



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**“APLICACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES  
EN EL TRATAMIENTO DE ADICCIÓN A LA COCAÍNA”**

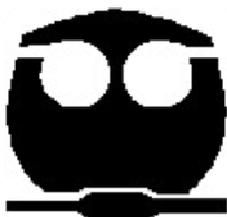
TRABAJO ESCRITO VÍA CURSOS DE EDUCACIÓN CONTINUA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A

**CINDY PATRICIA TÉLLEZ GARCÍA**



MÉXICO, D.F.

“2010”



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## JURADO ASIGNADO

- Presidente:** Prof. Raúl Lugo Villegas
- Vocal:** Prof. José Carlos Olvera Sánchez
- Secretario:** Prof. Ricardo Meza Pérez
- 1er Suplente:** Prof. Jorge Rafael Martínez Peniche
- 2do Suplente:** Prof. Carlos Ramos Mundo

## FACULTAD DE QUÍMICA

**Asesor:**

---

M. en F. Raúl Lugo Villegas

**Sustentante:**

---

Téllez García Cindy Patricia

*A mis padres, Silvia y Adalberto:*

*Porque este logro es tanto suyo como mío.  
Gracias por su amor y apoyo incondicional.  
Sin ustedes, nada de esto habría sido posible.*

---

---

**ÍNDICE**

<b>1. OBJETIVOS</b> .....	1
1.1. Objetivo General.....	1
1.2. Objetivos Particulares.....	1
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>3. MARCO TEÓRICO</b> .....	4
3.1. Cocaína .....	4
3.1.1. Origen, Botánica e Historia .....	4
3.1.2. Procesamiento de la Cocaína .....	6
3.1.3. Formas de Preparación y Vías de Administración .....	7
3.1.4. Pureza.....	9
3.1.5. Farmacocinética.....	10
3.1.5.1. Absorción .....	10
3.1.5.2. Distribución .....	11
3.1.5.3. Metabolismo.....	11
3.1.5.4. Excreción .....	14
3.1.6. Farmacodinamia .....	14
3.1.7. Dependencia Psicológica.....	16
3.1.8. Efectos Farmacológicos y Toxicológicos .....	17
3.1.8.1. Efectos a Corto Plazo .....	17
3.1.8.2. Efectos a Largo Plazo .....	18
3.1.8.3. Complicaciones Médicas .....	18
3.1.9. Síntomas de Abstinencia.....	20
3.1.10. Farmacoterapias Actuales.....	21
3.1.10.1 Agentes Dopaminérgicos .....	21
3.1.10.2. Antidepresivos.....	23

---

---

3.2. Sistema Inmunitario Y Sus Respuestas.....	24
3.2.1. Propiedades Generales de las Respuestas Inmunitarias.....	24
3.2.2. Anticuerpos .....	27
3.2.2.1. Inmunización.....	29
3.2.2.2. Anticuerpos Monoclonales .....	32
<b>4. METODOLOGÍA.....</b>	<b>41</b>
4.1. Inmunofarmacoterapia Contra La Adicción A Cocaína .....	41
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>43</b>
5.1 Inmunización Activa.....	43
5.2 Inmunización Pasiva.....	47
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>51</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>55</b>
<b>8. REFERENCIAS .....</b>	<b>56</b>

---



---

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Estructura Química del Tropano y de los Alcaloides Tropánicos Cocaína y Ecgonina.....	4
<b>Figura 2.</b> Procesamiento de la Cocaína.....	7
<b>Figura 3.</b> <i>Erithroxylon coca</i> y las Formas de Consumo de la Cocaína.....	8
<b>Figura 4.</b> Metabolismo de la Cocaína .....	13
<b>Figura 5.</b> Mecanismo de Acción de la Cocaína sobre el Axón terminal .....	15
<b>Figura 6.</b> Sistema de Recompensa de la Cocaína.....	16
<b>Figura 7.</b> Comparación de la Actividad Dopaminérgica en el Cerebro de un Consumidor Crónico de Cocaína y una Persona Sana.....	18
<b>Figura 8.</b> Inmunidad Innata y Adaptativa.....	24
<b>Figura 9.</b> Especificidad, Memoria y Autolimitación de las Respuestas Inmunitarias .....	25
<b>Figura 10.</b> Tipos de Inmunidad Adaptativa.....	26
<b>Figura 11.</b> Inmunidad Activa y Pasiva .....	27
<b>Figura 12.</b> Estructura de una Molécula de Anticuerpo .....	28
<b>Figura 13.</b> Conjugado Hapteno-proteína Acarreadora .....	30
<b>Figura 14.</b> Comparación de Anticuerpos Policlonales y Monoclonales.....	33
<b>Figura 15.</b> Producción de Anticuerpos Monoclonales anti-A.....	34
<b>Figura 16.</b> Tipos de Anticuerpos Producidos al Fusionar Linfocitos B con Mielomas Productores y no Productores de Ig .....	35
<b>Figura 17.</b> Síntesis de Nucleótidos por las Vías <i>de novo</i> y de Reciclaje.....	36
<b>Figura 18.</b> Selección de Hibridomas .....	37
<b>Figura 19.</b> Tipos de Anticuerpos Monoclonales .....	39
<b>Figura 20.</b> Principio General de la Inmunoterapia.....	41
<b>Figura 21.</b> Estrategia de Vacunación Anticocaína .....	43
<b>Figura 22.</b> Hapteno GNC .....	44
<b>Figura 23.</b> Hapteno GND .....	45
<b>Figura 24.</b> Hapteno TA-CD .....	46
<b>Figura 25.</b> Degradación de la cocaína a través de anticuerpos catalíticos .....	48
<b>Figura 26.</b> Comparación entre el Estado de Transición en la Reacción de Hidrólisis de la Cocaína y un Análogo Sintético del Estado de Transición .....	48
<b>Figura 27.</b> Hapteno 15A10, Análogo del Estado de Transición de la Cocaína.....	49
<b>Figura 28.</b> Hapteno GNL3A6, Análogo del Estado de Transición de la Cocaína.....	49
<b>Figura 29.</b> Hapteno 2E2.....	50

**ÍNDICE DE TABLAS**

**Tabla 1.** Aditivos Encontrados en la Cocaína por medio de Cromatografía de Gases..... 10

**Tabla 2.** Efectos Dependientes de la Ruta de Administración de la Cocaína..... 11

**Tabla 3.** Comparación de los Efectos Conductuales Leves a Moderados y Severos de la Cocaína en Humanos ..... 17

**Tabla 4.** Complicaciones Comunes tras el Uso de Cocaína.....20

**Tabla 5.** Fármacos Ensayados en el Tratamiento de la Dependencia a la Cocaína .....22

## **1. OBJETIVOS**

### **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Recopilar, organizar y presentar los avances actuales en el tratamiento de la adicción a la cocaína con un enfoque inmunoterapéutico, mostrando las ventajas que posee sobre terapias tradicionales, así como el potencial que tiene para su extrapolación en el control de otros padecimientos.

### **1.2. OBJETIVOS PARTICULARES**

- ◆ Exponer la importancia que representa el tratamiento de la adicción a la cocaína.
- ◆ Ilustrar los avances en la inmunoterapia basada en anticuerpos monoclonales.

## 2. INTRODUCCIÓN

A pesar de los esfuerzos para su erradicación, la adicción a drogas legales e ilícitas continúa siendo un problema médico y social importante alrededor del mundo. La drogadicción se define como un estado de enfermedad en el cual el cuerpo desarrolla dependencia física, conduciendo a un uso repetitivo y compulsivo de estas sustancias, sin importar las consecuencias negativas para la salud del usuario, su estado mental o vida social.<sup>1</sup>

La cocaína es la segunda droga ilegal más consumida en México. Su incidencia acumulada pasó de 1.2% en el 2002 a 2.4%\* en 2008, es decir, se duplicó entre ambas mediciones.<sup>2</sup> En comparación con el promedio nacional, el consumo de cocaína en el D.F. es mayor para ambos sexos.<sup>3</sup> El abuso de esta sustancia se mantiene por los efectos de la droga en los sistemas de recompensa del cerebro, mediados en parte por su acción dopaminérgica. Los patrones y consecuencias de su uso se entienden mejor al considerar su farmacocinética (rápida absorción y liberación en el cerebro, con una vida media relativamente corta) y farmacodinamia (estimulación neural central y periférica intensa). Las complicaciones médicas reflejan principalmente estimulación excesiva del sistema nervioso central (SNC) y vasoconstricción; ésta última causando hipertensión severa y/o isquemia con daño orgánico asociado.<sup>4</sup>

La adicción a la cocaína posee componentes tanto físicos como psicológicos que se tratan como parte de un programa de rehabilitación psicosocial. Aún así, los altos índices de recaídas entre consumidores de drogas han hecho imperativa la necesidad de desarrollar nuevas opciones de tratamiento para esta enfermedad.<sup>5</sup> Las opciones terapéuticas actuales empleadas para combatir la dependencia son generalmente agonistas o antagonistas directos de la droga de abuso.<sup>4</sup> Sin embargo, las complejas interrelaciones de los circuitos neuronales dificultan predecir acertadamente las acciones de estos fármacos causando efectos secundarios indeseables dentro del SNC.<sup>1</sup>

---

\* Una cuarta parte de los usuarios de cocaína consumen crack.

La inmunofarmacoterapia actual enfoca sus estudios en el desarrollo de tratamientos basados en la respuesta inmune, tanto pasiva como activa, dirigida a la producción de anticuerpos anticocaína altamente específicos, que secuestren la droga de interés mientras que ésta se encuentra todavía en el torrente sanguíneo. De este modo, la creación de complejos anticuerpo-droga entorpecerá el cruce de la barrera hematoencefálica, no sólo contrarrestando los efectos de refuerzo de la droga, sino también previniendo los efectos secundarios perjudiciales en el SNC.<sup>1,4</sup>

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. COCAÍNA

##### 3.1.1. Origen, Botánica e Historia

La cocaína se extrae de la planta de coca, *Erythroxylum coca*, nativa de la región de los Andes y cuyas propiedades psicoestimulantes fueron descubiertas, según estimaciones, hace más de 7 000 años. Se trata de un arbusto con hojas perennes de forma oval, flores blanquecinas, fruto en forma de baya pequeña y roja, de corteza rugosa color pardo rojizo y que puede alcanzar los 6 metros de altura.<sup>6,7</sup> Puede producir de 3 a 4 cosechas anuales a partir del tercer año de edad, con un contenido de cocaína que puede oscilar entre 12 y 15g por kg de hojas secas.

Químicamente, la cocaína es un alcaloide tropánico cuyo núcleo es la ecgonina, que a su vez, es una base aminoalcohólica relacionada con la tropina. La cocaína es, por lo tanto, un éster del ácido benzoico y una base nitrogenada [Figura 1]. Se trata de un sólido blanco cristalino, de sabor amargo, con un punto de fusión de 97°C. Posee acción anestésica local, que provoca insensibilidad al contacto.<sup>8</sup>

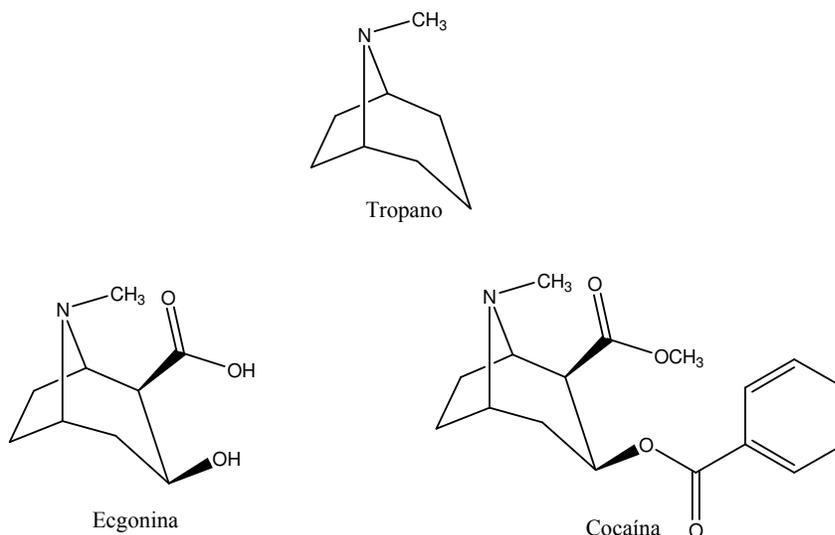


Figura 1. Estructura química del tropano y de los alcaloides tropánicos cocaína y ecgonina.

Si bien se desconoce el origen de su uso, se sabe que esta planta constituye un elemento importante en la historia de las culturas sudamericanas, pues su capacidad de mitigar el

hambre e infundir una sensación de vigor en quien la consume, la convirtió en una herramienta idónea para la realización de tareas arduas y extenuantes; incluso se dice que los españoles lograron efectuar largas caminatas y trabajos pesados tras masticar hojas de coca<sup>9,10</sup>; además, las propiedades de la coca hicieron de ésta un recurso para la explotación de los indios en el trabajo de la tierra al incrementar la productividad de éstos y compensar las dietas insuficientes a las que estaban sometidos.<sup>11</sup>

Los primeros estudios taxonómicos realizados sobre esta planta se llevaron a cabo en 1750 por J. de Tussie, pero fue hasta los años 1859-1860 que Neiman logró aislar el alcaloide puro de la coca, al que llamó *cocaína*. Tras este descubrimiento y la posterior determinación de su fórmula química por Willhelm Lossen en 1862, el uso de la cocaína pura y de los extractos de la planta se incrementó<sup>9</sup>, con Freud y Koller como algunos de los investigadores que emplearon este alcaloide en su práctica clínica.<sup>6,10,12</sup>

Aunque al inicio los usos de la cocaína estaban circunscritos a aplicaciones médicas, principalmente como anestésico, los efectos de ésta la hicieron tan popular como la heroína y la morfina, llegando incluso a formar parte de la formulación original de la Coca-Cola®, que incluía hojas de coca en su preparación.<sup>9,12</sup>

La prohibición sobre el tráfico y consumo de cocaína en 1914 y las restricciones impuestas sobre la importación de hojas de coca en 1922, limitaron importantemente el uso de ésta droga, desapareciendo casi totalmente durante un periodo de casi 50 años, ocupando su lugar las anfetaminas. Sin embargo, el control sobre el consumo de éstas a mediados de la década de 1960 y la aparición de esfuerzos para controlar el consumo de marihuana y LSD, dieron origen al incremento del uso de cocaína, que había dejado de ser un problema prioritario.<sup>13</sup>

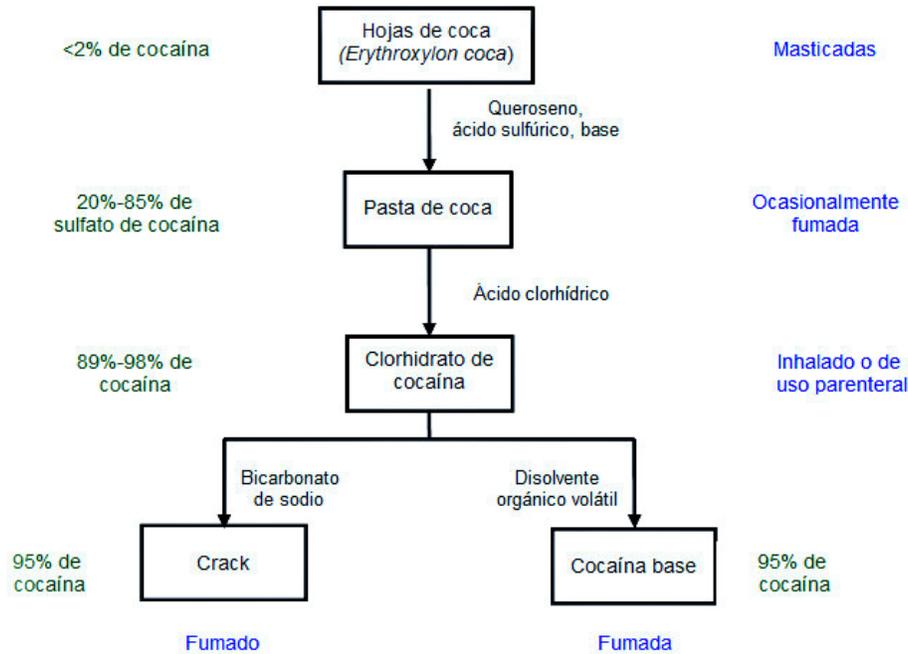
En México, la cocaína y su consumo representan desde los últimos años un problema grave de salud pública,<sup>2</sup> el cual produce importantes costos familiares, sociales y laborales en diversos sectores de la población y cuyas posibles estrategias de tratamiento y control merecen un estudio riguroso y un enfoque multidisciplinario que permita vislumbrar formas viables de abordar el caso.<sup>12</sup>

### **3.1.2. Procesamiento de la Cocaína**

Las hojas de coca se maceran en una disolución de carbonato de sodio, lo que permite la posterior extracción de los alcaloides hidrofóbicos con queroseno. La fase orgánica es drenada, separándola de la fase acuosa y los restos de hojas. Los compuestos de interés son extraídos con una disolución de ácido sulfúrico. Subsecuentemente, se adiciona  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , precipitando así la denominada *pasta de coca*, que se filtra y seca para su tratamiento o consumo.

La pasta de coca puede ser distribuida para consumirse fumada, o bien, puede refinarse químicamente. El primer paso de este proceso consiste en disolver la pasta con éter o acetona, filtrando para eliminar impurezas. La mezcla se acidifica con una disolución etanólica o etérea de HCl, precipitando de esta manera el *clorhidrato de cocaína*. Tras la separación del sólido, los disolventes pueden reutilizarse. El producto se seca calentándolo con lámparas de alta potencia.

El clorhidrato de cocaína no puede fumarse, por lo que se somete a tratamiento químico para obtener formas no termolábiles. Existen dos presentaciones de cocaína fumable de alta pureza, conocidas como *crack* y *coca base* o *base libre*. La coca base es producto de tratar el clorhidrato con  $\text{NH}_4\text{OH}$  (amoníaco acuoso) a ebullición, para después extraer con éter la cocaína libre y obtener así un sólido muy puro tras la evaporación del disolvente, aunque con trazas de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Debido a los peligros inherentes al uso de éter (alta inflamabilidad de éste y potencial peligro de explosiones), se prefiere producir crack, el cual se obtiene al mezclar el clorhidrato de cocaína con una disolución acuosa de bicarbonato de sodio; ésta se calienta hasta producir el alcaloide libre, que solidifica en forma de cristales, capturando impurezas como  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{NaCl}$  durante el proceso [Figura 2]. El crack 'comercial' suele incluir diversos adulterantes en su formulación, para obtener mayores ganancias<sup>14,15</sup> (*vide infra*).



