

O manejo da infecção pelo HIV: os problemas atuais e as novas promessas da nanotecnologia

The HIV infection management: the current problems and the new promises from nanotechnology

Juliana Emanuelli¹ & Irene Clemes Kulkamp Guerreiro^{1,2,3*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Terapêutica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Nanotecnologia Farmacêutica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

*Correspondência:

Irene Clemes Kulkamp Guerreiro.

Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Departamento de Produção de Matéria-prima

Av. Ipiranga, 2752 - Bairro Santana - CEP 90610-000 Porto Alegre, RS.

irene@ufrgs.br

Esta obra está licenciada com a Licença *Creative Commons Attribution License* (CC BY 3.0).

RESUMO

O manejo da síndrome da imunodeficiência adquirida em humanos enfrenta grandes desafios, devido à ausência de uma vacina eficaz, dificuldades de monitoramento da doença, bem como aos problemas da terapia antirretroviral. A terapia atual não é capaz de eliminar o vírus do organismo devido a uma complexa problemática relacionada às características físico-químicas dos fármacos, formas farmacêuticas disponíveis e à existência de reservatórios virais no organismo. O desenvolvimento de novas tecnologias capazes de contornar a problemática da terapia atual e curar o paciente é de primordial importância no contexto atual. A pesquisa no desenvolvimento de formulações nanotecnológicas e de vacinas é uma proposta promissora para atingir este propósito. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é apresentar, na forma de uma revisão narrativa, os pontos críticos e as limitações que impedem o sucesso da terapêutica atual apresentando novas tecnologias para o desenvolvimento de terapias medicamentosas mais eficazes. O presente trabalho é pioneiro por apresentar as vantagens da nanotecnologia na veiculação de fármacos antirretrovirais com enfoque nos problemas e limitações de diferentes classes terapêuticas, considerando ainda a classificação biofarmacêutica.

Palavras-chave: HIV, Desenvolvimento Tecnológico, Fármacos Antirretrovirais, Nanotecnologia.

ABSTRACT

The management of the immunodeficiency syndrome in humans faces major challenges due to the absence of an effective vaccine, the disease monitoring difficulties and the issues of antiretroviral therapy. Current therapy is not able to eliminate the virus from the body due to the complex problems related to the physicochemical characteristics of the drugs, the available pharmaceutical forms and the existence of viral reservoirs in the body. The development of new technologies able to solve the problems of current therapy and achieve the patient cure is of major importance in the current scenario. The research in the development of nanotechnology formulations and vaccines is a promising proposal to achieve this purpose. In this context, the aim of this paper is to present, in the form of a narrative review, the critical points and limitations that block the success of the current therapy, and to present new technologies that could be used to the development of more effective drug therapies. This innovative revision presents the advantages of nanotechnology to delivery antiretroviral drugs with the focus on issues and limitations of several drug classes, considering the biopharmaceutical classification system.

Key words: HIV, Technological Development, Anti-Retroviral Drugs, Nanotechnology.

INTRODUÇÃO

Em pleno século XXI, e com mais de trinta e cinco milhões de pessoas infectadas (WHO, 2014), a epidemia do vírus da imunodeficiência humana atingiu um ponto crítico, uma vez que a eliminação total do vírus do organismo ainda não é possível, embora exista tratamento para conter a replicação viral.

Este fato está relacionado principalmente à existência de reservatórios virais no organismo e a problemas biofarmacêuticos dos fármacos disponíveis para a terapia. Além disso, o tratamento envolve o uso de altas doses e a combinação de múltiplos medicamentos com efeitos colaterais acentuados, dificultando a adesão do paciente (Amiji, Vyas & Shah, 2009; Vyas, Shah & Amiji, 2006; Li & Chan, 1999). Outro ponto crítico é a alta variabilidade genotípica apresentada pelo vírus, o que dificulta o desenvolvimento de vacinas e contribui para a resistência viral às terapias medicamentosas existentes (Da Silva & Richtmann, 2006; Apetrei, Marx & Smith, 2004).

Nesse contexto, observa-se a necessidade de pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos e formulações farmacêuticas diferenciadas, mais eficazes, com menores efeitos colaterais e com melhor biodisponibilidade, permitindo o alcance de concentrações plasmáticas suficientes para a eliminação total do vírus e consequente cura do paciente (Feitosa *et al.*, 2008; Li & Chan, 1999).

Neste ínterim, o objetivo do presente trabalho é apresentar, na forma de uma revisão narrativa, os pontos críticos e as limitações que impedem o sucesso da terapêutica atual, apresentando novas tecnologias para o desenvolvimento de terapias medicamentosas mais eficazes. O presente trabalho é pioneiro por apresentar as vantagens da nanotecnologia na veiculação de fármacos antirretrovirais com enfoque nos problemas e limitações de diferentes classes terapêuticas, considerando ainda a classificação biofarmacêutica.

A problemática do HIV

A infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida afeta principalmente países mais pobres, de forma que aproximadamente 68% de todas as pessoas que são portadoras desse vírus no mundo residem na África Subsaariana, região que representa 12% da população mundial (WHO, 2011). Outras importantes regiões afetadas pelo HIV incluem o Caribe, a América Latina, bem como, o sul e sudeste da Ásia. No Brasil, no ano de 2014, foram registrados aproximadamente 734 mil pessoas vivendo com HIV/SIDA (Brasil, 2013), o que corresponde a uma prevalência de 0,4%. A taxa de

deteção no Brasil nos últimos 10 anos tem apresentado estabilização com uma média de 20,5 casos para cada 100 mil habitantes (Brasil, 2013).

O HIV é um retrovírus com genoma RNA (ácido ribonucléico), que apresenta um período de incubação prolongado e com capacidade para infectar células sanguíneas e do sistema nervoso, bem como causar supressão do sistema imune (Brasil, 2013). A infecção celular acontece quando o vírus se liga a um receptor celular (geralmente T CD4+) por meio de sua proteína gp 120, permitindo a sua penetração e a entrada do capsídeo viral no interior da célula, com a liberação do complexo núcleo-proteico no citoplasma da célula hospedeira. O material genético liberado na célula é convertido em duas fitas de DNA complementar (cDNA) através da ação da enzima transcriptase. A cópia de DNA de dupla hélice é então transportada ao núcleo celular onde uma segunda enzima, integrase, catalisa a incorporação do DNA viral ao material genético do hospedeiro. A expressão dos genes virais resulta na formação de poliproteínas virais que juntamente com o RNA movem-se para a superfície da célula para formação de novos vírus que apenas se tornam infectantes após a ação da enzima protease, capaz de processar as poliproteínas virais em proteínas e enzimas estruturais essenciais (De Souza & De Almeida, 2003).

