIONES

Se sigue todavía buscando e intentando desarrollar el microbicida vaginal ideal, con las propiedades farmacocinéticas adecuadas para una buena penetración y distribución en la mucosa vaginal, que sea eficaz, cuya acción perdure en el tiempo, seguro, económico y aceptado por la población femenina. Con lo descrito en este trabajo, se puede concluir que los microbicidas en formulaciones vaginales son una opción prometedora para prevenir la transmisión sexual del VIH. Aunque actualmente casi la totalidad de éstos se encuentren aún en estudio, hay grandes expectativas, además de muchos proyectos de formulaciones vaginales más modernas que se encuentran en primeras fases de desarrollo (tales como productos creados por nanotecnología, microorganismos modificados genéticamente...).

Desde las últimas décadas, se ha avanzado enormemente en esta lucha contra el SIDA, y los resultados obtenidos son enormemente esperanzadores. Por esta razón y gracias a

las últimas innovaciones, se prevé que se pueda acabar con esta pandemia en un futuro no muy lejano.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fauci A.S, Folkers G.K, Dieffenbach C.W. HIV-AIDS: Much accomplished, much to do. *Nat. Immunol.* 2013; 14 (11): 1104–1107.
2. MedlinePlus, disponible en :
<https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000594.htm>
3. Universidad nacional autónoma de México:
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/virologia/sida-vih.html>
4. Recomendaciones de GESIDA/Plan Nacional sobre el Sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (actualización enero 2012). [Consulta Febrero 2016]. Disponible en:
www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X1200153X
5. On the Fast-Track to end AIDS (UNAIDS, 2016-2021 Strategy). [Consulta Febrero 2016]. Disponible en:
www.unaids.org/sites/default/files/media_Asset/20151027_UNAIDS_PCB37_15-18_EN_rev1.pdf
6. Weber J, Desai K, and Darbyshire J. The development of vaginal microbicides for the prevention of HIV transmission. *PLoS Medicine.* 2005; 2(5): 0392-0395.
7. Sophia G. Antimisiaris, Spyridon Mourtas. Recent advances on anti-HIV vaginal delivery systems development. 2015; 7 (92): 123-45.
8. Verman K, and Garg S. The scope and potential of vaginal drug delivery. *PSTT.* 2000; 3(10): 359-364.
9. van Damme L, Adriens E, and Ramjee G. The evaluation of the local tolerance of vaginal formulations with or without nonoxynol-9 using the slug mucosal irritation test. *Contraception.* 2002; 66(5): 369–375.
10. Wilkinson D, Tholandi M, Ramjee G, Rutherford GW. Nonoxynol-9 spermicide for prevention of vaginally acquired HIV and other sexually transmitted

- infections: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials including more than 5000 women. *Lancet Infect Dis.* 2002; 2(10): 613-7.
11. Feldblum PJ, Adeiga A, Bakare R, Wevill S, Lendvay A, Obadaki F et al. SAVVY vaginal gel (C31G) for prevention of HIV infection: a randomized controlled trial in Nigeria. *PLoS One* 2008; 3(1): e1474.
 12. B. R. O' Keef. Biologically active proteins from natural product extracts. *J. Nat. Prod.* 2001; 64(10): 1373-81.
 13. Skoler-Karppoff S, Ramjee G, Ahmed K, Altini L, Plagianos MG, Friedland B et al. Efficacy of Carraguard for prevention of HIV infection in women in South Africa: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2008; 372(9654): 1977-87.
 14. Fernández-Romero José A, Mitchell T, Stuart G, et al. Carrageenan/MIV-150 (PC-815), a combination microbicide. *Sex. Transm. Dis.* 2007; 34(1): 9–14.
 15. McCormack S, Ramjee G, Kamali A, Rees H, Crook AM, Gafos M et al. PRO2000 vaginal gel for prevention of HIV-1 infection (Microbicides Development Programme 301): a phase 3, randomised, double-blind, parallel-group trial. *Lancet* 2010; 376(9749): 1329-37.
 16. Abdool Karim SS, Richardson BA, Ramjee G, Hoffman IF, Chirenje ZM, Taha T et al. Safety and effectiveness of BufferGel and 0.5% PRO2000 gel for the prevention of HIV infection in women. *AIDS* 2011; 25(7): 957-66.
 17. Tyssen D, Henderson S.A, Johnson A, Sterjovski J, Moore K, La J, et al. Structure activity relationship of dendrimer microbicides with dual action antiviral activity. *PLoS ONE.* 2010; 5(8): e12309.
 18. Haase A.T. Early events in sexual transmission of HIV and SIV and opportunities for interventions, *Annu. Rev. Med.* 2011; 62(1): 127–139
 19. Abdool Karim SS, Richardson BA, Ramjee G, Hoffman IF, Chirenje ZM, Taha T et al. Safety and effectiveness of BufferGel and 0.5% PRO2000 gel for the prevention of HIV infection in women. *AIDS* 2011; 25(7): 957-66.
 20. Tsai CC, Emau P, Jiang Y, Tian B, Morton WR, Gustafson KR et al. Cyanovirin-N gel as a topical microbicide prevents rectal transmission of SHIV89.6P in macaques. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2003; 19(7): 535-41.
 21. O'Keefe BR, Vojdani F, Buffa V, Shattock RJ, Montefiori DC, Bakke J et al. Scaleable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component. *Proc Natl Acad Sci*