**Figura 2. Procesamiento de la Cocaína:** Comienza con las hojas masticables de coca y termina con una cocaína fumable casi pura (Adaptada de: Bouknight, L. *et al*, 1988)<sup>15</sup>

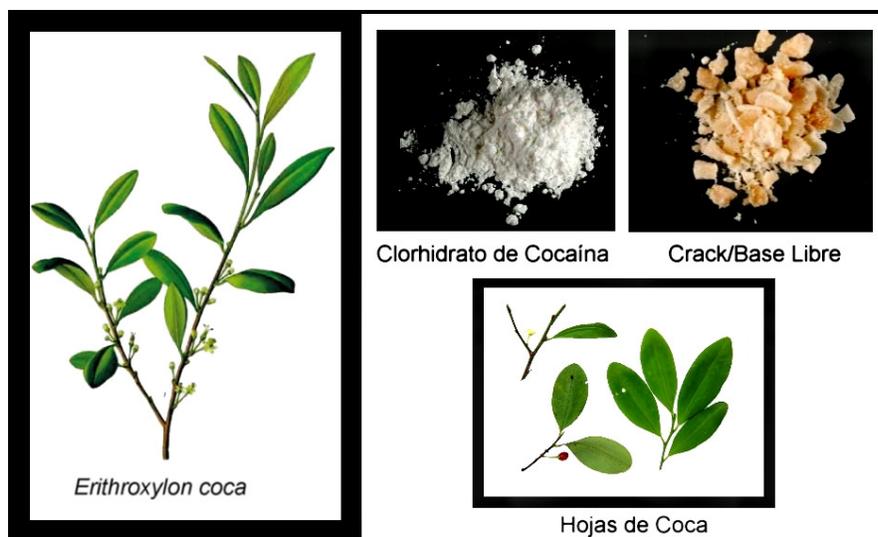
### 3.1.3. Formas de Preparación y Vías de Administración

Las formas de abuso de la cocaína y su vía de administración condicionan la farmacocinética, la actividad farmacológica, la toxicidad y el grado de adicción de la droga (*vide infra*). Fundamentalmente se distinguen las siguientes formas de abuso [Figura 3]:

- a) *Hojas de Coca:* Son utilizadas principalmente por indígenas de los Andes y su uso se limita a contribuir con las labores del campo a grandes alturas, ya que disminuye los síntomas de la presión atmosférica reducida sin que su consumo tenga fines de intoxicación. Las hojas de coca se mastican o ingieren mediante infusión de té denominado mate de coca y contienen entre 0.6% y 1.8% de cocaína alcaloidal.<sup>9,10,11</sup>
- b) *Pasta de Coca:* Es un polvo blanco impuro, pues contiene una mezcla variable de otros alcaloides y adulterantes, por lo que es de bajo costo. El contenido de cocaína varía entre 20 y 85%. La pasta de coca es el producto intermedio en el paso de la hoja de coca a la forma de clorhidrato. Esta forma se fuma (extendido en un papel y enrollado como cigarrillo) y suele combinarse con tabaco o marihuana.<sup>10,16</sup>

- c) *Clorhidrato de cocaína*: Sólido cristalino blanco, soluble en agua y lábil al calor. Estas características lo hacen idóneo para su administración por vía oral, parenteral y vía mucosas (intranasal, ocular), genital y rectal; su consumo por inhalación de humos no es efectivo, ya que el compuesto se descompone antes de volatilizarse. El clorhidrato de cocaína es la forma química empleada como anestésico local y suele contener entre 89 y 98% de cocaína pura.<sup>9,11,17</sup>
- d) *Crack/Base libre*: Presentaciones distintas de la misma forma química, cuyas diferencias radican en la forma de obtención de cada una (*vide supra*). La base libre se consume fumada, pues volatiliza a 250 °C, aunque la inhalación de humos no es una forma eficiente de consumo de cocaína dado que parte del compuesto se descompone por pirólisis.

La presentación denominada ‘*crack*’ (por el sonido que producen los cristales de ésta al fumarse) es particularmente barata dado el nivel de impurezas que suele contener. También es conocida como cristal, roca, piedra o baserola.<sup>14,16</sup>



**Figura 3.** *Erithroxylon coca* y las formas de consumo de la cocaína

### **3.1.4. Pureza**

Análisis de muestras callejeras de cocaína han mostrado un índice de pureza promedio del 40%.<sup>18</sup> Por tanto, los adulterantes representan más de la mitad de la composición de toda la cocaína vendida. Las impurezas pueden ser de carácter ácido, básico o neutro y son introducidas por la planta de coca y/o por el método de fabricación en laboratorios clandestinos<sup>19</sup> [Tabla 1]. Los adulterantes son adicionados a la cocaína, ya sea para potenciar los efectos producidos por la droga, para aumentar el volumen de ésta o para incrementar la toxicidad asociada con la misma.

Los anestésicos locales se encuentran entre los contaminantes más comunes de la cocaína. Éstos tienen propiedades psicoactivas y reforzadoras similares a las de la cocaína, por lo que potencian sus efectos. Los síntomas de toxicidad por anestésicos locales incluyen parestesia, temblores y convulsiones; que son semejantes a algunos de los efectos tóxicos de la cocaína.<sup>18</sup> La contaminación de cocaína con benzocaína ha resultado en casos de metahemoglobinemia.<sup>20</sup>

Muchos compuestos son añadidos a la cocaína para incrementar el volumen disponible de la droga. Estos incluyen azúcares, talco y almidón de maíz. Estos compuestos pueden tener acciones farmacológicas y/o toxicidad variables. El azúcar puede causar irritación de los conductos nasales cuando es inhalada. El talco y el almidón pueden causar fibrosis pulmonar e hipertensión.<sup>18</sup>

Alcaloides tóxicos como la quinina y la estricnina se emplean algunas veces para adulterar la cocaína y otras drogas ilícitas.<sup>18</sup> La intoxicación por quinina incluye síntomas gastrointestinales, disritmias cardíacas y ceguera.<sup>21</sup> La estricnina, que ha sido comercializada como plaguicida y rodenticida, ocasiona espasmos musculares y convulsiones en las que el paciente permanece consciente, ya que actúa como antagonista del aminoácido glicina en las neuronas motoras.<sup>22,23</sup>

Farmacológicamente activos		Inertes
Lidocaína	1-(1-fenilciclohexil)pirrolidina	Inositol
Ciproheptidina	Metacualona	Manitol
Metefedrina	Diclonina	Lactosa
Difenhidramina	Piridoxina	Dextrosa
Benzocaína	Codeína	Almidón
Mepivacaína	Ácido esteárico	Sucrosa
Aminopirina	Piracetum	Bicarbonato de sodio
Metapirileno	Rosin (colophonum)	Carbonato de bario
Tetracaína	Fencanfamina	Manosa
Nicotinamida	Ácido benzoico	
Efedrina	Fenotiazinas	
Fenilpropanolamina	L-treonina	<b>Compuestos Volátiles</b>
Acetaminofeno	Heroína*	Benceno
Procaína base	Anfetamina*	Metil etil cetona
Cafeína	Metamfetamina*	Éter
Acetofenetidina		Acetona

**Tabla 1. Aditivos encontrados en la cocaína por medio de cromatografía de gases** (De: Shesser, R. *et al*, 1991)<sup>19</sup>  
 \*Considerados como aditivos/coinyectantes frecuentes; la frecuencia absoluta es desconocida.

### 3.1.5. Farmacocinética

La farmacocinética de la cocaína depende de múltiples factores [Tabla 2], tales como la forma física/química, la vía de administración, pureza, el consumo simultáneo con otras sustancias como el alcohol y la genética del individuo.<sup>24,25</sup>

La vida media de la cocaína es de aproximadamente 0.7 a 1.5 horas, dependiendo de la vía de administración, y la mayor parte de la dosis administrada se elimina tras pocas horas.<sup>26</sup>

#### 3.1.5.1. Absorción

Distintas formas de consumo producen patrones diferentes y diversas concentraciones de cocaína en plasma.<sup>27</sup> La administración intravenosa y fumada produce una absorción extremadamente rápida. Por lo tanto, dosis individuales típicas (30mg) tomadas por estas rutas producen concentraciones considerablemente altas (500 a 1000ng/mL),<sup>26,27,28</sup> aunque pueden alcanzarse valores mayores con la toma de múltiples dosis en un patrón compulsivo

de consumo conocido como “binge”.<sup>29</sup> La administración intranasal resulta, en cambio, en una lenta absorción; como consecuencia, esta ruta alcanza niveles de 100 a 500ng/mL.<sup>26,27</sup>

La cocaína es absorbida lentamente por ingestión o por aplicación tópica.<sup>26,30</sup> Esta última produce vasoconstricción, ralentizando el flujo. En la administración oral se retrasa la absorción debido al tiempo que tarda la cocaína en alcanzar la parte distal del estómago o el duodeno, puesto que se encuentra ionizada, disminuyendo así su tasa de absorción.<sup>4,31</sup>

### 3.1.5.2. Distribución

Después de la absorción, la cocaína sufre una rápida distribución a todos los tejidos y es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y la placentaria.<sup>32</sup> La unión a proteínas plasmáticas es de aproximadamente 90%.<sup>33,34</sup> Según estudios realizados en voluntarios, el volumen de distribución es de 1.96 a 2.7L/kg.<sup>26,34</sup>

Administración		t <sub>i</sub> (s)	t <sub>e</sub> (min)	D <sub>a</sub> (mg)	C <sub>p</sub> <sup>máx</sup> (ng/mL)	Pureza (%)	F (% abs)
Vía	Presentación						
Oral	Hojas de coca (masticadas)	300-600	45-90	20-50	150	0.5-1	-----
	Cocaína HCl	600-1800		100-200	150-200	20-80	20-30
Mucosas	Cocaína HCl	120-180	30-45	≈150	150	20-80	20-30
Intravenosa	Cocaína HCl	30-45	10-20	25-50	300-400	7-100	100
				>200	1000-1500		
Intrapulmonar (Fumada)	Pasta de coca	8-10	5-10	60-250	300-800	40-85	6-32
	Coca Base			250-1000	800-900	90-100	
	Crack				50-95		

**Tabla 2. Efectos dependientes de la ruta de administración de la cocaína.** Donde: t<sub>i</sub>: tiempo transcurrido entre la administración y la aparición de los efectos, t<sub>e</sub>: intervalo de tiempo durante el cual se manifiestan los efectos, D<sub>a</sub>: Dosis aguda promedio, C<sub>p</sub><sup>máx</sup>: concentración plasmática máxima y F: Biodisponibilidad (De: Taylor, W. *et al*, 1990)<sup>25</sup>.

### 3.1.5.3. Metabolismo

La cocaína es metabolizada a través de múltiples vías enzimáticas<sup>26,33,35</sup> [Figura 3]. Las tres principales son las siguientes:

- a) Hidrólisis por la carboxilesterasa hepática (h-CE): La cocaína se metaboliza inicialmente al *éster metílico de la ecgonina* (EME) y *benzoilecgonina* (BE); ambas son excretadas renalmente y constituyen del 75% al 90% del metabolismo de

cocaína.<sup>36,37</sup> Aproximadamente la mitad de la dosis absorbida es transformada en BE, la cual puede ser cuantificada en la orina después de 1 a 4 horas y puede persistir hasta 144 horas.<sup>24</sup> La vida media reportada de la BE y el EME es de aproximadamente 5 a 6 horas.<sup>38</sup>

- b)** N-desmetilación por oxidasas hepáticas: Este proceso forma *norcocaína*, que supone no más del 5% del fármaco absorbido. Este metabolito cruza la barrera hematoencefálica y puede producir efectos clínicos similares a los de la cocaína. La *norcocaína* puede ser metabolizada a *N-hidroxinorcocaína* y *nitróxido de norcocaína*. Estos intermediarios químicamente reactivos pueden unirse covalentemente a las proteínas celulares provocando daño celular, destacando la hepatotoxicidad.<sup>39</sup>
- c)** Catálisis por colinesterasas plasmáticas (PChE), por ejemplo, la butirilcolinesterasa (BChE): Reaccionan con la cocaína para formar EME, aproximadamente de un tercio a la mitad de la cocaína se metaboliza a EME. Este metabolito cruza difícilmente la barrera hematoencefálica. Se cree que la EME posee poca actividad farmacológica.<sup>35</sup>

Una interacción clínicamente significativa se produce entre la cocaína y la ingestión simultánea de etanol.<sup>30,33,40</sup> La transesterificación de estos dos compuestos produce *cocaetileno*.<sup>41,42</sup> La duración de sus efectos es mayor que la de la cocaína,<sup>43</sup> con una vida media de 148±15 minutos. El cocaetileno puede ser más euforizante y reforzante que la cocaína, mientras que demuestra una toxicidad similar.<sup>39,44</sup>

Se han identificado otras vías metabólicas de degradación de la cocaína. Por ejemplo, fumar crack produce metabolitos como el *éster metílico de la anhidroecgonina* (AEME) o metilecgonidina. AEME, que es el producto final de la pirólisis de la cocaína, puede provocar bronco espasmos como resultado de sus efectos muscarínicos.<sup>24</sup>

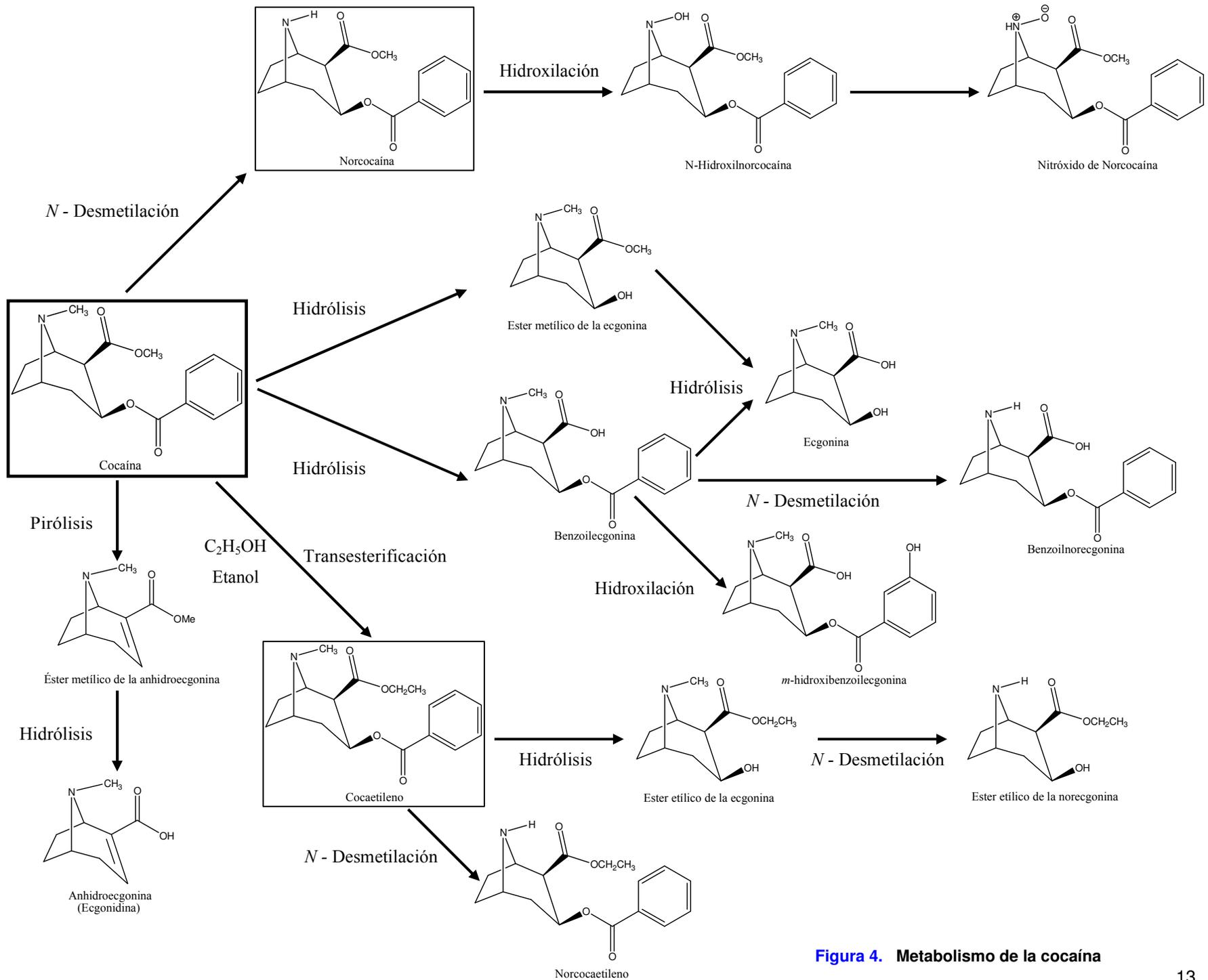


Figura 4. Metabolismo de la cocaína

#### 3.1.5.4. Excreción

La cantidad de cocaína eliminada inalterada en la orina es de aproximadamente 9.5% a 20%. Después de su metabolismo, los dos principales metabolitos excretados en la orina son BE y EME, los cuales representan del 80% al 90%. Aproximadamente del 1% al 3% de los metabolitos urinarios corresponde a productos obtenidos tras la N-desmetilación.<sup>39</sup> La excreción fecal representa una vía de eliminación menor.<sup>26</sup>

La excreción renal de la cocaína inalterada es mayor si el pH urinario es ácido. En contraste, la BE se elimina mayoritariamente a pH alcalino. La eliminación de la cocaína y sus metabolitos se lleva a cabo en un periodo de 24 a 36h, dependiendo de la ruta de administración y la actividad metabólica de las colinesterasas hepáticas y plasmáticas, cuya fluctuación en actividad puede reflejar variaciones inesperadas en la intensidad de las respuestas farmacológicas y toxicológicas a la cocaína.<sup>24</sup>

Los metabolitos generados tras la degradación de la cocaína pueden encontrarse en la orina hasta una semana después de la administración en concentraciones detectables por métodos cromatográficos (GC, HPLC).<sup>45</sup>