A primeira fase da doença conhecida como infecção aguda tem por característica o ataque do vírus ao sistema imune. Essa fase dura de 3 a 6 semanas e os sintomas característicos como febre e mal-estar são muito parecidos com os sintomas de gripe, por isso passam despercebidos pela maioria dos portadores. O período assintomático é a próxima etapa da doença, e é caracterizado pelo equilíbrio entre amadurecimento e morte do vírus no organismo. Essa fase pode durar anos, enquanto o sistema imune é hábil para manter esse equilíbrio (Bonolo *et al.*, 2008).

Devido ao frequente ataque, as células imunes ficam fracas e surge a fase sintomática inicial, caracterizada pela diminuição exacerbada dos linfócitos T CD4+ no organismo. Com a depleção dos linfócitos devido à infecção, micro-organismos tais como fungos, vírus e parasitas causam infecções oportunistas em portadores do HIV que entram no estágio de SIDA. A doença, portanto, caracteriza-se por pronunciada supressão do sistema imune, levando à exacerbação de diversas infecções oportunistas (Gouveia, 2010).

Segundo o Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais do Ministério da Saúde, o tratamento deve ser iniciado imediatamente na fase sintomática onde o indivíduo apresenta-se em estágio de SIDA (Brasil, 2013). Um fator importante a ser destacado é qual o momento ideal de início do tratamento na fase assintomática, que ainda é desconhecido, geralmente indicado quando a contagem de linfócitos TCD4+ encontra-se inferior a 500 células/mm³ (WHO, 2014). Há evidências de que algumas condições clínicas não relacionadas à SIDA devam ser consideradas na definição do risco de progressão da infecção, pois a replicação viral e a ativação imune crônica foram associadas

2166

ao desenvolvimento de doenças não tradicionalmente relacionadas à infecção pelo HIV, como doenças cardiovasculares e neoplasias, mesmo em pessoas que não apresentavam sintomas e com contagens elevadas de linfócitos TCD4+ (Bedimo *et al.*, 2009; Hammer *et al.*, 2008).

Com isso, foi conduzido um grande estudo randomizado denominado START (*Strategic Timing of AntiRetroviral Treatment*), reunindo mais de 4.000 pessoas. Este é o primeiro estudo a oferecer provas científicas para apoiar as diretrizes para o tratamento do HIV que recomendam que todos os indivíduos assintomáticos infectados pelo HIV iniciem o tratamento antirretroviral, independente da contagem de linfócitos TCD4+ (Lundgren *et al.*, 2015; NIH, 2017).

O HIV possui uma grande variabilidade genética e antigênica, que dificulta o desenvolvimento de vacinas e o tratamento com fármacos antirretrovirais (Pinto & Struchiner, 2006; Rambaut *et al.*, 2004). Atualmente, não existem medicamentos específicos para os subtipos de HIV. Propõe-se que o desenvolvimento de terapias focadas nos tipos específicos poderia diminuir a resistência intrínseca dos vírus.

Um dos fatores que contribui para a alta variabilidade encontrada no HIV é relacionado à enzima transcriptase reversa (TR). Esta enzima não possui a propriedade de correção durante o processo de replicação viral, o que resulta em uma taxa de erro na incorporação de nucleotídeos, que por sua vez implica em resistência viral (Pinto & Struchiner, 2006; Overbaugh & Bangham, 2001). Outro fator que está relacionado é a ocorrência de recombinação homóloga durante a transcrição reversa. Nesse caso, a enzima TR pode migrar de uma fita de RNA para outra, dando origem a uma fita de DNA viral que contém segmentos dos dois RNA iniciais (Hu & Temin, 1990). Porém, para que de fato esta recombinação contribua na geração da variabilidade, é necessário que as duas fitas de RNA presentes no vírus sejam diferentes, sendo necessário que previamente tenha ocorrido o desenvolvimento de genomas virais heterozigotos, que por sua vez só se formarão caso uma única célula do hospedeiro tenha sido infectada simultaneamente por duas variantes do vírus (Janini *et al.*, 1998; Hu & Temin, 1990).

São conhecidos dois tipos diferentes de HIV capazes de causar infecção e doença em seres humanos, o HIV-1 e o HIV-2. A principal diferença corresponde à ocorrência de uma progressão mais lenta da imunodeficiência associada à infecção pelo HIV-2, possuindo uma menor eficiência de transmissão, bem como menor prevalência do que HIV-1 (Cohen *et al.*, 2008; De Silva, Cotten & Rowland-Jones, 2008; Thomson & Nájera, 2005).

O HIV-1 é classificado em três grupos, M, N e O. O grupo M, que contém aproximadamente dez subtipos (A-J), é responsável pela maioria das infecções. O subtipo C é reconhecido como sendo o mais prevalente, com 56% das infecções no mundo. No Brasil, os subtipos B e C são os mais frequentes, com a prevalência mais alta do subtipo C no estado do Rio Grande do Sul. Em relação

2167

ao HIV-2, cinco subtipos foram identificados (A-E). Entre cada subtipo encontrado existe uma variabilidade extensiva (Pereira, 2010).

A complexidade de populações virais encontrada nos hospedeiros do HIV-1 é um motivo de grande preocupação, pois estas populações respondem rapidamente às perturbações do ambiente, como por exemplo, mediante a administração de fármacos antirretrovirais, se replicando e oferecendo um grande espectro de mutantes sobre os quais a seleção natural pode atuar. A pressão seletiva que é exercida constantemente pelo sistema imune causa uma adaptação do vírus a novas células-alvo induzindo a uma infecção persistente (Pinto & Struchiner, 2006; Overbaugh & Bangham, 2001).

A terapia existente

Segundo o Ministério da Saúde, a terapia para tratamento do paciente infectado se baseia na diminuição da morbidade e mortalidade objetivando a melhoria da qualidade e expectativa de vida do portador e não na erradicação da doença. Tem por objetivo, também, reduzir a carga viral ao mínimo para deter a progressão da doença e reduzir ou prevenir as variantes resistentes (Brasil, 2013). A própria definição do tratamento já demonstra, por si só, a ineficácia do mesmo na erradicação viral.