- USA. 2009; 106(15): 6099-104.
22. Celsentri®. Ficha técnica del medicamento. European Medicines Agency.
Disponible: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000811/WC500022190.pdf
 23. Neff CP, Kurisu T, Ndolo T, Fox K, Akkina R. A topical microbicide gel formulation of CCR5 antagonist maraviroc prevents HIV-1 vaginal transmission in humanized RAG-hu mice. *PLoS One* 2011; 6(6): e20209.
 24. Malcolm RK, Forbes CJ, Geer L, Veazey RS, Goldman L, Klasse PJ et al. Pharmacokinetics and efficacy of a vaginally administered maraviroc gel in rhesus macaques. *J Antimicrob Chemother.* 2013; 68(3): 678-83.
 25. Forbes CJ, Lowry D, Geer L, Veazey RS, Shattock RJ, Klasse PJ et al. Non-aqueous silicone elastomer gels as a vaginal microbicide delivery system for the HIV-1 entry inhibitor maraviroc. *J Control Release* 2011; 156(2): 161-9.
 26. McConville C, Friend DR, Clark MR, Malcolm K. Preformulation and development of a once-daily sustained-release tenofovir vaginal tablet containing a single excipient. *J Pharm Sci.* 2013; 102(6): 1859-68.
 27. Karim Q.A, Karim S.S.A, Frohlich J.A, Grobler A.C, Baxter C, Mansoor LE, et al. Effectiveness and safety of tenofovir gel, an antiretroviral microbicide, for the prevention of HIV infection in women. 2010; 329(6): 1168-1174.
 28. Celum C, Baeten J.M. Tenofovir-based pre-exposure prophylaxis for HIV prevention: evolving evidence, *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2012; 25(1): 51-7.
 29. Marrazzo JM, Ramjee G, Richardson BA, Gomez K, Mgodhi N, Nair G et al. Tenofovir-based preexposure prophylaxis for HIV infection among African women. *N Engl J Med.* 2015; 372(6): 509-18.
 30. McConville C, Friend DR, Clark MR, Malcolm K. Preformulation and development of a once-daily sustained-release tenofovir vaginal tablet containing a single excipient. *J Pharm Sci.* 2013; 102(6): 1859-68.
 31. Rademacher T, Sack M, Arcalis E, Stadlmann J, Balzer S, Altmann F et al. Recombinant antibody 2G12 produced in maize endosperm efficiently neutralizes HIV-1 and contains predominantly single-GlcNAc N-glycans. *Plant Biotechnol J.* 2008; 6(2): 189-201.
 32. Fernández Romero JA, Gilb PI, Ré V, Robbiani M, Paglini G. Microbicidas para la prevención de infecciones de transmisión sexual: estado actual y estrategias para la evaluación preclínica de nuevos candidatos. 2014; 46(3):256-68.

33. Liu X, Lagenaur LA, Simpson DA, Essenmacher KP, Frazier-Parker CL, Liu Y et al. Engineered vaginal lactobacillus strain for mucosal delivery of the human immunodeficiency virus inhibitor cyanovirin-N. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50(10): 3250-9.
34. Brichacek B, Lagenaur LA, Lee PP, Venzon D, Hamer DH. In vivo evaluation of safety and toxicity of a *Lactobacillus jensenii* producing modified cyanovirin-N in a rhesus macaque vaginal challenge model. *PLoS One* 2013; 8(11): e78817.
35. Lagenaur LA, Sanders-Beer BE, Brichacek B, Pal R, Liu X, Liu Y et al. Prevention of vaginal SHIV transmission in macaques by a live recombinant *Lactobacillus*. *Mucosal Immunol.* 2011; 4(6): 648-57.
36. Washington N, Washington C, and Wilson C. G. Vaginal and intrauterine drug delivery. In N. Washington, C. Washington, and C. G. Wilson (eds.), *Physiological Pharmaceutics: Barriers to Drug Absorption*, Taylor and Francis, London. *AAPS PharmSciTech.* 2008 Jun; 9(2): 505–520.
37. Malcolm K, Woolfson D, Russell J, Andrews C. In vitro release of nonoxynol-9 from silicone matrix intravaginal rings, *J. Control.* 2003; 91(3): 355-364.
38. Malcolm RK, Veazey RS, Geer L, Lowry D, Fetherston SM, Murphy DJ et al. Sustained release of the CCR5 inhibitors CMPD167 and maraviroc from vaginal rings in rhesus macaques. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(5): 2251-8.
39. Smith JM, Srinivasan P, Teller RS, Lo Y, Dinh CT, Kiser PF et al. Tenofovir disoproxil fumarate intravaginal ring protects high-dose depot medroxyprogesterone acetate-treated macaques from multiple SHIV exposures. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2015; 68(1): 1-5.
40. Nel A, Haazen W, Nuttall J, Romano J, Rosenberg Z, van Niekerk N. A safety and pharmacokinetic trial assessing delivery of dapivirine from a vaginal ring in healthy women. *AIDS* 2014; 28(10): 1479-87.
41. Johnson TJ, Gupta KM, Fabian J, Albright TH, Kiser PF. Segmented polyurethane intravaginal rings for the sustained combined delivery of antiretroviral agents dapivirine and tenofovir. *Eur J Pharm Sci.* 2010; 39(4): 203-12.