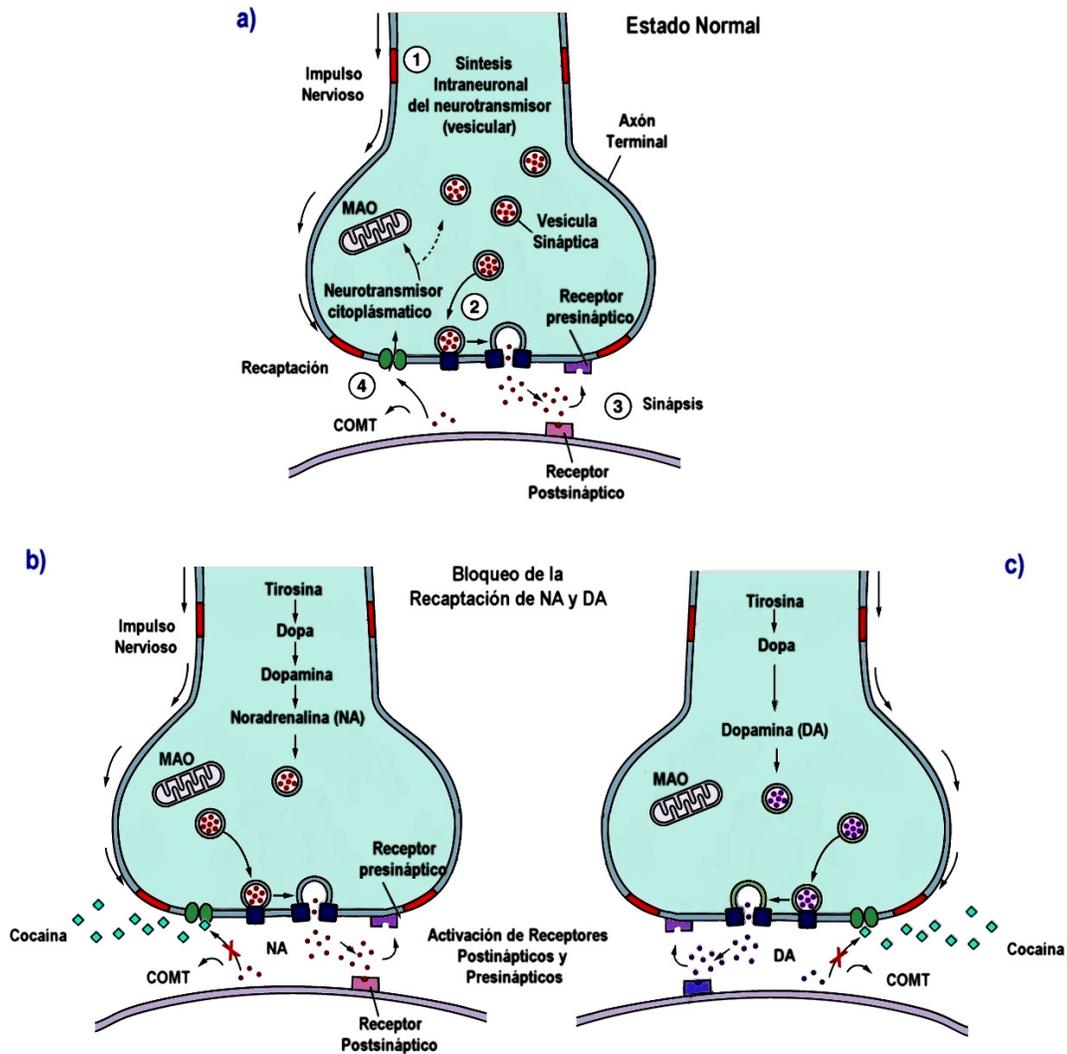
#### 3.1.6. Farmacodinamia

La cocaína es un fuerte estimulante del sistema nervioso central (SNC). Se comporta como una amina simpaticomimética de acción indirecta, es decir, es capaz de simular las acciones de las catecolaminas sin actuar directamente sobre los receptores; más bien, aumenta la biodisponibilidad del neurotransmisor en la hendidura sináptica al fijarse al transportador en la membrana presináptica, con lo que da origen a una estimulación central intensa.<sup>46</sup> Normalmente, las acciones de los neurotransmisores liberados en la hendidura sináptica finalizan por mecanismos de recaptura específicos<sup>47</sup> [Figura 5a]. La cocaína inhibe la recaptación de noradrenalina (NA) y dopamina (DA)<sup>†</sup> desde la hendidura sináptica a la terminal presináptica<sup>48,49</sup> [Figura 5b y 5c]. El aumento de la biodisponibilidad de DA media la euforia producida por la cocaína, la cual parece implicada en el proceso de adicción.<sup>8,49</sup> Además, la cocaína bloquea la recaptación de serotonina.

---

<sup>†</sup> DA: mensajero químico asociado con el placer y el movimiento.

El consumo crónico de cocaína induce hipersensibilidad en los receptores catecolaminérgicos, por lo que la anhedonia<sup>‡</sup> experimentada frecuente en los dependientes a esta sustancia podría explicarse por la suspensión de la transmisión de DA causada por la inhibición de la retroalimentación en el autoreceptor, a partir del desarrollo de la hipersensibilidad dopaminérgica del mismo.<sup>48,50,51</sup>



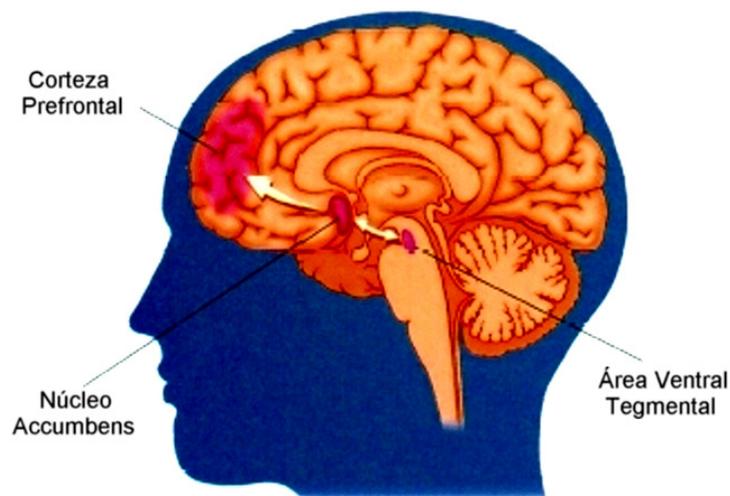
**Figura 5. Mecanismo de acción de la cocaína sobre el axón terminal:** a) Estado normal de la transmisión de catecolaminas, b) Terminal noradrenérgica, c) Terminal dopaminérgica. Los neurotransmisores NA y DA son catecolaminas sintetizadas del aminoácido tirosina obtenido de la dieta. Dopa (3,4-dihidroxi-fenilalanina) es un intermediario en la síntesis de ambos. La liberación de NA y DA estimula los receptores postsinápticos y presinápticos. Las acciones de estos neurotransmisores terminan tras la reabsorción en la unión presináptica o la degradación por medio de la enzima monoaminoxidasa (MAO) o la catecol-O-metiltransferasa (COMT). La cocaína bloquea esta recaptura permitiendo, por tanto, que estos neurotransmisores permanezcan mayor tiempo en la hendidura sináptica.

<sup>‡</sup> *Anhedonia*: Disminución de la intensidad de las experiencias placenteras normales.

### 3.1.7. Dependencia Psicológica

El proceso de adicción involucra múltiples y complejas adaptaciones neuronales que dependen del tipo de sustancia consumida, frecuencia de uso, vía de administración, intensidad y duración del placer, así como también susceptibilidad genética y psicológica.<sup>52,53</sup> Dadas estas características, la forma de consumo más adictiva de la cocaína es fumada (ya sea como pasta de coca, cocaína base o crack), debido a que los efectos eufóricos de la misma aparecen muy rápidamente, en tan sólo 8-10s, aunque por un corto periodo de tiempo, 8-10min. Al concluir el estado de exaltación el consumidor se siente ansioso, deprimido y paranoico. Un cambio tan súbito entre efectos positivos y negativos de la droga orilla al usuario a buscar otra dosis para restablecer los efectos placenteros.<sup>54</sup> Estos últimos son resultado del aumento en la transmisión dopaminérgica en el *sistema mesocorticolímbico*, un circuito de aprendizaje común dependiente de recompensas que originalmente evolucionó para responder a estímulos básicos, rudimentarios y fundamentales como comida, agua y sexo.<sup>52,55</sup> Está formado por el área tegmental ventral (VTA), la cual se conecta con el núcleo accumbens y la corteza prefrontal<sup>56</sup> [Figura 6].

La acción de la cocaína en el circuito de recompensa puede dar explicación a su potencialidad adictiva, y a los fenómenos que caracterizan su consumo, tales como la búsqueda intensa y desesperada por la droga o “*craving*”, las recaídas constantes y el fracaso de los tratamientos de rehabilitación.<sup>57,58</sup>



**Figura 6. Sistema de recompensa de la cocaína:** Incluye neuronas dopaminérgicas localizadas en el área ventral tegmental (VTA). Estas neuronas se conectan con el núcleo accumbens y otras áreas como la corteza prefrontal (Adaptada de: NIDA, 1996)<sup>56</sup>

### 3.1.8. Efectos Farmacológicos y Toxicológicos

La cocaína produce sus efectos físicos, conductuales y toxicológicos a través de sus interacciones con los distintos receptores del SNC. La magnitud de los efectos depende de las características genéticas del usuario, dosis, frecuencia de uso y vía de administración.<sup>59,60</sup>

#### 3.1.8.1. Efectos a Corto Plazo

Los efectos de la cocaína se presentan casi inmediatamente después de la administración de una sola dosis y desaparecen en cuestión de minutos u horas. Los efectos fisiológicos a corto plazo que produce la cocaína son: contracción de los vasos sanguíneos, dilatación de las pupilas, y aumento en la temperatura corporal, el ritmo cardíaco y la presión arterial.<sup>60,61</sup>

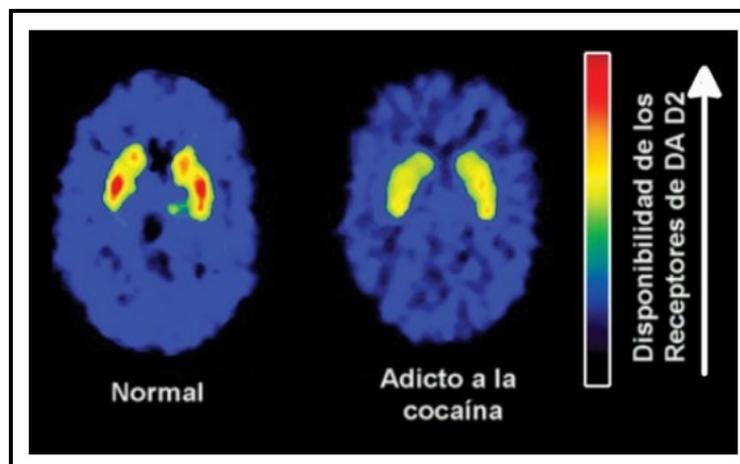
Los efectos conductuales de la cocaína dependen directamente de la dosis consumida [Tabla 3]. Dosis bajas a moderadas (<200mg) en usuarios nuevos o que no han progresado a patrones crónicos de consumo conllevan efectos positivos.<sup>4</sup> Generalmente, se sienten eufóricos, energéticos, conversadores y mentalmente más alerta, particularmente con relación a las sensaciones visuales, auditivas y táctiles. La cocaína también puede disminuir temporalmente la necesidad de comer y dormir. Si se usan cantidades mayores, se intensifica la exaltación del usuario, pero también puede llevar a un comportamiento más extravagante, errático y violento. Estos usuarios pueden experimentar temblores, vértigos, espasmos musculares, ansiedad extrema, paranoia e inclusive convulsiones tónico-clónicas por estimulación de los centros motores inferiores y por el aumento de los reflejos medulares.<sup>60,61</sup>

Efectos Leves a Moderados	Efectos Severos
Aumento en la intensidad de emociones; tanto euforia como disforia Energía Exacerbada Perturbaciones del sueño, insomnio Excitación motora, intranquilidad Deseo de hablar y facilidad para hacerlo Generación de ideas hiperactiva Aumento en el interés sexual (libido) Ira, agresividad Anorexia leve o moderada Autoestima excesiva	Irritabilidad, hostilidad, ansiedad, miedo, síndrome de abstinencia Energía extrema o agotamiento Insomnio total Movimientos estereotipados compulsivos Habla incoherente y rebuscada Vuelo de ideas no relacionadas Disminución del deseo sexual Violencia extrema Anorexia total Delirios de grandeza

**Tabla 3.** Comparación de los efectos conductuales leves a moderados y severos de la cocaína en humanos (De: Carrera, A. et al, 2004)<sup>4</sup>

### 3.1.8.2. Efectos a Largo Plazo

Con la exposición repetida a la cocaína, el cerebro comienza a adaptarse, y el sistema mesocorticolímbico se vuelve menos sensible a reforzadores naturales y a la droga en sí<sup>61</sup> [Figura 7]. El consumo crónico de cocaína puede generar tolerancia a los efectos eufóricos, la cual se desarrolla más rápidamente que la tolerancia a las consecuencias adversas. Como resultado, algunos adictos buscarán tomar dosis repetidas de la droga aún cuando las concentraciones plasmáticas son todavía altas, incrementando en gran medida el riesgo de una intoxicación severa.<sup>17</sup> Los episodios de uso repetido de la droga en periodos de tiempo relativamente cortos, aumentando progresivamente la dosis (“binges”), pueden llevar a un estado creciente de irritabilidad, desasosiego y ansiedad. Los consumidores de cocaína pueden además experimentar sensaciones fuertes de paranoia en las que el usuario pierde el sentido de la realidad y padece de alucinaciones auditivas y táctiles.<sup>49</sup>



**Figura 7. Comparación de la actividad dopaminérgica en el cerebro de un consumidor crónico de cocaína y una persona sana:** Se muestra una disminución de los receptores de dopamina (D2) en la persona adicta. Alteraciones como ésta pueden ser responsables, en parte, del decremento en la sensibilidad a recompensas naturales que se desarrolla con la adicción, pues el sistema dopaminérgico es importante en el condicionamiento y la motivación (De: NIDA, 2009)<sup>61</sup>

### 3.1.8.3. Complicaciones Médicas

Puede haber una gran cantidad de complicaciones médicas graves asociadas con el uso de cocaína<sup>62</sup> [Tabla 4]. Entre las más frecuentes se encuentran:

- a) **Complicaciones cardíacas:** La cocaína ha mostrado disminuir el gasto cardíaco (por medio de vasoconstricción coronaria), alterar los patrones de flujo sanguíneo (al acelerar la aterosclerosis, la agregación plaquetaria y promover la formación de trombos)<sup>63,64</sup> e incrementar la demanda de oxígeno del miocardio, lo que predispone

a los usuarios a infartos<sup>65</sup>, isquemia y, en algunos casos, ruptura de la aorta ascendente por el incremento en la presión arterial.<sup>17,60</sup>

- b)** Complicaciones respiratorias: Las complicaciones de las vías respiratorias altas son secundarias al uso de cocaína intranasal, mientras que las de las vías respiratorias bajas son consecuencia de la inhalación de humos de cocaína base o crack.<sup>60</sup> Éstas se presentan en forma de sinusitis, osteítis, dolor torácico y disnea.<sup>61</sup>
- c)** Complicaciones neurológicas y psiquiátricas: Las lesiones neurológicas ocurren principalmente en el encéfalo; manifestándose por fuertes dolores de cabeza, convulsiones, pérdida del conocimiento, ansiedad o depresión, agitación y paranoia. Las consecuencias más serias que se presentan en personas adictas son: ataques prolongados de epilepsia, parálisis o suicidios.<sup>17,60</sup>
- d)** Complicaciones gastrointestinales: El consumo de cocaína se asocia a alteraciones como perforación intestinal debido a isquemia posterior al consumo, dolor abdominal agudo y náuseas.<sup>60</sup>
- e)** Complicaciones obstétricas y pediátricas: Al atravesar la barrera placentaria, la cocaína ejerce sus efectos en el desarrollo del feto.<sup>36</sup> Los efectos de la cocaína sobre el embarazo se manifiestan como abortos o prematuridad.<sup>8,66</sup> En el producto se pueden observar malformaciones congénitas, una circunferencia craneal de menor tamaño y bajo peso a consecuencia de la vasoconstricción de la placenta.<sup>13,67</sup>

Las reacciones adversas al uso de cocaína varían dependiendo de la vía de administración. Por ejemplo, la inhalación regular puede causar pérdida del sentido del olfato, hemorragias nasales, problemas al tragar, ronquera y una irritación general del tabique nasal lo que puede producir una condición crónica de irritación y secreción de la nariz. La ingestión de cocaína puede ocasionar gangrena intestinal grave debido a la reducción del flujo sanguíneo. Los usuarios intravenosos pueden experimentar reacciones alérgicas fuertes, ya sea a la droga o a algún adulterante de la misma, además de un mayor riesgo de contraer VIH u otras enfermedades de transmisión sanguínea. La cocaína tiende a reducir el consumo de alimentos, por lo que el uso crónico causa pérdida del apetito haciendo que muchos usuarios tengan una baja significativa de peso y sufran de malnutrición.<sup>4,13</sup>

<b>Sistema Nervioso Central</b>	<b>Obstétricas y Pediátricas</b>
Estimulación simpaticomimética del SNC Temblor corporal Convulsiones Migraña Vasculitis Cerebral Infarto cerebral Hemorragia intracraneal o subaracnoidea	Desprendimiento prematuro de placenta Aborto espontáneo Nacimiento prematuro Hipoxia fetal de larga duración Crecimiento intrauterino retardado Disfunción conductual neonatal Malformaciones congénitas Convulsiones por hipoxia fetal, inhalación pasiva o por ingesta accidental de crack
<b>Cardiovasculares</b>	<b>Renales</b>
Hipertensión Cardiomiopatías Cardiopatía Isquémica global o regional Infarto agudo del miocardio Arritmias cardíacas producidas por la estimulación simpaticomimética o por bloqueo de canales de calcio Miocarditis Ruptura aórtica Microaneurismas diseminados a lo largo del cuerpo	Rabdomiolisis inducida por falla renal
	<b>Psiquiátricas</b>
	Depresión Severa Paranoia extrema Comportamiento violento
<b>Pulmonares</b>	<b>Metabólicas</b>
Hemorragia alveolar Síndrome de distrés respiratorio agudo Neumomediastino Neumotórax Trombosis pulmonar Alveolitis alérgica extrínseca	Hipoxia Hipertermia Hipoglucemia Acidosis Láctica Hipovolemia Hipercalcemia
<b>Gastrointestinales</b>	<b>Trauma</b>
Isquemia mesentérica Sobredosis masiva por ingesta de cocaína para contrabando (burro o mula) o para evitar ser arrestado Desnutrición	Juicio comprometido Accidentes Comportamiento violento
<b>Oído Nariz y Garganta</b>	<b>Infecciones por uso intravenoso</b>
Necrosis del tabique nasal Rinitis Sinusitis Laringitis	Hepatitis B SIDA Endocarditis