O estímulo para o início do tratamento imediato independente da contagem de linfócitos T CD4 tem por objetivo diminuir a taxa de transmissão do vírus e leva em conta a motivação do portador. Porém, a falha virológica pode ocorrer em função da baixa adesão ao tratamento devido à complexidade posológica e a ocorrência de efeitos colaterais, que são características do tratamento antirretroviral (Brasil, 2013). Outros fatores associados à falha virológica são relacionados à utilização de esquemas subótimos como no caso da utilização de terapia tripla contendo apenas inibidores da transcriptase reversa nucleotídeos ou número insuficiente de medicamentos ativos. Destaca-se ainda fatores farmacológicos relacionados à administração incorreta dos medicamentos, como quebra de comprimidos, interações medicamentosas ou erros de prescrição e também a resistência viral, uma vez que a resistência genotípica do HIV aos antirretrovirais pode ser identificada no momento da falha em até 90% dos casos (Bonolo *et al.*, 2008).

Em geral, os efeitos colaterais da terapia antirretroviral são diarreia, vômitos, náuseas, manchas avermelhadas pelo corpo, agitação e insônia. Alguns desses sintomas geralmente acontecem no início do tratamento, tendendo a desaparecer em dias ou semanas. Porém, além dos efeitos colaterais, danos renais, hepáticos, ósseos e intestinais a longo prazo podem ocorrer e são resultantes da ação do HIV somados aos efeitos tóxicos provocados pelos medicamentos (Bonolo *et al.*, 2008). Tendo em vista que estes efeitos são do uso contínuo e prolongado dos medicamentos

2168

associados à persistência do vírus, conclui-se que o desenvolvimento de uma terapia eficaz que consiga a erradicação do vírus em curto prazo, diminuiria a ocorrência de importantes efeitos adversos de longo prazo.

A utilização de terapias com múltiplos fármacos, onde cada um possui toxicidade considerável é uma questão problemática que pode determinar o retardo ao início do tratamento ou a sua interrupção. Além disso, as interações entre medicamentos antirretrovirais ou com outros fármacos são frequentes (Tymchuk & Currier, 2008; Barry *et al.*, 1999). Para supressão viral eficaz, é essencial um cumprimento contínuo da terapia por longos períodos (Danel *et al.*, 2006).

Existem cerca de 30 medicamentos antirretrovirais disponíveis para o tratamento da infecção pelo HIV. Estes se encontram distribuídos nas classes que incluem inibidores da transcriptase reversa, inibidores da protease, inibidores de entrada e inibidores da integrase. A escolha entre a variedade de fármacos e regimes posológicos depende de variáveis relacionadas com as propriedades toxicológicas, custos da terapia, progressão da doença, resistência aos fármacos e características dos pacientes (Hammer *et al.*, 2008; De Clercq, 2007).

A busca pelo desenvolvimento de medicamentos inovadores conseguiu melhorar algumas dessas questões, porém o HIV possui uma notável capacidade de resistência às novas opções terapêuticas devido aos constantes erros de transcrições virais que tem como consequência um alto polimorfismo levando à mutação (Das Neves *et al.*, 2010). Propriedades físico-químicas como solubilidade, permeabilidade e estabilidade baixas prejudicam a absorção, biodistribuição e o efeito sustentado, fatores que contribuem para um resultado clínico insuficiente na terapia com os antirretrovirais disponíveis atualmente (Das Neves *et al.*, 2010).

Falha na erradicação e os problemas das terapias atuais

Mesmo a terapia antirretroviral sendo capaz de reduzir a carga viral para níveis não detectáveis, o HIV é capaz de persistir no corpo humano em vários locais chamados de reservatórios. Esses locais são capazes de proteger o vírus a partir das vias de eliminação biológica, tornando-se impossível erradicar o vírus e conseguir uma cura com a terapia atualmente disponível (Blankson, Persaud & Siliciano, 2002).

Os reservatórios virais no organismo dividem-se em celulares e anatômicos. Os reservatórios celulares são macrófagos, células TCD4+ e células dendríticas foliculares, sendo o macrófago o responsável pelo transporte do HIV para o sistema nervoso central. Os principais locais de reservatório anatômico do HIV incluem baço, linfonodos e sistema nervoso central. Outros locais potenciais que também foram descritos como possíveis reservatórios incluem os testículos e o trato

2169

genital feminino. A importância dos órgãos linfóides é devido ao seu papel na circulação e na produção de linfócitos. O sistema nervoso central é um grande desafio à terapia antirretroviral eficaz devido a pobre penetração desses fármacos para esse local. A infecção nesse reservatório pode resultar em distúrbios neurocognitivos e demência (Schrager & D'Souza, 1998; Blankson, Persaud & Siliciano, 2002).

Outro ponto importante a ser destacado são os fatores que levam a baixa adesão ao tratamento e, consequentemente, à resistência viral e ineficácia da terapia. Vários estudos tem apontado que o grande número de comprimidos a serem ingeridos e os efeitos colaterais provocados pelos medicamentos faz com que a adesão ao tratamento seja diminuída (Bonolo *et al.*, 2008; Lignani, Greco & Carneiro, 2001; Acurcio & Guimarães, 1999).

A exposição contínua a antirretrovirais pode desencadear toxicidade e diferentes reações adversas a esses medicamentos, sendo que alguns efeitos podem ser potencialmente graves e comprometer a capacidade ou a disposição do usuário em continuar o tratamento (Brasil, 2013).

Nesse contexto observa-se a importância não só do monitoramento do tratamento, mas também da necessidade de estudo de formulações capazes de diminuir efeitos adversos e diminuir a dose necessária, para que o portador do vírus possa ter melhor qualidade de vida e consequente cura. Além disso, outro importante fator a destacar é que a terapêutica atual apresenta entraves no que concerne a formas farmacêuticas adequadas para crianças. Muitos antirretrovirais são comercializados apenas na forma farmacêutica de difícil deglutição para essa faixa etária e, com isso, os cuidadores trituram ou quebram as formas farmacêuticas disponíveis, o que pode causar diminuição na eficiência do tratamento.

Novas tecnologias

Embora a terapia medicamentosa tenha contribuído para significativa melhora e sobrevida dos portadores do HIV, a mesma não é capaz de fornecer a cura devido à capacidade de permanência do vírus no organismo em locais denominados reservatórios. Além disso, traz uma série de inconvenientes ao paciente devido ao regime de alta dosagem, tratamento continuado, vários efeitos adversos, problemas relacionados à resistência e entre outros. Esses fatores estão atrelados à dificuldade dos fármacos de chegarem à circulação sistêmica em quantidades suficientes para fazer o efeito desejado (Das Neves *et al.*, 2010; Mamo *et al.*, 2010).