**Tabla 4. Complicaciones Comunes tras el uso de Cocaína** (De: Wassberg, J. *et al*, 1993)

### 3.1.9. Síntomas de Abstinencia

La disminución de los niveles de cocaína produce el desarrollo de manifestaciones desagradables asociadas con el sentimiento de disforia.<sup>13</sup> La mayoría de los síntomas son neuropsicológicos e incluyen: depresión, fatiga, anhedonia, patrones de sueño alterados y un deseo vehemente por consumir la droga.<sup>68</sup> Además, inclusive después de un largo periodo de abstinencia, los adictos a la cocaína son susceptibles de reanudar su uso tras el contacto con estímulos especiales, los cuales desencadenan memorias parciales de la euforia

experimentada y, por tanto, provocan el deseo de consumirla nuevamente.<sup>69</sup> Estos estímulos pueden incluir estados de ánimo (tanto positivos como negativos), personas específicas, lugares, eventos, épocas del año o la presencia de objetos empleados para el abuso (pipas, espejos, navajas, etc.).<sup>70</sup>

### **3.1.10. Farmacoterapias Actuales**

El desarrollo de farmacoterapias para el tratamiento de la adicción a cocaína se enfoca en las bases neurobiológicas y conductuales de ésta.<sup>71</sup> Hasta ahora, ninguna farmacoterapia para la dependencia a la cocaína ha sido aprobada por la Food and Drug Administration (FDA).<sup>4</sup> La [Tabla 5](#) clasifica por su mecanismo de acción a la mayoría de los agentes farmacológicos que se han examinado. Los grupos que se han estudiado más extensamente para el tratamiento de la abstinencia inicial son los agentes dopaminérgicos y los antidepresivos.<sup>72</sup>

#### *3.1.10.1 Agentes Dopaminérgicos*

Tomando en cuenta la importancia de la transmisión de DA para el desarrollo de la adicción, el uso de *antagonistas dopaminérgicos* (e.g. haloperidol) bloquearía los altos niveles de DA producidos por el consumo de cocaína, por lo que mediante su uso se podrían reducir directamente los efectos de reforzamiento y euforia producidos por la droga.<sup>4,73</sup>

Por otra parte, basados en la teoría de que el uso crónico de cocaína reduce la eficiencia de la neurotransmisión central de DA, los *agonistas dopaminérgicos* (e.g. bromocriptina) se han estudiado como posibles tratamientos para el abuso de cocaína. Estos agentes corregirían la desregulación de DA y aliviarían los síntomas de abstinencia que suelen acompañar el cese del uso del estimulante.<sup>73</sup>

Los estudios con ambos tipos de agentes indican que el efecto de recompensa o los síntomas de abstinencia inducidos por la cocaína se pueden atenuar ligeramente mediante su uso. Sin embargo, los efectos secundarios producidos por estos compuestos disminuyen su valor terapéutico.<sup>4</sup>

Agonistas de la Cocaína (imitan los efectos de la cocaína)			
Otros estimulantes	<i>Metilfenidato, pemolina</i>		
Agonista de inicio lento	<i>Cocaína oral (té de coca)</i>		
Antagonistas de la Cocaína (bloquean los efectos de la cocaína)			
Bloqueadores de la unión de la cocaína en el sitio del transportador de dopamina	<i>Bupropión, mazindol, GBR-12909</i>		
Bloqueadores del receptor de dopamina	<i>Antagonista D<sub>1</sub> (ecopipam), Antagonista D<sub>2</sub> (antipsicóticos), Antagonistas D<sub>1</sub>/D<sub>3</sub> (antipsicóticos atípicos)</i>		
Agentes que Disminuyen los Efectos de Refuerzo de la Cocaína			
Agentes dopaminérgicos	Agonistas Dopaminérgicos	<i>Agonistas D<sub>1</sub> (ABT-431), Agonistas D<sub>2</sub> (bromocriptina, pergolida, cabergolina), Agonistas D<sub>3</sub> (pramipexol, amantadina)</i>	
	Inhibidores de la monoaminoxidasa	<i>Fenelzina, selegilina</i>	
	Inhibidor de la dopamina β-hidrolasa	<i>Disulfiram</i>	
	Precursores biosintéticos	<i>L-tirosina, L-dopa</i>	
Moduladores indirectos de la actividad dopaminérgica	Agentes serotoninérgicos	Bloqueadores de la recaptura (ISRS):	<i>Fluoxetina, sertralina, paroxetina</i>
		Agonistas de los receptores:	<i>Buspirona (5-HT<sub>1A</sub>), gepirona</i>
		Antagonistas de los Receptores:	<i>Ritanserina (5-HT<sub>2</sub>), ondansetrón (5-HT<sub>3</sub>), mirtazapina (5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, y otros)</i>
		Precursores Biosintéticos (aminoácidos):	<i>L-triptofano</i>
	Agentes que afectan dopamina, serotonina y norepinefrina	Bloqueadores de la recaptura:	<i>Desipramina, imipramina, venlafaxina</i>
		Reducen dopamina, norepinefrina y serotonina:	<i>Reserpina</i>
	Agentes que disminuyen la actividad del glutamato:	<i>Lamotrigina</i>	
	Agentes que aumentan la actividad del glutamato:	<i>Modafinilo</i>	
	Agentes que afectan el sistema del ácido γ-aminobutírico:	<i>Gabapentina, vigabatrina, tiagabina, baclofen, progesterona</i>	
	Moduladores de la respuesta al estrés	<i>Dehidroepiandrosterona (DHEA), dexametasona, propranolol, clonidina, lofexidina</i>	
Promotores del flujo sanguíneo cerebral	<i>Piracetam, hidergina, pentoxifilina</i>		
Antagonistas opioides	<i>Naltrexona, buprenorfina</i>		
Agentes colinérgicos	Inhibidores de la colinesterasa: <i>Donezepil</i>		
Otros	Inhibidores de la ciclo oxigenasa-2: <i>Celecoxib</i>		
	Suplementos nutricionales y productos herbolarios: <i>Ginkgo biloba, mezclas de aminoácidos, L-carnitina/coenzima Q10, Hypericum perforatum (Hierba de San Juan), ibogaína</i>		

**Tabla 5. Fármacos ensayados en el tratamiento de la dependencia a la cocaína** (De: Galanter, M., 2008)<sup>72</sup>  
 Donde: 5-HT: 5-hidroxitriptamina (serotonina); ISRS: inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina.

A pesar de que estudios abiertos sugieren que varios agentes podrían tener efectos benéficos en la reducción del uso; estudios aleatorios doble-ciego de terapias farmacológicas para el abuso de la cocaína han tenido resultados inconsistentes.<sup>74,75</sup>

Recientemente, se ha estudiado el Disulfiram por sus acciones en la dopamina  $\beta$ -hidroxilasa y en la actividad de esta enzima para incrementar los niveles de dopamina al bloquear su conversión a noradrenalina. El incremento de dopamina puede ser de utilidad para revertir la disminución relativa de la misma después del abuso crónico de cocaína. Un segundo mecanismo de acción se da debido a la interacción del disulfiram con la cocaína, cuyo uso simultáneo provoca paranoia y otras reacciones graves, eliminando así los efectos placenteros.<sup>76,77</sup>

### *3.1.10.2. Antidepresivos*

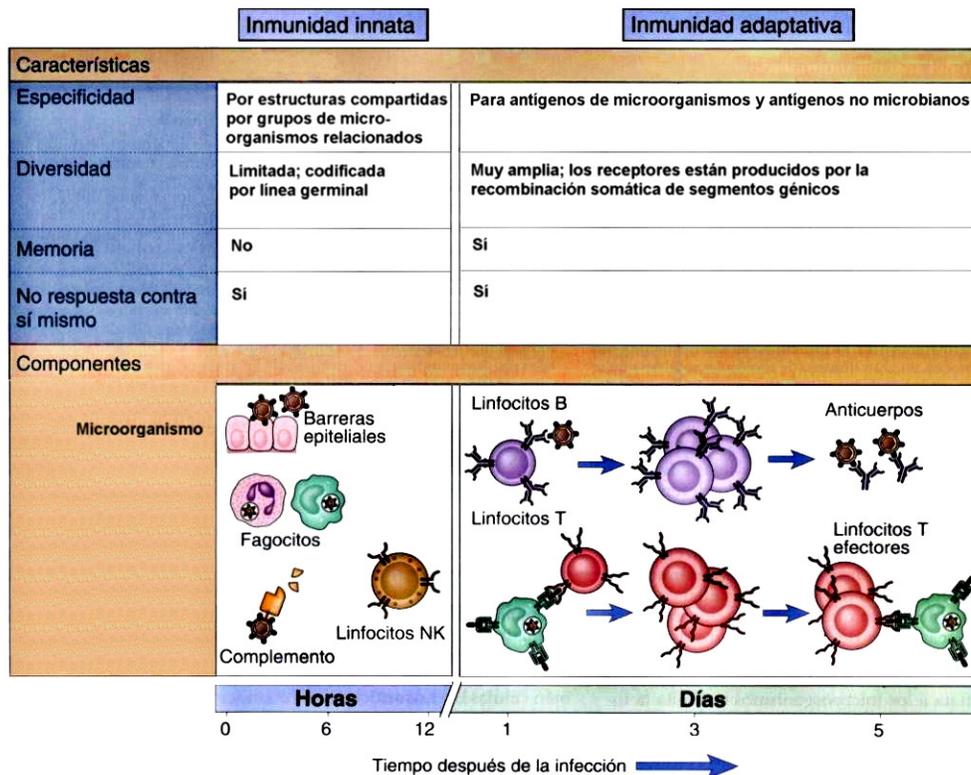
El síndrome clínico que se desarrolla al suspender el consumo de cocaína se asemeja a un desorden depresivo. Por tanto, los antidepresivos pueden ser de utilidad para aliviar los síntomas y facilitar la abstinencia.<sup>78</sup> Se cree que los antidepresivos regulan negativamente los receptores sinápticos de catecolaminas, acción opuesta a la regulación presináptica causada por el uso crónico de estimulantes.<sup>79</sup> Aunque los antidepresivos muestran efectos secundarios relativamente benignos y una baja probabilidad de abuso, éstos exhiben un inicio retardado en su acción de entre 10 y 20 días. Por lo tanto, un tratamiento basado en antidepresivos debe considerarse al inicio del periodo de abstinencia y deberá continuarse durante semanas.<sup>4</sup>

## 3.2. SISTEMA INMUNITARIO Y SUS RESPUESTAS

### 3.2.1. Propiedades Generales de las Respuestas Inmunitarias

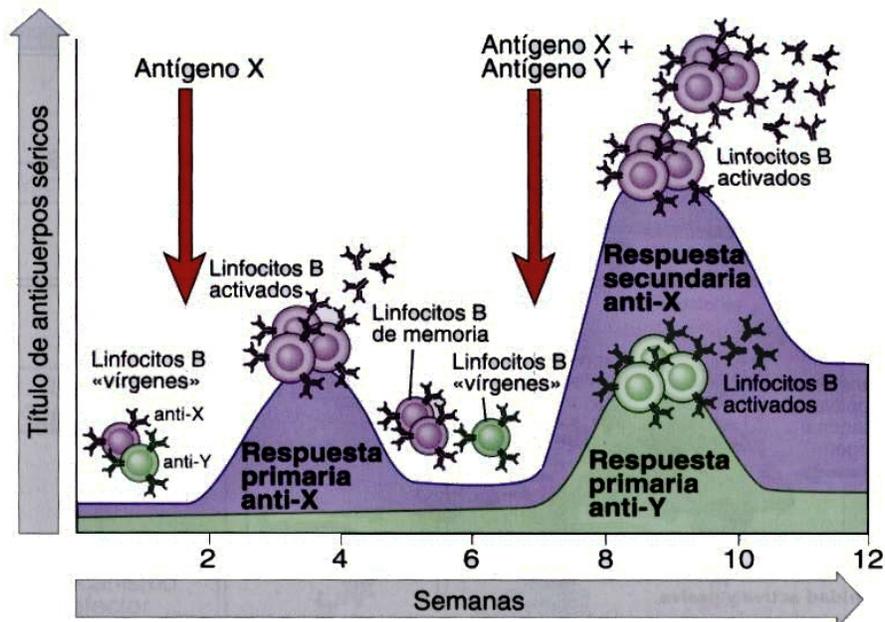
El *sistema inmunitario* está formado por un conjunto de células, estructuras y órganos, llamados linfoides, cuya función fundamental es defender al organismo contra agentes patógenos, tales como bacterias, hongos, parásitos y virus. También protege al individuo contra células del propio cuerpo infectadas por virus o que han sufrido una transformación maligna, es decir, cancerígenas. La importancia del sistema inmunitario en la adaptación al ambiente se nota por las graves consecuencias de sus deficiencias.

La defensa frente a los microorganismos está mediada por las reacciones tempranas de la inmunidad innata y las respuestas tardías de la inmunidad adaptativa [Figura 8]. La *inmunidad innata* comprende los mecanismos de defensa bioquímicos y celulares presentes incluso antes de que se produzca la infección. Estos mecanismos son específicos frente a estructuras comunes a grupos de microorganismos relacionados.<sup>80</sup>



**Figura 8. Inmunidad Innata y Adaptativa:** Los mecanismos de la inmunidad innata constituyen la primera barrera defensiva contra la infección. Las respuestas inmunitarias adaptativas se desarrollan después y consisten en la activación de los linfocitos. (De: Abbas, A. y Lichtman, A., 2004)<sup>80</sup>

En contraste, la inmunidad adaptativa se produce como respuesta a la infección y se adapta a ésta. Las características que la definen son: especificidad precisa por distintas moléculas, incluso muy relacionadas, y capacidad de memoria para identificar y responder con más intensidad a la exposición repetida a un mismo microorganismo [Figura 9]. Las sustancias extrañas que desencadenan respuestas inmunitarias específicas, o que son las dianas de dichas respuestas, reciben el nombre de *antígenos*.

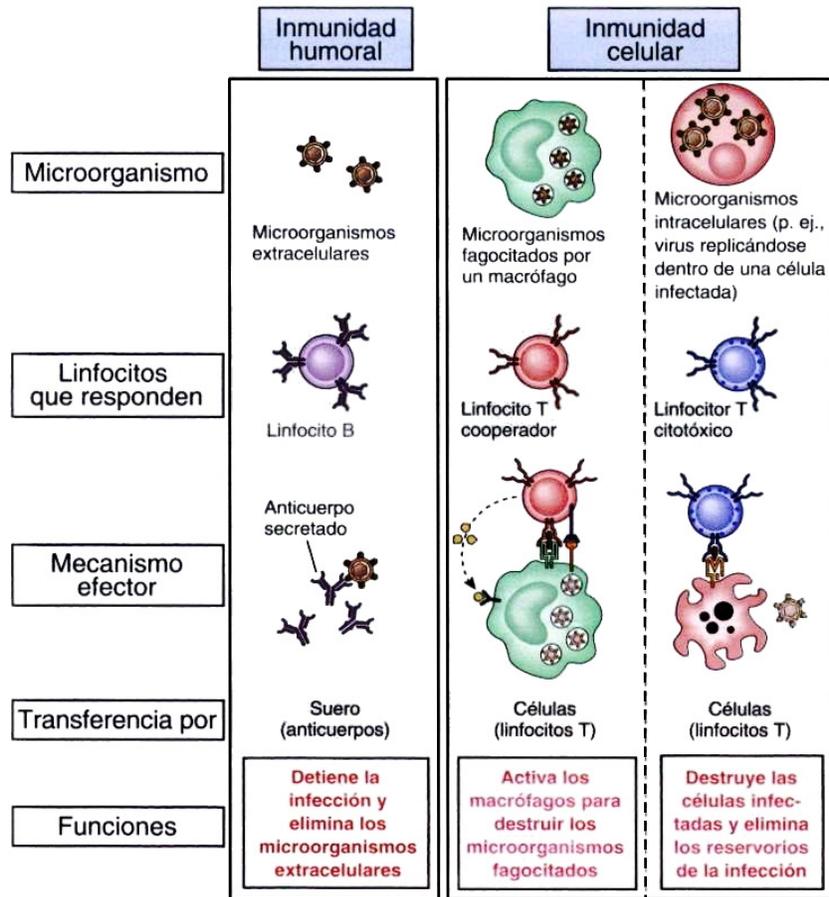


**Figura 9. Especificidad, memoria y autolimitación de las respuestas inmunitarias:** Los antígenos X e Y estimulan la síntesis de diferentes anticuerpos (especificidad). La respuesta secundaria al antígeno X es más rápida y mayor que la respuesta primaria (memoria). Las concentraciones de anticuerpos descienden con el tiempo después de cada inmunización (autolimitación). En las respuestas inmunitarias celulares se observan las mismas características. (De: Abbas, A. y Lichtman, A., 2004)<sup>80</sup>

Existen dos tipos de respuestas inmunitarias adaptativas que están mediadas por diferentes componentes del sistema inmunitario y su función es eliminar distintos tipos de microorganismos [Figura 10]. Éstas son:

- a) *Inmunidad humoral*, que está mediada por moléculas de la sangre y secreciones mucosas, denominadas anticuerpos, que son producidas por linfocitos B y son la principal defensa contra los microorganismos extracelulares y sus toxinas, ya que reconocen los antígenos microbianos, neutralizan la capacidad infecciosa y los eliminan mediante diversos mecanismos efectores.

b) *Inmunidad celular*, es mediada por linfocitos T y se encarga de la defensa contra infecciones de microorganismos intracelulares, como virus y algunas bacterias que sobreviven y proliferan en el interior de los fagocitos y otras células del huésped donde son inaccesibles a los anticuerpos circulantes.



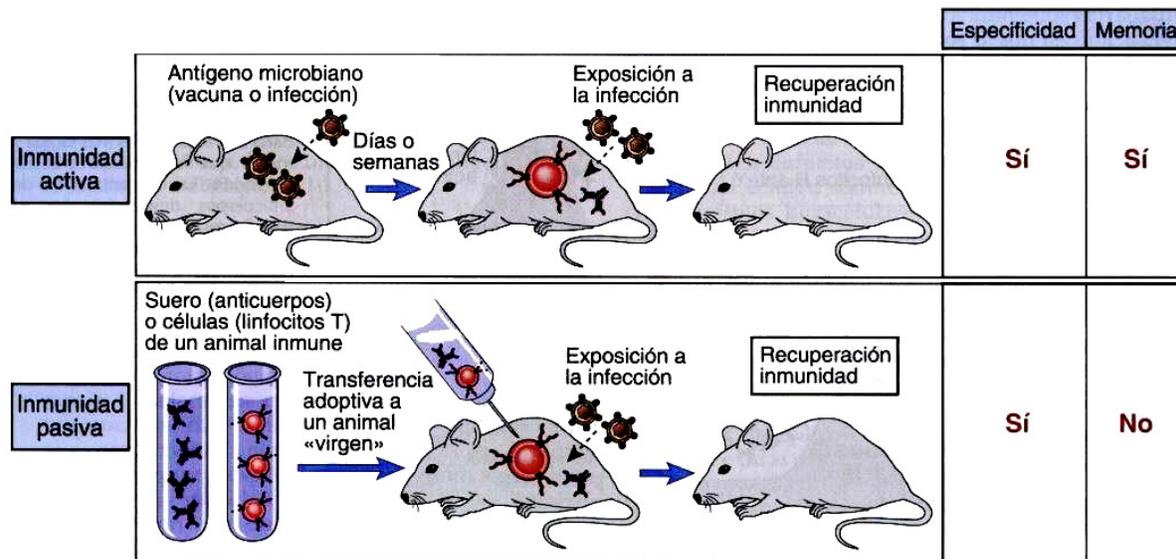
**Figura 10. Tipos de inmunidad adaptativa:** En la *inmunidad humoral*, los linfocitos B sintetizan anticuerpos que evitan las infecciones y eliminan los microorganismos extracelulares. En la *inmunidad celular*, los linfocitos T activan los macrófagos para destruir los microorganismos fagocitados o los linfocitos T citotóxicos destruyen directamente las células infectadas.

(De: Abbas, A. y Lichtman, A., 2004)<sup>80</sup>

La inmunidad puede producirse por la respuesta del huésped al antígeno o por la transferencia de anticuerpos o linfocitos específicos contra éste [Figura 11]. El tipo de inmunidad inducida por la exposición a un antígeno extraño se denomina *inmunidad activa* porque la persona inmunizada desempeña la función activa en la respuesta al antígeno.

La inmunidad puede adquirirse también mediante la transferencia de suero o linfocitos procedentes de una persona con inmunidad específica. El receptor se inmuniza frente a dicho antígeno sin haber estado nunca expuesto o haber experimentado una respuesta

contra el mismo. Por esta razón, este tipo de inmunidad recibe el nombre de *inmunidad pasiva*. Este método es útil para proporcionar resistencia de una forma rápida sin tener que esperar a que se desencadene una respuesta inmunitaria activa.<sup>80</sup>



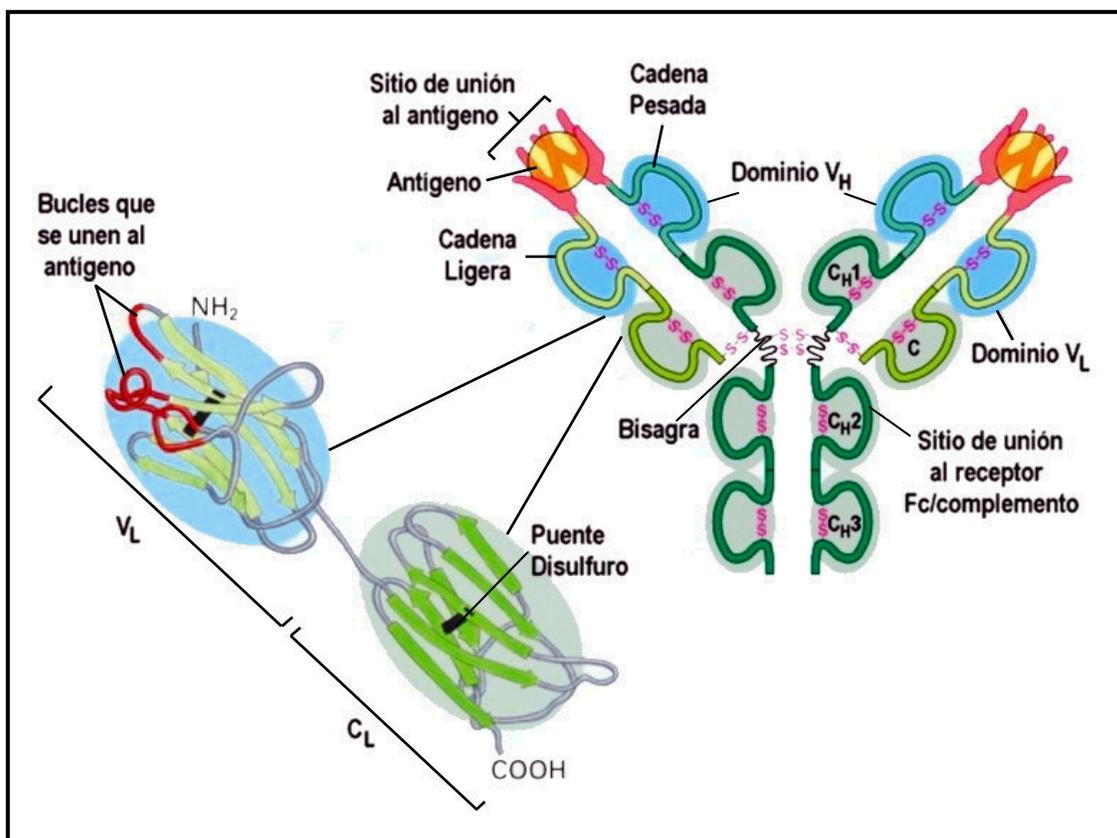
**Figura 11. Inmunidad activa y pasiva:** La *inmunidad activa* se debe a la respuesta del huésped frente a un microorganismo o antígeno microbiano, mientras que la *inmunidad pasiva* es consecuencia de la transferencia adoptiva de anticuerpos o linfocitos T específicos para dicho microorganismo. Ambas formas de inmunidad proporcionan resistencia a la infección (inmunidad) y son específicas para los antígenos microbianos, aunque sólo las respuestas inmunitarias activas originan memoria inmunológica. (De: Abbas, A. y Lichtman, A., 2004)<sup>80</sup>

### 3.2.2. Anticuerpos

Los anticuerpos o inmunoglobulinas (Ig) son glucoproteínas presentes en el plasma y líquidos intersticiales, que el organismo elabora para identificar y neutralizar un antígeno y que tienen la capacidad de unirse específicamente al mismo. Son producidos y secretados en gran cantidad por las células plasmáticas resultantes de la activación y diferenciación de los linfocitos B.

Todas las moléculas de anticuerpo comparten las mismas características estructurales básicas, pero muestran una variabilidad importante en las regiones que se unen a los antígenos. Esta variabilidad explica la capacidad de los diferentes anticuerpos para unirse a un elevado número de antígenos estructuralmente diferentes. Las funciones efectoras y las propiedades fisicoquímicas comunes de los anticuerpos se relacionan con las porciones que no se unen a los antígenos, que muestran relativamente pocas variaciones entre los diferentes anticuerpos.

Una molécula de anticuerpo tiene una estructura básica simétrica compuesta por dos cadenas ligeras idénticas (aproximadamente 24kD) y dos cadenas pesadas idénticas (55 a 70kD). Una cadena ligera está unida mediante un puente disulfuro a una cadena pesada y las dos cadenas pesadas están unidas entre si mediante puentes disulfuro.<sup>81</sup> Tanto las cadenas ligeras como las pesadas contienen una serie de unidades homólogas que se repiten y se repliegan de forma independiente en una estructura globular denominada dominio Ig, el cual contiene dos capas de láminas con plegamiento beta, compuestas por cadenas polipeptídicas antiparalelas [Figura 12].



**Figura 12. Estructura de una molécula de anticuerpo:** Los sitios de unión al antígeno están formados por la yuxtaposición de los dominios de la cadena ligera variable ( $V_L$ ) y la cadena pesada variable ( $V_H$ ). (Adaptada de: Alberts, B. *et al*, 2004)<sup>81</sup>

Tanto las cadenas pesadas como las ligeras constan de regiones variables aminoterminal (V), que participan en el reconocimiento antigénico, y regiones constantes carboxiternales (C). Las regiones C de las cadenas pesadas son las que median las funciones efectoras. En las cadenas pesadas, la región V se compone de un dominio Ig y la región C de tres o cuatro dominios Ig. Cada cadena ligera está compuesta por un dominio Ig

en la región V y uno en la región C. Las regiones variables se denominan así porque contienen zonas de variabilidad en la secuencia de aminoácidos que distinguen a los anticuerpos elaborados por una clona de linfocitos B de los fabricados por otras clonas. La región V de una cadena pesada ( $V_H$ ) se encuentra yuxtapuesta con la región V de una cadena ligera ( $V_L$ ) para formar un punto de unión con la diana. Debido a que la unidad estructural básica de cada molécula de anticuerpo contiene dos cadenas pesadas y dos ligeras, presenta dos puntos de unión al antígeno. Los dominios de la región C están separados del sitio de unión y, por consiguiente, no participan en el reconocimiento antigénico. Las regiones C de la cadena pesada interactúan con otras moléculas efectoras y células del sistema inmunológico, y por tanto, median la mayoría de las funciones biológicas de los anticuerpos. Además, los extremos carboxiterminales de las cadenas pesadas anclan a los anticuerpos unidos a la membrana a las membranas plasmáticas de los linfocitos B. Las regiones C de las cadenas ligeras no participan en las funciones efectoras y no se fijan a las membranas celulares.

La mayoría de las diferencias en la secuencia entre diferentes anticuerpos se limitan a tres breves segmentos en las regiones V de ambas cadenas que se denominan segmentos hipervariables. En una molécula de anticuerpo, las tres regiones hipervariables de un dominio  $V_L$  y  $V_H$  se encuentran juntas en el espacio para formar una superficie de unión al antígeno. Como estas secuencias forman una superficie que es complementaria a la estructura tridimensional del antígeno al que se une, se denominan regiones determinantes de la complementariedad (CDR).<sup>4,80</sup>

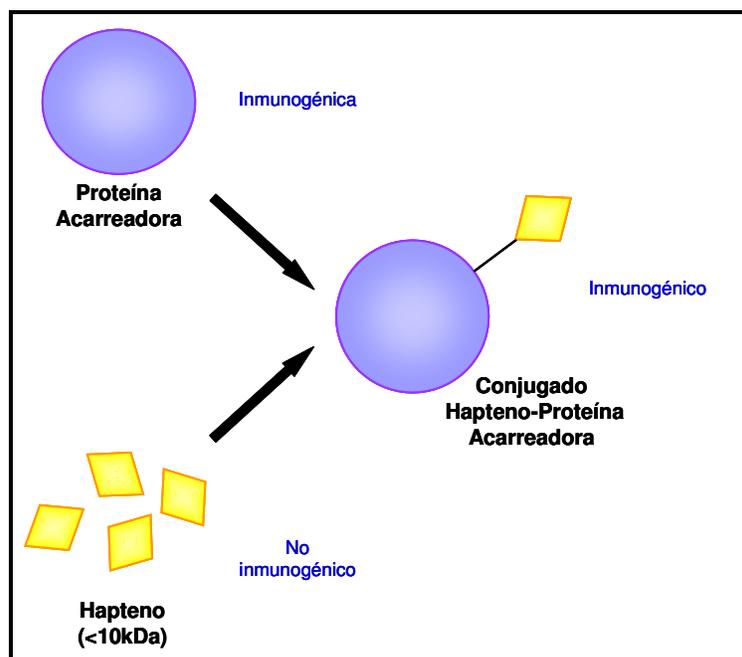
### 3.2.2.1. Inmunización

Las respuestas inmunes adaptativas se dirigen, de forma natural, a antígenos de superficie de microorganismos patógenos. Sin embargo, el sistema inmune puede ser inducido, deliberadamente, a responder a antígenos inertes. Dicha inducción de la respuesta inmune se conoce como *inmunización*.

Se denomina *inmunógeno* a cualquier sustancia capaz de provocar una respuesta inmune. Un antígeno, por su parte, se define como cualquier sustancia que pueda unirse a un anticuerpo específico. Esto significa que aunque todos los inmunógenos son antígenos, no todos los antígenos son inmunogénicos. A pesar de que casi cualquier estructura puede ser

reconocida por un anticuerpo como un antígeno, usualmente sólo las proteínas provocan respuestas inmunes adaptativas totalmente desarrolladas, dada su habilidad de interactuar con células T, induciendo las respuestas humorales requeridas para la memoria inmunológica. Dicha memoria resulta de la inmunización inicial, la cual evoca la respuesta inmune primaria.

Evolutivamente, el sistema inmune no está capacitado para reaccionar ante la presencia de antígenos pequeños (de masa molecular menor a 10kDa, aproximadamente), de modo que la administración de éstos no estimulará la producción de anticuerpos. Sin embargo, es posible desencadenar una reacción inmune contra estas moléculas si se encuentran covalentemente unidas a una proteína. El producto de esta unión se llama *conjugado*; el fragmento pequeño, originalmente no inmunogénico, se denomina *hapteno*, mientras que la fracción proteica es conocida como *acarreadora* [Figura 13]. Una respuesta inmune adaptativa que incluya memoria inmunológica puede ser inducida por antígenos no peptídicos únicamente cuando se encuentran unidos a una proteína acarreadora que se acople a las células T requeridas. Todos los antígenos, por tanto, tienen el potencial de inducir anticuerpos específicos, pero algunos necesitan estar unidos a un inmunógeno para poder lograrlo.<sup>82</sup>



**Figura 13.** Conjugado hapteno-proteína acarreadora

Algunas propiedades de las proteínas que favorecen la inducción de la respuesta inmune adaptativa son:

- a) **Tamaño y complejidad:** Entre más grande y compleja, será mayor la probabilidad de provocar una respuesta inmune. Esto es porque dichas respuestas dependen de la degradación de proteínas a péptidos que puedan unirse a las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), con el subsecuente reconocimiento de estos complejos péptido-MHC por las células T. Entre más grande sea el antígeno proteico, será más probable que contenga dichos péptidos.
- b) **Divergencia estructural:** Mientras más distante se encuentre, estructuralmente, en relación con las proteínas propias, aumenta la probabilidad de que el antígeno o sus fragmentos produzcan una respuesta inmune.
- c) **Arreglo supramolecular:** Antígenos que formen partículas o agregados son más inmunogénicos, pues son fagocitados más eficientemente por las células presentadoras de antígeno especializadas, responsables de iniciar la respuesta. Es más, proteínas solubles pequeñas son incapaces de inducir una respuesta a menos que se formen agregados.
- d) **Dosis:** La presencia de una respuesta inmune, así como la magnitud de ésta, dependen directamente de la dosis de inmunógeno administrada. Bajo cierto umbral de concentración, no habrá reacción alguna, iniciando la respuesta e incrementándose gradualmente con un aumento en la administración, hasta alcanzar un intervalo máximo, a partir del cual la relación se invierte, disminuyendo la actividad inmune al aumentar la dosis.

Aunque los antígenos usados más frecuentemente en inmunología experimental son las proteínas, éstas no siempre son suficientemente inmunogénicas. Para remediar lo anterior y provocar una respuesta inmune, son administradas junto con un *adyuvante*. Se define de esta manera a cualquier sustancia capaz de aumentar el carácter inmunogénico de los compuestos junto a los cuales ésta es administrada. Difieren de las proteínas acarreadoras en que los adyuvantes no se encuentran unidos covalentemente al inmunógeno de interés. Este tipo de compuestos ejercen su acción sinergista por dos vías. La primera consiste en

favorecer la agregación de proteínas (tal es el caso del alumbre y el aceite mineral). La segunda, en incluir en su formulación partículas microbianas que estimulen la actividad inmune. Este elemento es particularmente importante, aunque la naturaleza de los fragmentos microbianos y sus posibles efectos negativos dificultan su aplicación en humanos.<sup>82</sup>

### 3.2.2.2. *Anticuerpos Monoclonales*

Los anticuerpos generados por la respuesta inmune innata o después de la inmunización son una mezcla de moléculas de diferentes especificidades y afinidades. Parte de esta heterogeneidad resulta de la producción de anticuerpos que se unen a diferentes epítopes del antígeno inmunizado. Estos anticuerpos se denominan *policlonales* porque se derivan de diferentes líneas de células B. La diversidad de anticuerpos puede observarse incluso en anticuerpos dirigidos contra una sola determinante antigénica, como los haptenos, pues se ha demostrado que anticuerpos que se unen al mismo hapteno poseen puntos isoeléctricos<sup>§</sup> distintos.<sup>82</sup>

Los antisueros<sup>\*\*</sup> tienen ciertas desventajas inherentes que se relacionan con la heterogeneidad de los anticuerpos que contienen. Éstas son:

- 1) Cada antisuero es diferente de todos los demás, incluso si se obtiene de animales genéticamente idénticos mediante el mismo protocolo de inmunización.
- 2) El antisuero puede producirse solamente en volúmenes limitados y, por tanto, es imposible emplear el mismo reactivo serológico en una serie larga o compleja de experimentos.
- 3) Hasta anticuerpos purificados por cromatografía de afinidad pueden incluir poblaciones menores de anticuerpos, las cuales pueden llegar a provocar reacciones cruzadas inesperadas y alterar los resultados experimentales.<sup>82</sup>

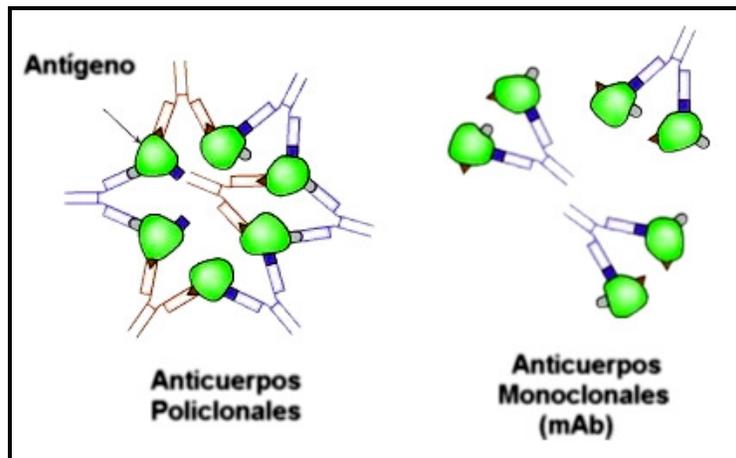
Así pues, para aprovechar plenamente el potencial de los anticuerpos, era necesario desarrollar la manera de producir cantidades prácticamente ilimitadas de moléculas de

---

<sup>§</sup> *Punto isoeléctrico*: pH al que la carga neta es cero.