Com isso, vários estudos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de melhorar o comportamento dos antirretrovirais no organismo (Tabela 1). A nanotecnologia está entre as áreas que mais se destaca na busca de um novo modo de contornar as características biofarmacêuticas desfavoráveis

2170

de fármacos (Ojewole *et al.*, 2008; Von Briesen, Ränge & Kreuter, 2000). Diferentes tipos de carreadores nanotecnológicos surgiram como uma alternativa para mudanças na distribuição de fármacos antirretrovirais, conferindo vantagens farmacológicas quando comparados aos fármacos convencionais por mudanças nos fenômenos biológicos, como, por exemplo, o reconhecimento imunológico e a passagem através de barreiras biológicas (Parboosing *et al.*, 2012).

Tabela 1: Exemplos de fármacos antirretrovirais veiculados em sistemas nanotecnológicos

Nanocarreador	Fármaco veiculado	Resultado encontrado	Referência
Dendrimeros	Efavirenz	Atividade anti-HIV <i>in vitro</i> e baixa citotoxicidade	Lindenberg, Kopp & Dressman, 2004
Nanopartículas poliméricas	Dapivirina	Melhora da atividade anti-HIV e aumento da concentração intracelular	Lisziewicz & Töke, 2013
Lipossomas	Estavudina	Maior acumulação no sistema fagócito mononuclear	Lundgren <i>et al.</i> , 2015
Nanopartícula lipídica sólida	Lopinavir	Melhora da biodisponibilidade	Mamo <i>et al.</i> , 2010
Nanosuspensão	Rilpivirina	Controle da liberação do fármaco	McKinnon & Card, 2009
Nanopartículas	Saquinavir, estavudina, delavirdina	Melhora da permeabilidade através da barreira hemato-encefálica	NIH, 2017

Vantagens do uso da nanotecnologia na veiculação de fármacos antirretrovirais

Um dos benefícios do uso da nanotecnologia se relaciona com a modulação farmacocinética das moléculas que incorporam. Devido à molécula estar associada a um carreador, tem-se uma mudança nas propriedades que governam a absorção, a distribuição e a eliminação do fármaco, que não mais são determinadas unicamente pelas suas propriedades e sim pelas propriedades físico-químicas dos nanosistemas (Li & Huang, 2008).

Outra grande vantagem é a proteção de fármacos contra o metabolismo de primeira passagem, permitindo um maior tempo de residência do fármaco no organismo, o que pode reduzir a dose necessária e aumentar o tempo entre as administrações, trazendo um grande benefício ao paciente decorrente principalmente da diminuição de efeitos colaterais (Das Neves *et al.*, 2010). Em adição aos benefícios da nanotecnologia, tem-se o contorno da bomba de efluxo. O uso desses sistemas pode contornar esse processo de bioeliminação aumentando a concentração desses fármacos também no sistema nervoso central e contribuir para a redução da dose (Kreuter, 2001).

Tendo em vista a toxicidade conhecida dos antirretrovirais no organismo, o uso de nanosistemas, embora aumente a absorção do fármaco, parece diminuir a sua toxicidade no organismo devido às propriedades de liberação sustentada (Phillips & Tsoukas, 1992). Cabe colocar a importância,

2171

também, de estudos de toxicidade relacionada à acumulação desses nanossistemas no organismo, os quais não foram completamente elucidados ainda (Das Neves *et al.*, 2010; Kohli *et al.*, 2007).

A dificuldade da terapia atual em alcançar reservatórios virais tais como o sistema nervoso central foi objeto de estudo para Dou e colaboradores (2007), os quais fundamentaram que o transporte de fármacos e distribuição em reservatórios virais poderia ser reforçada se os fármacos antirretrovirais fossem transportados nas mesmas células que servem como veículos para a disseminação de tecido viral, no caso os macrófagos. Com isso, os autores propuseram o desenvolvimento de um sistema de transporte de antirretrovirais usando nanopartículas. Segundo os autores, tal sistema poderia ser capaz de superar barreiras farmacológicas, possibilitando assim melhores resultados terapêuticos. Indinavir foi escolhido como objeto de estudo devido a ser um potente inibidor de protease do HIV-1 e um componente comum nos regimes de tratamento. As nanopartículas de indinavir foram adicionadas em macrófagos derivados de monócitos. Esse sistema foi prontamente absorvido pelos monócitos e mostrou atividades antirretrovirais potentes sustentadas que foram superiores às observadas para indinavir na sua forma livre. Segundo os autores, essas observações representam uma promessa significativa para melhorar a distribuição de medicamentos em tecidos e regimes de dosagem em pessoas infectadas (Dou *et al.*, 2007).

Para direcionar medicamentos anti-retrovirais para os órgãos linfóides, uma formulação nanotecnológica de indinavir pH-dependente foi investigada (Choi, Bui & Ho, 2008). Esta formulação foi capaz de aumentar a concentração de indinavir nos linfonodos (Kinman *et al.*, 2003). Os autores concluíram que o efeito de direcionamento das nanopartículas para os tecidos linfóides foi dependente principalmente do tamanho das partículas. Outro estudo avaliou a distribuição nos tecidos de indinavir livre ou incorporado a imunolipossomas. A administração de indinavir livre resultou em baixos níveis do fármaco em órgãos linfóides. Em contraste, os imunolipossomas desenvolvidos foram muito eficazes na obtenção de elevadas concentrações de indinavir nos tecidos linfóides durante pelo menos 15 dias após a administração em ratos, representando um aumento de até 126 vezes na acumulação do fármaco nos gânglios linfáticos (Gagné *et al.*, 2002).

Um estudo desenvolvido por Caon e colaboradores (2015) investigou os efeitos de dispersões sólidas contendo uma mistura de PVP K30 e diferentes suportes (PEG 4000 ou Gelucire® 44/14) sobre a dissolução *in vitro* e permeabilidade intestinal de mesilato de saquinavir e avaliou o seu impacto sobre a biodisponibilidade em um modelo utilizando cães, comparando com a formulação comercial (Svir®). Embora suportes hidrófilos, tais como PEG possam proporcionar vantagens em termos de liberação de fármaco, a sua capacidade de solubilização limitada levou à precipitação do fármaco e, por conseguinte, a uma reduzida e variável biodisponibilidade oral. Por outro lado,