<sup>\*\*</sup> *Antisuero*: Líquido residual tras la coagulación de la sangre o plasma que contiene un número detectable de moléculas de anticuerpo que se unen a un antígeno concreto.

anticuerpos idénticas y específicas para un determinante antigénico particular [Figura 14]. El primer método, y en la actualidad el más utilizado, fue descrito por Georges Köhler y Cesar Milstein en 1975.<sup>83</sup> Esta técnica se basa en la fusión celular entre un linfocito B normal productor de anticuerpos y una célula de mieloma, seguida de la selección de las células fusionadas que secreten anticuerpos de la especificidad deseada. Estas líneas celulares inmortalizadas y productoras de anticuerpos derivadas de la fusión se llaman *hibridomas* y los anticuerpos que sintetizan se denominan *anticuerpos monoclonales*.<sup>80,84</sup> En la fusión, las células secretoras de anticuerpo proveen los genes para la producción de la inmunoglobulina funcional deseada, mientras que las células de mieloma proporcionan los genes para la división celular continua en condiciones de cultivo y serán las responsables de la proliferación del hibridoma.<sup>85</sup>

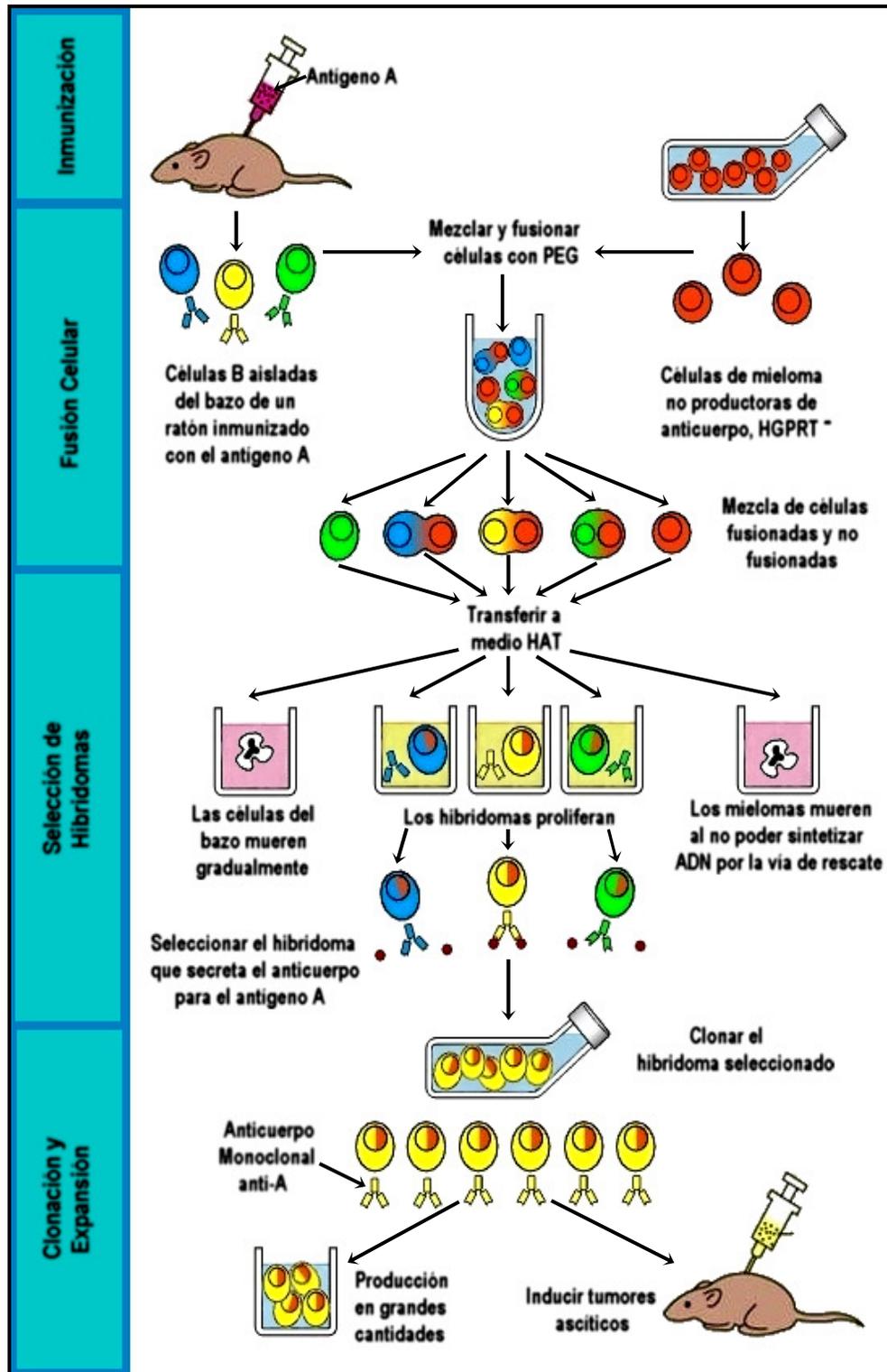


**Figura 14. Comparación de Anticuerpos Policlonales y Monoclonales:** La mayoría de los antígenos poseen varios epítopos. Los *anticuerpos policlonales* son mezclas heterogéneas de anticuerpos, específicos para cada uno de los varios epítopos del antígeno. Los *anticuerpos monoclonales* son todos idénticos, producidos por clonas de una sola célula plasmática. Reconocen un solo epítipo específico (De: Goldsby, R. *et al*, 2000)<sup>84</sup>

#### 3.2.2.2.1. Obtención de Anticuerpos Monoclonales

La producción de anticuerpos monoclonales específicos frente a un antígeno definido, comprende cuatro etapas básicas [Figura 15]:

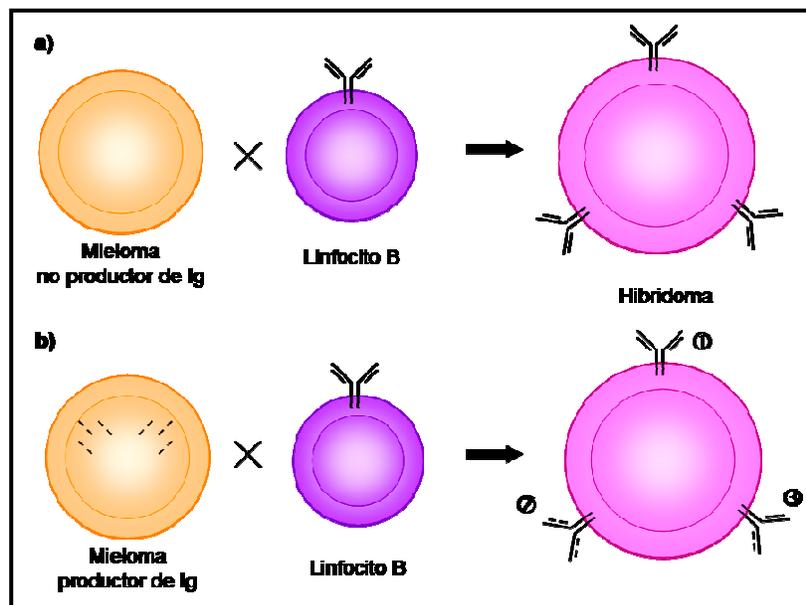
**a) Inmunización:** Primero, se inmuniza a una rata o un ratón con el antígeno deseado, el cual debe ser inmunogénico. Después, se aplica una serie de dosis de refuerzo, cada dos semanas o cada mes, hasta la detección de altos títulos de anticuerpos contra el antígeno. Finalmente, los linfocitos B se aíslan del bazo o los ganglios linfáticos del animal.<sup>80,85</sup>



**Figura 15. Producción de anticuerpos monoclonales anti-A:** Se inmuniza el ratón con el antígeno A hasta la obtención de una buena respuesta contra el mismo; entonces las células B del bazo se fusionan con mielomas no productores de anticuerpo HGPRT<sup>-</sup> mediante la adición de polietilenglicol (PEG). La mezcla obtenida se inocula en medio HAT, en el cual sólo pueden sobrevivir las células fusionadas, ya que están dotadas de la inmortalidad propia de las células de mieloma y de la vía metabólica de derivación de las células del bazo que les permite sintetizar ADN en presencia de aminopterina. Todos los pozos con crecimiento celular son analizados para detectar la presencia del Ab deseado; si el resultado es positivo, son clonadas mediante cultivo en placas para separar cada uno de los clones. La obtención de grandes cantidades del mAb se logra mediante el cultivo en grandes volúmenes o por la inducción de tumores ascíticos.

**b) Fusión Celular:** Los linfocitos B del animal inmunizado se fusionan con mielomas, una línea tumoral de células plasmáticas, los cuales deben cumplir con una serie de requisitos:

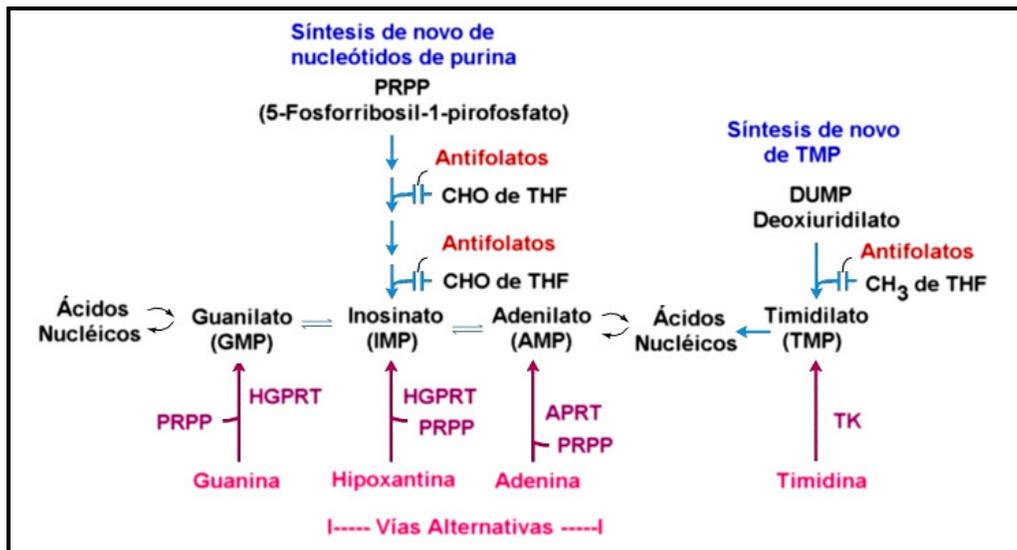
- 1) Ausencia de producción de inmunoglobulina propia: La fusión de dos células productoras de anticuerpos, lleva a la expresión de dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas, lo que conduce a la formación de moléculas híbridas con inmunoglobulinas formadas por asociación al azar de estas cadenas. En cambio, si como pareja de fusión se emplea un mieloma no productor, el hibridoma resultante expresará tanto las cadenas pesadas como ligeras provenientes del linfocito B, las cuales son específicas para el antígeno<sup>86</sup> [Figura 16].



**Figura 16.** Tipos de anticuerpos producidos al fusionar linfocitos B con mielomas productores y no productores de Ig. **a)** Las cadenas pesadas y ligeras son donadas por el linfocito B, por tanto, todos los anticuerpos poseen dos sitios de unión al antígeno. **b)** Distintos tipos de anticuerpos pueden resultar de la fusión de un linfocito B y un mieloma productor de cadenas ligeras (líneas punteadas) [De: Hockfield, S. *et al*, 1993].<sup>86</sup>

- 2) Biosíntesis de nucleótidos de purina defectiva: Las células animales normales sintetizan nucleótidos de purina y timidilato, ambos precursores del ADN, a través de una vía *de novo* que requiere tetrahidrofolato (THF). Los fármacos antifolato, como la aminopterina, bloquean la activación del THF, inhibiendo la síntesis de purinas e impidiendo así la producción de ADN. Las células tratadas con aminopterina pueden emplear una vía alternativa en la que la purina se sintetiza a partir de hipoxantina, administrada de forma exógena, por la acción de la enzima hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HGPRT) y el timidilato se sintetiza a

partir de timidina por la enzima timidina cinasa (TK)<sup>80</sup> [Figura 17]. Por consiguiente, las células crecen normalmente en presencia de aminopterina si el medio de cultivo también contiene hipoxantina y timidina, medio de cultivo denominado HAT. La técnica de selección de hibridomas requiere, por tanto, líneas celulares de mieloma mutadas en HGPRT o TK, de manera que los mielomas no fusionados puedan eliminarse al ser incapaces de utilizar la vía alternativa para formar DNA en presencia de aminopterina.<sup>87</sup>

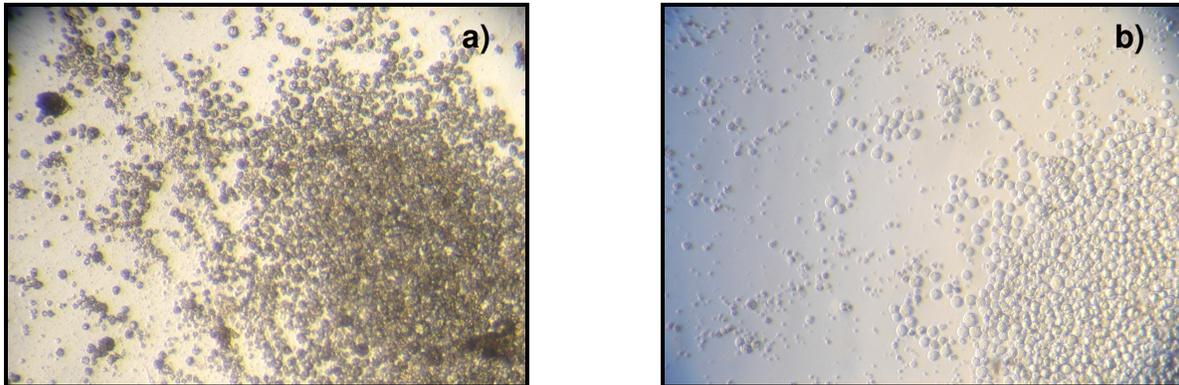


**Figura 17. Síntesis de nucleótidos por las vías de novo y de reciclaje:** En un medio normal, células animales en cultivo sintetizan nucleótidos de purina (AMP, GMP, IMP) y timidilato (TMP) por la vía de novo, en azul. Ésta requiere la transferencia de un grupo metil o formil de la forma activada del tetrahidrofolato (THF). Antifolatos, como la aminopterina y ametopterina, bloquean la reactivación del THF evitando la síntesis de purinas y timidilato. Las células normales pueden usar las vías de reciclaje, en rojo, para incorporar las bases púricas o nucleosidos y la timidina adicionada al medio. Las células en cultivo que carecen de alguna enzima de las vías de reciclaje (HGPRT, APRT o TK) no sobrevivirán en un medio de cultivo que contenga antifolatos. Donde: *HGPRT*: Hipoxantina guanosina fosforibosil transferasa; *APRT*: Adenina fosforibosil trasferasa; *TK*: timidina cinasa (De: Alberts, B.; *et al*, 2002)<sup>87</sup>

Las líneas de mieloma son la mejor pareja de fusión para los linfocitos B porque células similares tienden a fusionarse y formar híbridos estables de una manera más eficiente que las células que no se asemejan.<sup>80</sup> La fusión celular se consigue mediante el uso de polietilenglicol (PEG), un tensoactivo que fusiona las bicapas lipídicas de las membranas de mielomas adyacentes y/o células productoras de anticuerpos, formando una sola célula con 2 o más núcleos.<sup>86</sup>

**c) Selección de Hibridomas:** Se seleccionan los híbridos para su posterior cultivo en medio HAT; bajo estas condiciones, las células de mieloma HGPRT o TK negativas no fusionadas mueren porque no pueden utilizar la vía alternativa y los linfocitos B no fusionados no pueden

sobrevivir más de 1 a 2 semanas, pues no están inmortalizados; es por eso que en este medio sólo sobreviven los hibridomas, a los cuales el linfocito parental aportó el gen para estas enzimas [Figura 18].<sup>80,85</sup>



**Figura 18. Selección de Hibridomas:** **a)** *Pozo sin hibridoma:* Las células tumorales no fusionadas y los híbridos mieloma-mieloma que no sintetizan HGPRT, perecieron por su incapacidad de utilizar la vía de rescate para formar DNA. Los linfocitos no hibridados mueren, ya que tienen una tasa de vida corta. **b)** *Pozo con hibridoma en formación:* En el medio de cultivo, sólo sobreviven los hibridomas, a los cuales el linfocito parental aportó el gen para esta enzima. (Imágenes tomadas mediante un microscopio de contraste de fases invertido, 10x)

Las células fusionadas se cultivan a una concentración a la que cabe esperar que cada pozo de cultivo contenga inicialmente una sola célula de hibridoma. El sobrenadante del cultivo de cada pozo en el que se detecte crecimiento celular se estudia para comprobar la presencia del anticuerpo contra el antígeno de interés. El método de selección depende del antígeno que se está empleando. Para los antígenos solubles, la técnica habitual es el radioinmunoanálisis (RIA) o el análisis por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA); para los antígenos de superficie celular, se pueden utilizar diversos métodos de análisis de unión de anticuerpos a células viables.