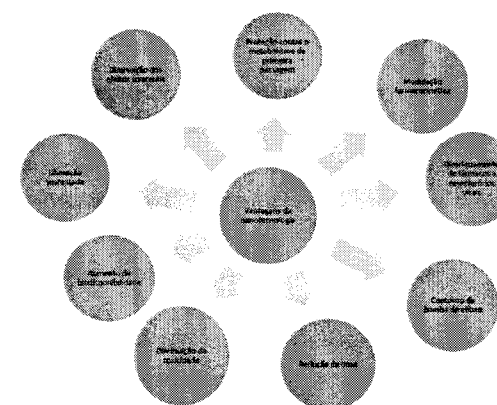
2172

sistemas auto-emulsionantes compostos de Gelucire® 44/14 foram mais eficazes na melhoria da biodisponibilidade oral de mesilato de saquinavir (aproximadamente 5 vezes mais elevadas do que as formulações contendo PEG). Estes efeitos são devidos, provavelmente, à solubilidade melhorada de saquinavir no trato gastrointestinal, redução do tamanho das partículas e efeitos inibidores da P-gp (uma redução de 2,3 vezes na proporção de efluxo). Os autores concluíram que a seleção dos transportadores e outros excipientes que exibiram um efeito solubilizante e inibidor sobre a P-gp parecem ser fatores-chave para aumentar a biodisponibilidade oral de mesilato de saquinavir e que Gelucire pode ser considerado como um transportador promissor para o desenvolvimento de uma formulação comercial de mesilato de saquinavir.

O desenvolvimento de sistemas de liberação simples e escalonável para atingir o sistema nervoso central (SNC) pode representar um avanço na neuropatogênese associada ao HIV. A via intranasal representa uma estratégia minimamente invasiva para ultrapassar a barreira hematoencefálica, embora exija o uso de nanocarreadores adequados e um tempo de residência prolongado. Com isso, o trabalho desenvolvido por Seremeta e colaboradores (2013), explorou o desenvolvimento de partículas submicrométricas a partir de poli-(caprolactona) (PCL) e Eudragit® RS 100, carregados com o antirretroviral efavirenz (EFV) como uma abordagem para ajustar o tamanho das partículas e a cinética de liberação. As partículas desenvolvidas contendo efavirenz foram uma plataforma útil para investigar a administração intranasal e o aumento da biodisponibilidade no sistema nervoso central.

A Figura 1 apresenta esquematicamente um resumo das vantagens da incorporação de fármacos antirretrovirais em formulações nanotecnológicas.

Figura 1: Resumo das vantagens do uso da nanotecnologia para veiculação de fármacos antirretrovirais.



2173

Parboosing *et al.* (2012) publicaram uma extensa revisão abordando a nanotecnologia e o tratamento do HIV. Os autores utilizaram mais de 40 referências para elaborar uma tabela com exemplos de como as propriedades físicas das nanopartículas podem influenciar na terapia do HIV. Uma tradução e adaptação esta apresentada no Quadro 1, em concordância com a licença “Creative Commons Attribution License (CC BY 3.0)” à qual o trabalho se aplica. As referências que foram utilizadas na elaboração da tabela foram suprimidas na tradução, e podem ser consultadas no artigo original, em inglês. A licença esta disponível no link: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/legalcode>.

Quadro 1: Exemplos de como as propriedades físicas de nanopartículas podem ter consequências biológicas benéficas para a terapia do HIV

Propriedades Físicas	Implicações Biológicas	Benefícios para a terapia do HIV
Tamanho de partícula	O tamanho de partícula afeta a biodisponibilidade e o tempo de circulação. Partículas <5-10 nm são removidas por clearance renal enquanto que partículas > 200nm são sequestradas pelo baço. Partículas de até 70 nm podem penetrar pelos capilares enquanto nanocomplexos entre 35 e 120nm localizam-se nos gânglios linfáticos.	Nanocomplexos contendo indinavir foram projetados de modo que estivessem na faixa de tamanho que permitiu a localização dentro dos tecidos linfáticos. Após a injeção subcutânea em macacos, as partículas drenaram para o sistema linfático e, devido ao seu tamanho, permaneceram ali, ao invés de entrarem na corrente sanguínea - esta estratégia evita picos indesejáveis e excessivos na concentração plasmática.
	O tamanho determina o mecanismo de internalização (fagocitose <i>versus</i> endocitose <i>versus</i> pinocitose) e, portanto, a localização subcelular; dependendo do seu tamanho, as partículas podem ser opsonizadas por proteínas plasmáticas, fagocitadas por macrófagos e removidas pelo sistema reticuloendotelial.	Lipossomas foram fagocitados por macrófagos e liberaram fármacos como AZT e ddI, os quais são carregados em seu núcleo aquoso, ao sistema reticuloendotelial murínico.
Elevada relação entre área superficial e volume	A dissolução de fármacos pouco solúveis é muito dependente da área superficial da partícula. Partículas nanométricas, portanto, apresentam maior solubilidade em comparação com partículas maiores.	A engenharia de fármacos na faixa nanométrica, na forma de nanocristais ou nanosuspensões, por exemplo, permitem o desenvolvimento clínico de compostos de chumbo que de outra forma não seriam considerados viáveis devido à baixa solubilidade; A solubilidade aumentada melhora a biodisponibilidade e a dosagem de fármacos antirretrovirais pouco solúveis em água, como a rilpivirina.
Carga superficial da partícula	A membrana celular é carregada negativamente e repele moléculas com cargas semelhantes. As nanopartículas positivamente carregadas podem proteger essas moléculas, permitindo sua entrada na célula.	Permissão da entrada de agentes antirretrovirais, que são negativamente carregados, como análogos de nucleotídeos fosforilados e ácidos nucleicos.
Formação de estruturas estáveis capazes de encapsular fármacos	A encapsulação aumenta a solubilidade e protege contra a degradação (no meio gastrointestinal, por exemplo)	Micelas poliméricas encapsulam efavirenz e melhoraram a sua solubilidade Em experimentos <i>in vitro</i> , uma nanocápsula polimérica foi usada para carrear AZT em sua forma trifosforilada diretamente no citoplasma.
Nanopartículas biofuncionalizadas, de forma que partículas podem ser funcionalizadas pela ligação de porções bioativas.	Nanomedicamentos são facilmente marcados, cobrindo-as com porções que se ligam aos biomarcadores, direcionando-os para células, tecidos ou mesmo organelas que exibem o biomarcador	Em experimentos com animais, lipossomas revestidos com galactose ou lectina (“imunolipossomas”) objetivaram o alcance de células do sistema reticuloendotelial que possuem receptores para estas porções e, portanto, podem ser empregados para administrar medicamentos antirretrovirais especificamente a esses locais (Assim, os efeitos colaterais causados pela distribuição de fármacos a locais não específicos são diminuídos)
	A conjugação ao polietilenoglicol (PEGulação) aumenta a solubilidade e reduz a interação com proteínas opsonizadas, modulando a fagocitose e a biodisponibilidade.	Lipossomas estericamente estabilizados (PEGuilados) e nanopartículas lipídicas sólidas contendo ddI e AZT, respectivamente, resultam em aumento da meia vida desses medicamentos em roedores.

2174

Multifuncionalidade (combinando vários recursos benéficos em uma construção estável)	Os antirretrovirais atualmente disponíveis não têm efeito sobre o vírus latente. Nanomedicamentos podem ser projetados para estimular simultaneamente a replicação do vírus latente e liberar um antiviral à célula ativada.	Nanopartículas lipídicas carregadas com bryostatina-2 (que ativa as células T CD4+ primárias) e nelfinavir podem ser capazes de ativar simultaneamente vírus latentes e inibir a propagação viral.
	As propriedades furtivas do polietilenoglicol, que permite que os fármacos permaneçam mais tempo na circulação sistêmica, podem ser combinadas com peptídeos que promovem a captação celular.	Um peptídeo baseado em HIV TAT (conhecido pelas propriedades de penetração celular), polietilenoglicol e o intensificador de absorção celular, biotina, foram conjugados em várias combinações e avaliados como carreadores de saquinavir. Os bioconjugados multifuncionais tiveram uma absorção celular <i>in vitro</i> significativamente diferente e uma maior potência anti-HIV em comparação com o pró-fármaco isoladamente.
Propriedades Biomiméticas	Nanomedicamentos podem mimetizar as propriedades de entidades biológicas, tais como anticorpos, receptores, ácidos nucleicos ou proteínas, ligando-se a sítios funcionais, como o sítio ativo de uma enzima, exercendo assim efeitos antivirais.	Vários nanomedicamentos podem ter propriedades antivirais intrínsecas.
	Nanopartículas sintéticas baseadas em exposições multivalentes, mimetizam a propriedade biológica ubíqua da multivalência que melhora a afinidade entre as moléculas que ocorrem naturalmente (entre receptores e ligantes, por exemplo).	O SDC-1721, um derivado de um conhecido antagonista de CCR5 ***, não inibe por si só a replicação viral. No entanto, quando conjugado com nanopartículas de ouro, em proporção de 12 moléculas de SDC-1721 por nanopartícula de ouro, a atividade com IC50 de 10 nM foi demonstrada em PBMCs *** infectadas com o HIV-1 CCR5.

Adaptado de Parboosing *et al.*, 2012, em concordância com a licença “Creative Commons Attribution License (CC BY 3.0)” - (As referências completas estão disponíveis no artigo original)

As barreiras que a abordagem nanotecnológica pode transpor

O tratamento do HIV através da nanotecnologia é promissor uma vez que o uso dessa tecnologia pode modificar a distribuição tecidual de fármacos em reservatórios de HIV, além de aumentar o tempo de meia-vida. Atualmente os antirretrovirais não podem erradicar o vírus e este reside em “estado latente” nos reservatórios em células T CD4+ e macrófagos concentrando-se principalmente nos tecidos linfóides, testículos, intestino, e no sistema nervoso central (Lisziewicz & Tóke, 2013). Uma nova abordagem para a erradicação do vírus consiste na distribuição de fármacos aos reservatórios virais na busca de forçar a ativação da forma latente das células infectadas para a replicação do vírus. Por conseguinte, estas células infectadas podem ser reconhecidas e eliminadas pelo sistema imunológico (Lisziewicz & Tóke, 2013). Para segmentar e ativar células T CD4+, uma formulação nanotecnológica de uma proteína quinase C ativadora, briostatina-2 (Bry-LNP) carregada com nelfinavir foi estudada em modelo de rato, para desta forma, ser capaz de ativar e inibir o vírus latente (Kovochich, Marsden & Zack, 2011).

Alguns estudos têm sido realizados com objetivos de atingir os reservatórios virais através da utilização da nanotecnologia. Com o objetivo de direcionar os antirretrovirais aos reservatórios virais, nanopartículas poliméricas estão sendo desenvolvidas com ligantes (peptídeos, proteínas e anticorpos) que são capazes de se unir aos receptores no local alvo (Sharma & Garg, 2010; Wong *et al.*, 2010). Xia e colaboradores (2012) desenvolveram nanopartículas de PEG-PLA funcionalizada

2175

com peptídeo para facilitar a liberação de fármacos no cérebro e como resultado obteve elevada captação de nanopartículas neste local, sugerindo que esses sistemas possam ser utilizados para a liberação cerebral de fármacos.

A biodisponibilidade também é um desafio importante no desenvolvimento de medicamentos. Por exemplo, os inibidores da protease indinavir, ritonavir e nevirapina têm diferentes biodisponibilidades pela via oral: 39%, 60%, 70%, e 92%, respectivamente. Em contraste, a biodisponibilidade do saquinavir é de apenas 4%. Assim, foram feitos estudos a fim de nanoencapsular saquinavir para contornar o problema da baixa permeabilidade e consequente biodisponibilidade de saquinavir através da membrana intestinal. Diferentes formulações de nanocarreadores lipídicos foram propostas, e, por mecanismos diferentes de transcitose, foram capazes de superar o efluxo do fármaco pela Glicoproteína-P, melhorando a sua permeabilidade na membrana intestinal (Beloqui *et al.*, 2013).

A atribuição de um fármaco no sistema classificação biofarmacêutica (SCB) é um parâmetro importante para se ter conhecimento à respeito da sua solubilidade e permeabilidade. Para classificar um fármaco de acordo com o SCB, a solubilidade, a dose e a permeabilidade do fármaco devem ser conhecidas. Adicionalmente, apenas excipientes que não afetam a taxa ou grau de absorção podem ser usados (Lindenberg, Kopp & Dressman, 2004).

Essa classificação é utilizada para determinar especificações de dissolução *in vitro*. Um fármaco é considerado altamente solúvel quando o resultado, em volume, da relação dose/solubilidade é menor ou igual a 250 mL em uma solução tampão de pH entre 1,0 e 8,0. A permeabilidade de um fármaco é alta quando a biodisponibilidade absoluta é maior que 90% na ausência de instabilidade no trato gastrointestinal ou quando este parâmetro é determinado experimentalmente. Com isso, esse sistema permite classificar os fármacos nas classes: I (fármacos solúveis e com alta permeabilidade), II (baixa solubilidade, alta permeabilidade), III (alta solubilidade, baixa permeabilidade) e, por fim, classe IV (baixa solubilidade e baixa permeabilidade) (Lindenberg, Kopp & Dressmann, 2004).