**d) Clonación y Expansión:** Una vez que se han identificado los pozos positivos (es decir, los que contienen hibridomas productores del anticuerpo deseado), se clonan las células en agar semisólido mediante dilución limitante y se aíslan los clones productores de anticuerpos mediante otra ronda de selección. Estos hibridomas clonados sintetizan anticuerpos monoclonales, homogéneos y de una alta especificidad, que pueden ser cultivados en volúmenes importantes o implantados como tumores ascíticos en ratones singénicos para la producción de grandes cantidades de mAbs.<sup>80</sup>

#### 3.2.2.2. Tipos de Anticuerpos Monoclonales

En la actualidad se han incorporado técnicas de biología molecular e ingeniería genética que han ampliado el horizonte de la generación de los anticuerpos monoclonales y sus usos.<sup>88</sup> Los distintos tipos de anticuerpos monoclonales se mencionan a continuación:

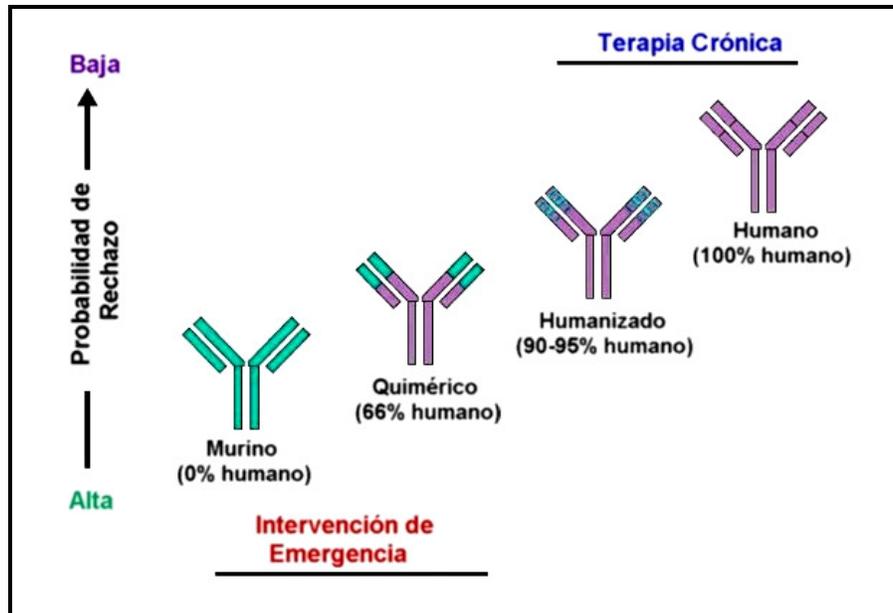
**a) Anticuerpos murinos:** Obtenidos mediante tecnología de hibridomas, tras un proceso de inmunización en ratones o ratas.<sup>89</sup> Sus aplicaciones terapéuticas se encuentran limitadas debido al perfil de efectos adversos que provocan y su corta vida media en plasma.<sup>90,91</sup>

**b) Anticuerpos quiméricos:** Son generados mediante la unión entre los dominios variables (responsables del reconocimiento y unión al antígeno) de un anticuerpo monoclonal (mAb) de ratón y la región constante de un anticuerpo humano: V<sub>L</sub> murino a C<sub>L</sub> humano y V<sub>H</sub> murino a C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3 humano, correspondiendo a las cadenas ligera y pesada, respectivamente.<sup>92,93</sup>

**c) Anticuerpos humanizados:** Creados a partir de las zonas específicas de unión al antígeno, conocidas como Regiones Determinantes de la Complementariedad (CDRs), obtenidas de un anticuerpo murino. Al ser injertadas en una IgG humana, permiten producir anticuerpos de alta afinidad, aunque esto normalmente requiere la transferencia de residuos adicionales de las llamadas *Regiones Estructurales* (FRs) del mAb de ratón.<sup>94,95</sup>

**d) Anticuerpos humanos:** Se obtienen a partir de fragmentos variables de gran tamaño (scFvs) o de bibliotecas de fagos. Poseen una alta afinidad por su diana, lográndose incluso el reconocimiento de antígenos propios.<sup>96</sup> Otra técnica para la creación de anticuerpos humanos es a través de ratones transgénicos que contengan los genes para la codificación de inmunoglobulinas humanas. De esta manera, la inmunización producirá anticuerpos humanos aislables mediante tecnología de hibridomas.<sup>97,98</sup>

La evidencia clínica experimental indica que los anticuerpos quiméricos, humanizados y humanos son menos inmunogénicos que los mAb murinos [Figura 19]. Es razonable además que los anticuerpos humanos sean menos propensos a producir una respuesta inmune en comparación con los humanizados, y éstos, a su vez, sean inmunógenos más débiles que los mAb quimérico, aunque no se cuenta con datos clínicos que confirmen estos argumentos.<sup>99</sup>



**Figura 19. Tipos de Anticuerpos monoclonales:** La tecnología de generación de hibridomas de ratón genera *anticuerpos monoclonales murinos*. La ingeniería genética ha favorecido la generación de anticuerpos quiméricos, humanizados e humanos. La clonación de los genes variables en los genes de la región constante humana da lugar a *anticuerpos quiméricos*. Los *anticuerpos humanizados* son generados por la inserción de las regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) en los marcos de los dominios constante y variable humanos. Los *anticuerpos totalmente humanos* se pueden generar por la selección de fragmentos humanos de bibliotecas *in vitro*, ratones transgénicos o a través de la selección de hibridomas humanos. Entre más humano sea el anticuerpo, menor será la posibilidad de generar una respuesta inmune y mayor será su utilidad como terapia crónica. (Adaptada de: Reff, M. *et al*, 2002)<sup>100</sup>

En la actualidad, el desarrollo de anticuerpos con fines terapéuticos se centra en la producción de mAb humanos y humanizados. La humanización es una tecnología con potencial clínico, cuando el anticuerpo murino ha sido plenamente caracterizado. De no existir mAb provenientes de ratones, el uso de vías directas de producción de anticuerpos humanos ofrece la posibilidad de un desarrollo preclínico más ágil. En conclusión, la elección de la tecnología a usar depende de consideraciones como la rentabilidad del proceso y la disponibilidad de las materias de partida.<sup>99</sup>

### 3.2.2.2.3. Aplicaciones Generales de los Anticuerpos Monoclonales

La propiedad de los anticuerpos de unirse con alta especificidad y afinidad a una molécula blanco permite su utilización como herramientas esenciales en investigación biomédica y clínica,<sup>88</sup> las cuales han probado ser invaluable para:

**a) Identificación de marcadores fenotípicos distintivos de tipos celulares concretos:** La base de la clasificación moderna de los linfocitos y otros leucocitos es la unión de

anticuerpos monoclonales específicos de cada población. Éstos se han utilizado para definir los grupos de diferenciación (marcadores CD) para diversos tipos celulares.<sup>80,101</sup>

**b) *Inmunodiagnóstico:*** El diagnóstico de muchas enfermedades infecciosas y sistémicas se basa en la detección de antígenos o anticuerpos determinados en la sangre circulante o en los tejidos mediante el empleo de anticuerpos monoclonales en inmunoanálisis<sup>80</sup> y como marcadores específicos para el diagnóstico por imágenes.<sup>85</sup>

**c) *Diagnóstico y tratamiento de tumores:*** Se utilizan anticuerpos monoclonales específicos para la detección de tumores por técnicas de imagen y para la inmunoterapia antitumoral *in vivo*.<sup>80,88</sup>

**d) *Análisis funcional de moléculas de superficie y secretadas:*** En la investigación inmunológica, los anticuerpos monoclonales que se unen a moléculas de superficie celular y que estimulan o inhiben determinadas funciones celulares constituyen herramientas insustituibles para definir las funciones de las moléculas de superficie, incluidos los receptores de antígenos. Los anticuerpos que se fijan y neutralizan citocinas se emplean de forma habitual para detectar la presencia y las funciones de estas hormonas proteicas *in vitro* e *in vivo*.<sup>80,101</sup>

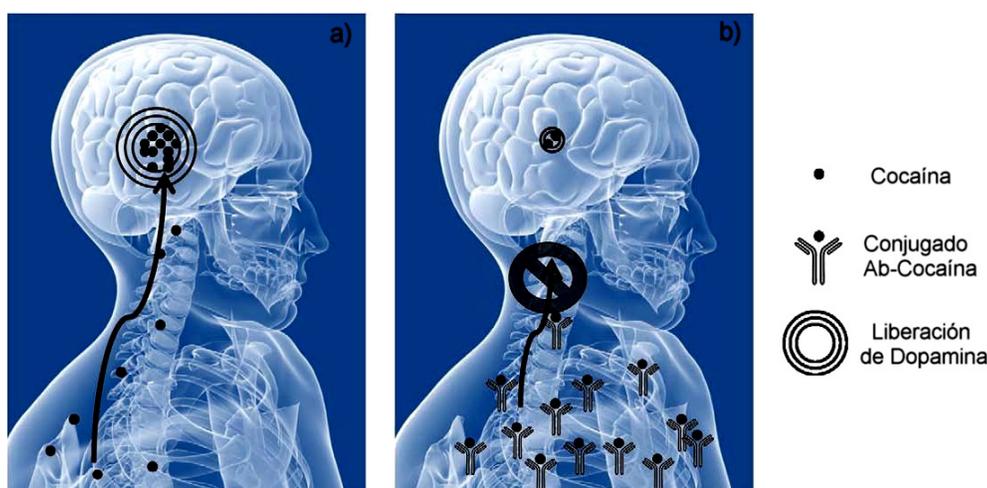
**e) *Estudio de los procesos de interacción hospedero-agente infeccioso:*** Para la conducción de estudios funcionales y para la selección de posibles blancos terapéuticos y candidatos para vacunas.<sup>88</sup>

## 4. METODOLOGÍA

### 4.1. INMUNOFARMACOTERAPIA CONTRA LA ADICCIÓN A COCAÍNA

La inmunofarmacoterapia contra la adicción a cocaína está dirigida al uso de anticuerpos altamente específicos que secuestran la droga mientras ésta se encuentra todavía en el torrente sanguíneo,<sup>4</sup> permitiendo así que las colinesterasas plasmáticas la biotransformen en sus metabolitos inactivos, los cuales se excretan subsecuentemente.<sup>102</sup>

La creación de complejos anticuerpo-cocaína entorpece el cruce de la droga a través de la barrera hematoencefálica, no solo contrarrestando sus efectos de refuerzo, sino también previniendo las complicaciones secundarias perjudiciales que causa en el SNC<sup>1</sup> [Figura 20]. Además, la especificidad de la vacuna por la cocaína, más que por su sitio de acción, puede minimizar la interferencia con otras terapias.<sup>4</sup>



**Figura 20.** Principio general de la inmunoterapia: Anticuerpos neutralizantes se unen a la cocaína e interrumpen su paso a través de la barrera hematoencefálica. (De: Moreno, A. and Janda, K. 2009)<sup>1</sup>

El éxito de una estrategia inmunológica recae en gran medida sobre algunos parámetros como: el título, afinidad y especificidad de los anticuerpos hacia cierta estructura molecular.<sup>††</sup> El sistema inmune no ha evolucionado para generar respuestas a moléculas pequeñas, menos de 10kDa, límite que se encuentra por encima del peso molecular de cualquier droga de abuso,  $\approx 1$ kDa. Por tanto, moléculas como la de la cocaína deben unirse covalentemente a una proteína acarreadora de manera que puedan provocar una respuesta inmune.

<sup>††</sup> En el caso de una vacuna para cocaína, se ha encontrado que la [Ab] debe ser de, al menos, 40 $\mu$ g/mL para lograr unirse al 80% de la  $C_p^{\max}$  de la droga, asumiendo que los Ab poseen una constante de afinidad (Kd) razonable ( $\geq 20\mu$ M). ¡Error! Marcador no definido.

Generalmente, el conjugado se forma mediante la síntesis de un derivado químico de la droga denominado hapteno que incorpora un brazo separador con una fracción terminal reactiva empleada para unirse a la proteína. La intensidad de la respuesta, medida como la cantidad de anticuerpo, es susceptible a variaciones debidas a la identidad de la proteína acarreadora y el tipo de adyuvante empleado en la formulación antigénica. Adicionalmente, la afinidad del anticuerpo y la especificidad están directamente relacionadas con la presentación exitosa del hapteno, la cual se ve afectada por su diseño, la longitud del brazo espaciador y el sitio de unión a la proteína acarreadora. Finalmente, una vez que el diseño del hapteno, la identidad de la proteína acarreadora y el adyuvante se han establecido la protección puede ser conferida tanto por inmunización activa como pasiva.<sup>1,4</sup>

En un programa de *inmunización activa*, el conjugado antigénico de cocaína-proteína acarreadora es administrado directamente, lo que provoca la activación de linfocitos T y B, ocasionando la generación específica de anticuerpos. Este método es capaz de conferir protección de larga duración, a través de mecanismos de memoria inmunológica, para prevenir la recaída tras la administración de la vacuna. No obstante, las limitaciones de la inmunidad activa incluyen: primero, que se requiere algún tiempo de exposición, que va desde semanas a meses, para la interacción del antígeno con el sistema inmune antes de que la protección sea concedida y segundo, existe una gran variabilidad interindividual con respecto al tipo de respuesta montada.<sup>1</sup>

En contraste, la *inmunización pasiva* ofrece protección inmediata por medio de la inyección de anticuerpos preformados de alta afinidad por la cocaína, característicamente de identidad monoclonal (mAbs), haciendo este tratamiento particularmente importante en casos de sobredosis, así como en puntos críticos del ciclo adictivo para evitar la recaída. Sin embargo, la inmunidad pasiva es una técnica cara y sus efectos, de corta duración, dependen de la vida media del anticuerpo; además de estar limitada a la cantidad de anticuerpos suministrada.<sup>1</sup>

Adicionalmente, se han explorado terapias alternativas basadas en proteínas como el uso de anticuerpos monoclonales catalíticos, los cuales pueden inactivar a la cocaína antes de que ésta tenga la oportunidad de llegar al cerebro<sup>4</sup>

## 5. RESULTADOS

En las últimas décadas, varios grupos de investigación han explorado técnicas inmunológicas como estrategias contra el abuso de cocaína. Como se mencionó anteriormente, la cocaína por sí sola no puede inducir una respuesta inmune, pero su unión covalente con una proteína acarreadora la convierte en una molécula hapténica con propiedades inmunogénicas. La proteína acarreadora presenta dos funciones: estimula la producción de anticuerpos mediada por células T, al mismo tiempo que provee una plataforma multivalente que posibilita la presentación de cocaína en la superficie de células B.<sup>104</sup> Aunque pueden utilizarse diversas proteínas acarreadoras en una vacuna conjugada, las vacunas contra cocaína reportadas en los últimos años se han sintetizado conjugando cocaína o un análogo de ésta a la hemocianina extraída del molusco lapa californiana (KLH)<sup>105,106</sup> o a la albúmina sérica bovina (BSA).<sup>107</sup>

### 5.1 INMUNIZACIÓN ACTIVA

Estrategias de inmunización activa suponen la inducción de anticuerpos anticocaína, los cuales se unen periféricamente a la cocaína circulante formando un complejo molecular grande, mayor a 150kDa, incapaz de penetrar la barrera hematoencefálica, impidiendo así su paso al SNC, donde la droga ejerce sus efectos adictivos<sup>4</sup> [Figura 21].

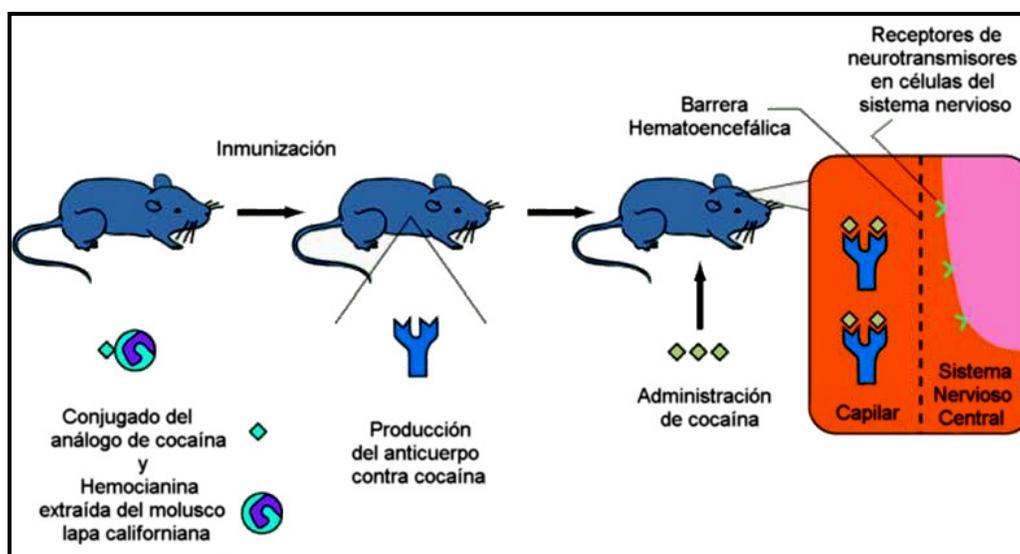
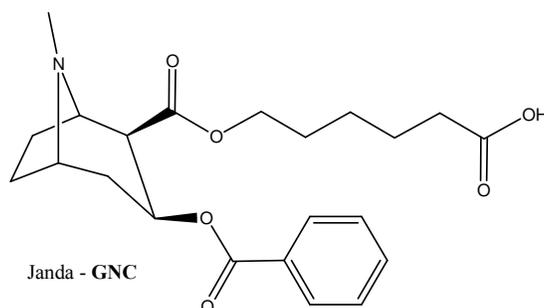


Figura 21. Estrategia de vacunación anticocaína. (De: Carrera, M. *et al*, 2004)<sup>4</sup>

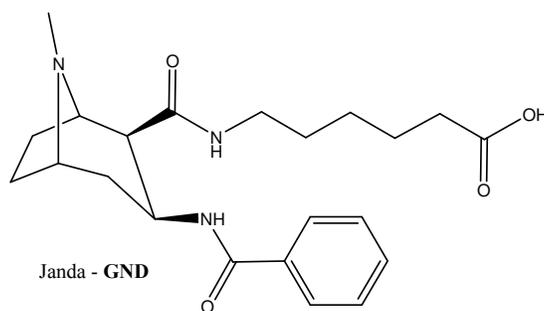
Empleando esta metodología, *Bagasral et al*<sup>106</sup> lograron la inducción de anticuerpos anticocaína en ratas, alcanzando niveles séricos de entre 0.004 y 0.019mg/mL y reduciendo los efectos analgésicos de 25mg/kg de cocaína. Además, la concentración de anticuerpos en el torrente sanguíneo fue inversamente proporcional a los tiempos de reacción en el ensayo de analgesia de la placa caliente. Sin embargo, ninguno de los animales mostró resistencia a una dosis moderada de cocaína<sup>106</sup>; implicando que el hapteno, la dosis de inmunización o el régimen no fueron óptimos.

El primer reporte de un inmunoconjugado que realmente bloqueo los efectos psicoestimulantes de la cocaína, fue publicado por *Carrera et al*<sup>105</sup> en 1995. En este estudio, la inmunización activa con *GNC* [Figura 22] acoplado con la proteína acarreadora *KLH* provocó títulos de anticuerpo elevados con alta afinidad por la cocaína ( $K_d \sim 1\mu M$ ), capaces de reducir significativamente los niveles de la droga en el estrato y el cerebelo hasta en un 80%, al mismo tiempo que suprimían la actividad locomotora y comportamientos estereotipados inducidos por la administración de 15mg/kg de cocaína.<sup>105</sup> Estudios posteriores indicaron que los títulos de anticuerpo obtenidos tras la inmunización con GNC-KLH fueron suficientes para bloquear el reforzamiento de una dosis única de la droga, aunque eran superados al aumentar la dosis o la frecuencia del uso de cocaína. En otro estudio, se demostró que los títulos de anticuerpos se elevaron hasta 25 000 en ratas inyectadas con 250 $\mu$ g del conjugado en tres inmunizaciones por un periodo de cinco semanas. Este nivel de anticuerpos fue suficiente para bloquear los efectos inducidos por una dosis única de cocaína e incluso mostró una eficacia moderada al triplicar la dosis.<sup>108</sup> Estos resultados sugieren que este tratamiento posee realmente un potencial terapéutico para el abatimiento del abuso de cocaína.