A tecnologia na prevenção da infecção

Diversas pesquisas têm sido realizadas no campo da prevenção da infecção pelo HIV. Uma estratégia que busca a prevenção da infecção pelo vírus é o desenvolvimento de microbicidas. Woodrow e colaboradores (2009) observaram o comportamento favorável de nanopartículas de PLGA *in vivo* com o objetivo de desenvolvimento de microbicidas eficazes e seguros com completa distribuição no trato genital e retenção no tecido (até uma semana). Os resultados encontrados

comprovam que as nanopartículas de PLGA podem conferir prolongada ação de moléculas microbicidas devido à liberação intracelular sustentada.

A pesquisa de vacinas também se destaca como uma importante estratégia de prevenção contra infecção pelo HIV. No entanto, é desafiador o desenvolvimento de vacinas seguras e eficazes contra o HIV devido a grande diversidade genética e alta taxa de mutação. Apesar dos desafios, vários estudos estão explorando estratégias para desenvolver uma vacina eficaz (Koff, 2012; Wren & Kent, 2011; McKinnon & Card, 2009). Embora algum progresso tenha sido feito, a profilaxia completa com uma vacina contra o HIV ainda permanece fora de alcance (Date & Destache, 2013). Nanopartículas preparadas com PLA, livres de surfactante, foram propostas por Ataman-onal e colaboradores (2006) como um sistema de liberação para vacinas e foi testado em vários modelos animais utilizando a proteína p24 do HIV-1. Nanopartículas de PLA revestidas de p24 (PLA/p24) induziram elevação de anticorpos em ratos, coelhos e macacos. Este sistema de liberação de proteínas confirma o potencial de nanopartículas no campo do desenvolvimento de vacinas (Ataman-Önal *et al.*, 2006).

A descoberta do RNA de interferência (siRNA) trouxe mais uma possibilidade de pesquisa para a profilaxia do HIV. Este RNA é uma sequência curta de RNA complementar capaz de induzir a inibição da expressão gênica no RNA mensageiro de sequências específicas, por isso estão sendo pesquisados como agentes terapêuticos para uma variedade de indicações (Yang *et al.*, 2013; Zeller & Kumar, 2011; Katakowski & Palliser, 2010).

Embora o siRNA tenha potencial para a profilaxia do HIV, há vários problemas associados com a sua liberação na célula, uma vez que possuem grande hidrofobicidade e carga aniônica, o que dificulta a sua captação celular (Schrager & D'Souza, 1998; Blankson, Persaud & Siliciano, 2002; Das Neves *et al.*, 2010). Além disso, os siRNAs devem ser lançados no citoplasma das células, a fim de alcançar o silenciamento. Por isso, é importante que o mecanismo de entrega de siRNA evite a degradação lisossômica (Yang *et al.*, 2013; Guzmam *et al.*, 2012; Zeller & Kumar, 2011). Como exemplo envolvendo o uso dessa tecnologia tem-se o estudo de Kim e colaboradores (2010), os quais desenvolveram um imunolipossoma associado a um antígeno com a proposta de carrear siRNA. Como resultado, foi possível a captação de siRNA por células T e macrófagos, principais alvos do HIV. Além disso, a administração de anticorpos anti-CCR5 /siRNA *in vivo* em ratos resultou em silenciamento de genes específicos de leucócitos que foi sustentada durante 10 dias com resistência melhorada à infecção através da avaliação da redução da carga viral no plasma.

Date AA & Destache CJ. A review of nanotechnological approaches for the prophylaxis of HIV/AIDS. *Biomaterials* 34(26): 6202-6228, 2013.

De Clercq E. The design of drugs for HIV and HCV. *Nat. Rev. Drug Discov.* 6(12): 1001-1018, 2007.

De Silva TI, Cotten M & Rowland-Jones SL. HIV-2: the forgotten AIDS virus. *Trends Microbiol.* 16(12): 588-595, 2008.

De Souza MVN & de Almeida MV. Drogas anti-VIH: passado, presente e perspectivas futuras. *Quím. Nova* 26(3): 366-372, 2003.

Dou H, Morehead J, Destache CJ, Kingsley JD, Shlyakhtenko L, Zhou Y, Rabinow BE. Laboratory investigations for the morphologic, pharmacokinetic, and anti-retroviral properties of indinavir nanoparticles in human monocyte-derived macrophages. *Virology* 358(1): 148-158, 2007.

Feitosa AC, Lima HJA, Caetano JA, Andrade LMD, Beserra EP. Terapia anti-retroviral: fatores que interferem na Adesão de crianças com HIV/AIDS. *Esc. Anna Nery Rev. Enferm.* 12(3): 515-521, 2008.

Gagné JF, Désormeaux A, Perron S, Tremblay MJ, Bergeron MG. Targeted delivery of indinavir to HIV-1 primary reservoirs with immunoliposomes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1558(2): 198-210, 2002. Gouveia MJGP. *Manifestações cutâneas de infecções virais em indivíduos infectados pelo VIH.* 2010. Coimbra. 61 p. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Medicina. Universidade de Coimbra.

Guzman-Villanueva D, El-Sherbiny IM, Herrera-Ruiz D, Vlassov AV, Smyth HD. Formulation approaches to short interfering RNA and MicroRNA: challenges and implications. *J. Pharm. Sci.* 101(11): 4046-4066, 2012.

Hammer SM, Eron JJ, Reiss P, Schooley RT, Thompson MA, Walmsley S, Hirsch MS. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *Jama* 300(5): 555-570, 2008.

Hu WS & Temin HM. Retroviral recombination and reverse transcription. *Science* 250(4985): 1227-1233, 1990.

Janini LM, Tanuri A, Schechter M, Peralta JM, Vicente AC, Torre ND, Soriano V. Horizontal and vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1 dual infections caused by viruses of subtypes B and C. *J. Infect. Dis.* 177(1): 227-231, 1998.

Katakowski JA & Palliser D. siRNA-based topical microbicides targeting sexually transmitted diseases. *Curr. Opin. Mol. Ther.* 12(2): 192, 2010.

Kim SS, Peer D, Kumar P, Subramanya S, Wu H, Asthana D, Shimaoka M. RNAi-mediated CCR5 silencing by LFA-1-targeted nanoparticles prevents HIV infection in BLT mice. *Mol. Ther.* 18(2): 370-376, 2010.

Kinman L, Brodie SJ, Tsai CC, Bui T, Larsen K, Schmidt A, Ho RJ. Lipid-drug association enhanced HIV-1 protease inhibitor indinavir localization in lymphoid tissues and viral load reduction: a proof of concept study in HIV-2287-infected macaques. *J. Acquir Immune Defic. Syndr.* 34(4): 387-397, 2003.

2180

Koff WC. HIV vaccine development: challenges and opportunities towards solving the HIV vaccine-neutralizing antibody problem. *Vaccine* 30(29): 4310-4315, 2012.

Kohli E, Han HY, Zeman AD, Vinogradov SV. Formulations of biodegradable Nanogel carriers with 5'-triphosphates of nucleoside analogs that display a reduced cytotoxicity and enhanced drug activity. *J. Control. Release* 121(1): 19-27, 2007.

Kovochich M, Marsden MD, Zack JA. Activation of latent HIV using drug-loaded nanoparticles. *PloS one* 6(4): 18270, 2011.

Kreuter J. Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 47(1): 65-81, 2001.

Li SD & Huang L. Pharmacokinetics and biodistribution of nanoparticles. *Mol. Pharm.* 5(4): 496-504, 2008.

Li X & Chan WK. Transport, metabolism and elimination mechanisms of anti-HIV agents. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 39(1): 81-103, 1999.

Lignani Júnior L, Greco DB, Carneiro M. Avaliação da aderência aos anti-retrovirais em pacientes com infecção pelo HIV/Aids. *Rev. Saúde Pública* 35(6): 495-501, 2001.

Lindenberg M, Kopp S, Dressman JB. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. *Eur. J. Pharm. Biophar.* 58(2): 265-278, 2004.

Liszewicz J & Töke ER. Nanomedicine applications towards the cure of HIV. *Nanomedicine* 9(1): 28-38, 2013.

Lundgren J, Babiker A, Gordin F, Emery S, Fätkenheuer G, Molina JM, Van Wijngaerden E. Why START? Reflections that led to the conduct of this large long-term strategic HIV trial. *HIV Med.* 16(1): 1-9, 2015.

Mamo T, Moseman EA, Kolishetti N, Salvador-Morales C, Shi J, Kuritzkes DR, Farokhzad OC. Emerging nanotechnology approaches for HIV/AIDS treatment and prevention. *Nanomedicine* 5(2): 269-285, 2010.

McKinnon LR & Card CM. HIV vaccine efficacy trials: A brief history, and options for going forward. *AIDS Rev.* 12(4): 209-217, 2009.

NIH. National Institute of Health. Disponível em: <<http://www.nih.gov/>> Acesso em: 19 de março de 2017.

Ojewole E, Mackraj I, Naidoo P, Govender T. Exploring the use of novel drug delivery systems for antiretroviral drugs. *Eur. J. Pharm. Biophar.* 70(3): 697-710, 2008.

Overbaugh J & Bangham CR. Selection forces and constraints on retroviral sequence variation. *Science* 292(5519): 1106-1109, 2001.

Parboosing R, Maguire GE, Govender P, Kruger HG. Nanotechnology and the Treatment of HIV Infection. *Viruses* 4(4): 488-520, 2012.

2181

Pereira PR. *Subtipos do HIV-1 e associação com características demográfico-epidemiológicas em pacientes atendidos em Hospital de referência em Porto Alegre, Brasil*. 2010. Porto Alegre. 104 p. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Phillips NC & Tsoukas C. Liposomal encapsulation of azidothymidine results in decreased hematopoietic toxicity and enhanced activity against murine acquired immunodeficiency syndrome. *Blood* 79(5): 1137-1143, 1992.

Pinto ME & Struchiner CJ. A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia HIV-1 diversity: a tool for studying the pandemic. *Cad. Saúde Pública* 22(3): 473-484, 2006.

Rambaut A, Posada D, Crandall KA, Holmes EC. The causes and consequences of HIV evolution. *Nat. Rev. Genet.* 5(1): 52-61, 2004.

Schrager LK & D'Souza MP. Cellular and anatomical reservoirs of HIV-1 in patients receiving potent antiretroviral combination therapy. *Jama* 280(1): 67-71, 1998.

Seremeta KP, Chiappetta DA, Sosnik A. Poly (ϵ -caprolactone), Eudragit® RS 100 and poly (ϵ -caprolactone)/Eudragit® RS 100 blend submicron particles for the sustained release of the antiretroviral efavirenz. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 102, 441-449, 2013.

Sharma P & Garg S. Pure drug and polymer based nanotechnologies for the improved solubility, stability, bioavailability and targeting of anti-HIV drugs. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 62(4): 491-502, 2010.

Thomson MM & Nájera R. Molecular epidemiology of HIV-1 variants in the global AIDS pandemic: an update. *AIDS Rev.* 7(4): 210-224, 2005.

Tymchuk CN & Currier JS. The safety of antiretroviral drugs. *Expert Opin. Drug Saf.* 7(1): 1-4, 2008.

Von Briesen H, Ramge P, Kreuter J. Controlled release of antiretroviral drugs. *AIDS Rev.* 2(1): 31-38, 2000.

Vyas TK, Shah L, Amiji MM. Nanoparticulate drug carriers for delivery of HIV/AIDS therapy to viral reservoir sites. *Expert Opin. Drug Deliv.* 3(5): 613-628. 2006.

WHO. *Global HIV/AIDS Response: Epidemic update and health sector progress towards Universal, 2011*. Disponível em: <http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20111130_UA_Report_en_5.pdf>. Acesso em: 17 de março de 2017.

WHO. *HIV/AIDS*. 2014. Disponível em: <<http://www.who.int/gho/hiv/en/>>. Acesso em: 17 de março de 2017.

Wong HL, Chattopadhyay N, Wu XY, Bendayan R.. Nanotechnology applications for improved delivery of antiretroviral drugs to the brain. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 62(4): 503-517, 2010.

Woodrow KA, Cu Y, Booth CJ, Saucier-Sawyer JK, Wood MJ, Saltzman WM. Intravaginal gene silencing using biodegradable polymer nanoparticles densely loaded with small-interfering RNA. *Nat. Mater.* 8(6): 526-533, 2009.

Wren L & Kent SJ. HIV Vaccine efficacy trial: glimmers of hope and the potential role of antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Hum Vaccin.* 7(4): 466-473, 2011.

Xia H, Gao X, Gu G, Liu Z, Hu Q, Tu Y, Jiang X. Penetratin-functionalized PEG-PLA nanoparticles for brain drug delivery. *Int. J. Pharm.* 436(1): 840-850, 2012.

Yang S, Chen Y, Ahmadie R, Ho EA. Advancements in the field of intravaginal siRNA delivery. *J. Control. Release* 167(1): 29-39, 2013.

Zeller SJ & Kumar P. RNA-based gene therapy for the treatment and prevention of HIV: from bench to bedside. *Yale J. Biol. Med.* 84(3): 301, 2011.