**Figura 22.** Hapteno GNC (*Carrera, M. et al, 1994*)<sup>105</sup>

Estudios subsecuentes por el mismo grupo desarrollaron el conjugado cocaína-KLH de segunda generación denominado *GND-KLH* [Figura 23], empleando enlaces tipo amida como estrategia de diseño para incrementar la estabilidad del hapteno.<sup>109</sup> El conjugado GND-KLH proveyó de una mayor protección contra cocaína manteniendo su efecto hasta 12 días después de la última inmunización. A pesar de ello, los títulos de anticuerpos se mantuvieron en el rango de 25 000 sugiriendo que dosis altas y repetidas sobrepasarían sus efectos de protección.



**Figura 23.** Hapteno GND (Carrera, M. *et al*, 2001)<sup>109</sup>

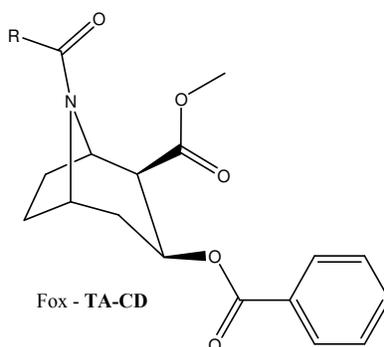
Otros estudios realizados para mejorar el diseño del hapteno mediante la variación del sitio de unión del brazo espaciador no fueron fructíferos, provocando títulos de anticuerpos en la misma región que el GNC, pero mostrando menor afinidad por la cocaína.<sup>110</sup>

Un esfuerzo posterior para complementar los estudios de *Carrera et al*<sup>105</sup> se llevo a cabo por *Fox et al*<sup>107</sup> quienes conjugaron norcocaína a BSA; estrategia que eventualmente llego a pruebas clínicas en humanos. En ratones, se obtuvieron títulos de anticuerpos de más de 100 000, los cuales fueron observados y mantenidos hasta por 4 meses. Ensayos de ELISA por competencia mostraron la unión exclusiva de los anticuerpos generados a cocaína, norcocaína y cocaetileno. Estudios farmacocinéticos en ratas, demostraron que la formación del complejo anticuerpo-cocaína no posee efecto significativo sobre la vida media de la droga, su metabolismo o su tasa de depuración.<sup>107</sup>

En estudios posteriores, se emplearon conjugados de norcocaína-subunidad B de la toxina del cólera recombinante (TCBr) para determinar el comportamiento de autoadministración en ratas, el cual se vio afectado significativamente sólo en animales cuya concentración sérica de anticuerpos era mayor a 0.05mg/mL. En estos animales, hasta infusiones lo suficientemente grandes para producir convulsiones y/o muerte únicamente provocaron

actividad locomotora leve y comportamiento de búsqueda bajo. Además, incluso a dosis mayores, no se encontró evidencia de que los efectos protectores se vieran superados por la acción de la droga.<sup>111</sup>

Basados en estos descubrimientos, se desarrolló la vacuna TA-CD, la cual consiste en un conjugado conformado por succinilnorcocaína, [Figura 24], acoplada a TCB<sub>r</sub> con hidróxido de aluminio como adyuvante.<sup>112,113,114</sup> Esta vacuna se llevó a pruebas clínicas por Xenova (ahora Celtic Pharma). Los resultados de la fase clínica I mostraron que TA-CD era bien tolerada local y sistémicamente después de tres inyecciones durante un periodo de dos meses.<sup>115</sup> Se detectaron valores apreciables de anticuerpos anticocaína después de un mes y se alcanzaron los niveles máximos después del tercer refuerzo y permaneciendo altos por aproximadamente cuatro meses hasta desaparecer completamente después de un año. Como se esperaba, se observó una gran variabilidad interindividual en la magnitud de la respuesta inmune; sin embargo, la dosis más alta de TA-CD correlacionó con los niveles más altos de títulos de anticuerpo. Para la dosis más baja de la vacuna la cantidad de anticuerpos específicos anticocaína fue de 0.003mg/mL, valor por debajo del nivel mínimo predicho para antagonizar dosis típicas de cocaína.<sup>73</sup> En estudios clínicos posteriores se implementó el programa de inmunización y la dosis.



**Figura 24.** Hapteno TA-CD (Fox, B. *et al.*, 1996)<sup>107</sup>

El primer estudio fase II, denominado II-a, se realizó en voluntarios con consumo crónico de cocaína, los cuales no buscaban tratamiento para reducir o detener el uso de la droga. Los resultados demostraron que voluntarios que alcanzaron altos títulos de anticuerpos anticocaína ( $\geq 43\mu\text{g/mL}$ ) en sangre experimentaron una disminución en la exaltación experimentada tras el uso de la cocaína. Esta respuesta también resultó en una reducción sustancial de la cantidad de cocaína consumida por los voluntarios.<sup>102,116</sup> El ensayo II-b

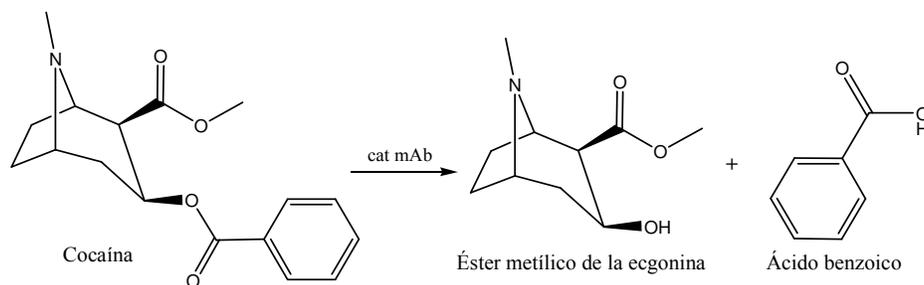
consistió en un estudio placebo doble ciego controlado en 114 consumidores de cocaína que además se encontraban bajo terapia de metadona para el tratamiento de adicción a heroína. El criterio de evaluación de la eficacia de la vacunación se planteó como un periodo de abstinencia de tres semanas consecutivas; esta meta en sujetos con un tiempo de abuso promedio de trece años, no se alcanzó. Sin embargo, algunas indicaciones de eficacia estuvieron presentes incluyendo que más de la mitad de los pacientes en el grupo de tratamiento alcanzaron una mejora del 50% o más en días libres de cocaína comprobados mediante análisis de orina.<sup>117</sup> Hasta el 2009 cuatro ensayos clínicos se han completado<sup>118</sup> y durante este año se empezarán a reclutar pacientes para un estudio multicéntrico que terminará a mediados del 2014.<sup>119</sup>

## 5.2 INMUNIZACIÓN PASIVA

La inmunización pasiva con anticuerpos monoclonales anticocaína de alta afinidad (mAbs) posee la ventaja inherente de utilizar una población homogénea y bien definida de anticuerpos. Varios anticuerpos monoclonales murinos se han empleado para demostrar la correlación entre la dosis de anticuerpo administrada y el comportamiento de autoadministración,<sup>107,111</sup> así como para evaluar la disminución de la entrada de cocaína al cerebro y la reducción de sus efectos conductuales y farmacocinéticos correspondientes.<sup>108,109</sup>

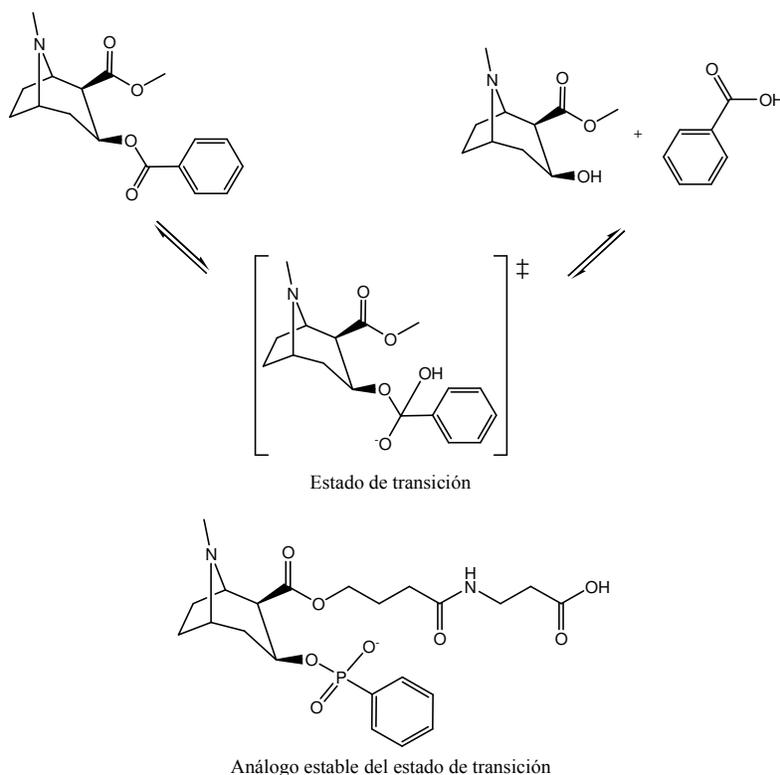
Estudios con el anticuerpo monoclonal *GNC92H2* demostraron resultados positivos en el bloqueo de la toxicidad inducida por la cocaína en modelos de sobredosis.<sup>120</sup> Recientemente, *Redwan et al*<sup>121</sup> reportaron la humanización de la Fv de cadena sencilla (scFv) del anticuerpo GNC92H2 mediante ingeniería genética sin que ésta perdiera su modesta afinidad por la cocaína ( $K_d \approx 200\text{nM}$ ).<sup>121</sup>

Una variación a la inmunidad pasiva propone el uso de anticuerpos monoclonales catalíticos, los cuales no sólo secuestran la molécula de cocaína, sino que la metabolizan a sus productos inactivos: éster metílico de la ecgonina y ácido benzoico, disminuyendo así el efecto potencial de la droga sobre el SNC [Figura 25]. La característica única de esta preparación es que después de hidrolizar a la cocaína y liberar sus metabolitos, el anticuerpo queda libre para unirse a moléculas adicionales de la droga y continuar con su degradación.<sup>1</sup>



**Figura 25.** Degradación de la cocaína a través de anticuerpos catalíticos. (Moreno, A., 2009)<sup>1</sup>

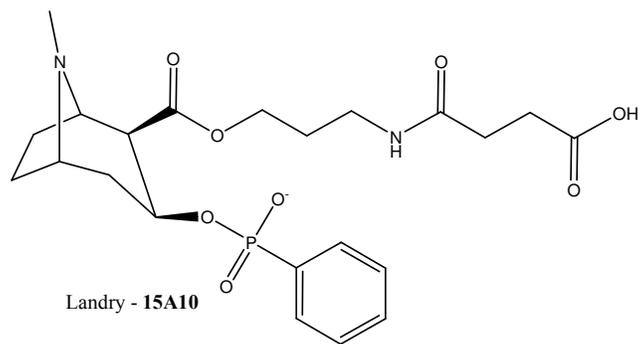
Para obtener anticuerpos que catalicen esta reacción, se han reportado análogos del estado de transición para el diseño del hapteno.<sup>122,123,124</sup> En este modelo, el éster benzoico presente en C-3 de la fórmula de la cocaína es reemplazado por una fracción de fenilfosfonato que se aproxima al estado de transición para la hidrólisis del éster [Figura 26].



**Figura 26.** Comparación entre el estado de transición en la reacción de hidrólisis de la cocaína y un análogo sintético del estado de transición. (Carrera, M. *et al*, 2004)<sup>4</sup>

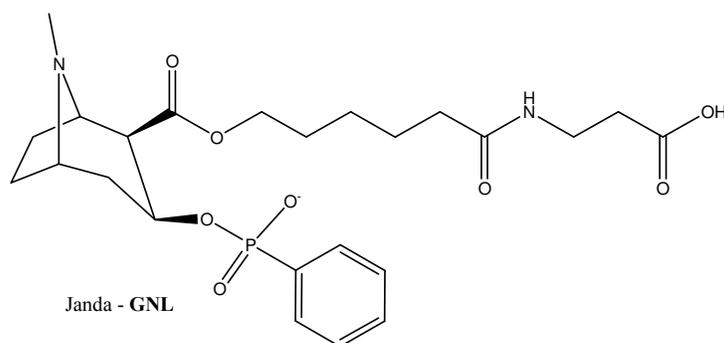
*Landry et al*<sup>124</sup> fue el primer grupo en obtener un potente anticuerpo monoclonal catalítico contra cocaína, 15A10, usando un hapteno monoéster de fosfonato que imita al estado de transición de la reacción de hidrólisis<sup>124,125</sup> [Figura 27]. En un modelo de sobredosis en ratas, el mAb15A10 protegió a los animales en estudio de convulsiones y muerte repentina tras la infusión de dosis letales de la droga.<sup>126</sup> Como prueba adicional del concepto, la concentración

del éster metílico de la ecgonina se vio incrementada más de diez veces en el plasma de las ratas tratadas con anticuerpos monoclonales. En un modelo de autoadministración en ratas, los efectos de refuerzo de la cocaína se bloquearon completamente, aunque sólo por un periodo de 48 a 72h tras la inyección.<sup>127</sup>



**Figura 27.** Hapteno 15A10, análogo del estado de transición de la cocaína. (Landry, D. *et al*, 1993)<sup>124</sup>

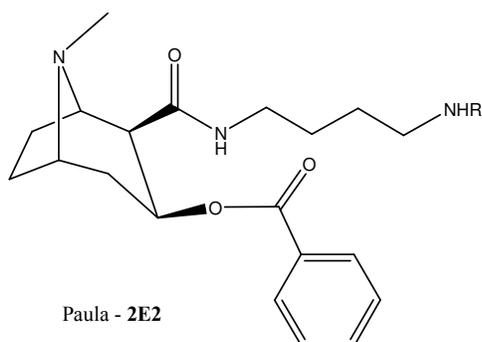
En años posteriores, se han sintetizado una amplia variedad de anticuerpos catalíticos derivados de distintos análogos del estado de transición, siendo el mAb *GNL3A6* el más eficiente<sup>128</sup> [Figura 28]. Sin embargo, al igual que con 15A10, los parámetros cinéticos de *GNL3A6* son menores a los requeridos para lograr una terapia eficaz.



**Figura 28.** Hapteno *GNL3A6*, análogo del estado de transición de la cocaína. (Matsushita, M. *et al*, 2001)<sup>128</sup>

Hasta la fecha, casi todos los anticuerpos monoclonales que se han evaluado en modelos animales son de origen murino. Desafortunadamente, se espera que la secuencia murina de estos anticuerpos provoque una respuesta inmune neutralizante en humanos.<sup>129</sup> El desarrollo de un anticuerpo con una secuencia predominantemente humana disminuye la probabilidad de inducirla. Así pues, *Paula et al*<sup>130</sup> reportaron la obtención del anticuerpo monoclonal anticocaína 2E2<sup>130</sup> generado en ratones transgénicos productores de una secuencia humana de mAb<sup>131</sup> después de la inmunización con benzoilecgonina unida, a través de un enlace tipo

amida, a KLH funcionalizada con 1,4-butanodiamina [Figura 30]. Estudios de caracterización establecieron que este anticuerpo posee una secuencia humana en la cadena pesada  $\gamma 1$ , mientras que la cadena ligera  $\lambda$  es de origen murino.<sup>132</sup>



**Figura 29. Hapteno 2E2** (Paula, S. *et al*, 2004)<sup>130</sup>

Estudios en ratones demuestran que este anticuerpo monoclonal quimérico murino-humano limita la distribución plasmática de la cocaína disminuyendo, por tanto, los niveles de droga que llegan al cerebro, sin tener un efecto significativo en su metabolismo o en su tasa de eliminación.<sup>133</sup> 2E2 presenta una alta especificidad por la cocaína y una afinidad por la misma de aproximadamente 4nM.<sup>130</sup>

## 6. DISCUSIÓN

La cocaína es la segunda droga ilícita más citada por pacientes en rehabilitación, donde los índices de retención son bajos y las tasas de recaída entre usuarios son generalmente altas<sup>134</sup>; debido a esto es necesario desarrollar terapias efectivas para su tratamiento.

A la fecha ningún fármaco ha sido aprobado como tratamiento específico para la adicción a cocaína.<sup>49,135</sup> Las investigaciones actuales se centran en el desarrollo de medicamentos que ayuden a aliviar el fuerte deseo por la droga, así como de fármacos que contrarresten los factores que, como el estrés, desencadenan su consumo.<sup>49</sup>

Las farmacoterapias convencionales con moléculas pequeñas, agonistas y antagonistas de los receptores, actúan en el cerebro y en muchos de los mismos sitios de acción de la droga, por lo que invariablemente producen una amplia gama de reacciones adversas incluyendo una posible adicción al tratamiento.<sup>1,136</sup> Además, los estudios con este tipo de agentes se enfocan en aliviar los síntomas iniciales de la abstinencia, más que en prevenir la recaída en el consumo de la droga;<sup>72</sup> sin embargo, este objetivo terapéutico no se ha logrado alcanzar, pues ninguno de los fármacos ensayados ha mostrado una eficacia consistente en el tratamiento de los desórdenes provocados por el consumo de cocaína.<sup>137,138,139,140,141</sup>

La alternativa inmunológica, en cambio, se basa en el bloqueo de los efectos de la droga periféricamente antes de que pueda actuar sobre el SNC, es decir, los anticuerpos actúan como antagonistas farmacocinéticos. La utilidad terapéutica de las vacunas se ve incrementada por el hecho de que los anticuerpos no tienen ningún efecto psicoactivo directo y, por tanto, no poseen propiedades de reforzamiento por sí mismos.<sup>136</sup> Un beneficio adicional que posee este tipo de tratamiento se relaciona con la capacidad de los anticuerpos para reconocer el cocaetileno, lo que sugiere que esta aproximación terapéutica no sólo es capaz de bloquear los efectos de la cocaína, sino que también puede reducir las reacciones tóxicas producidas por la combinación de cocaína y alcohol.<sup>142</sup>

La eficacia de las terapias inmunológicas se basa en su mecanismo de acción. Después de la vacunación, los anticuerpos se unen a una fracción de la dosis de cocaína consumida y previenen su entrada al cerebro. Esta unión fraccionada es suficiente para disminuir el

gradiente de droga circulante, lo que se traduce en una disminución de la tasa de entrada de ésta al cerebro, retrasando también el inicio de los efectos placenteros.<sup>1</sup>

Las estrategias de inmunización activa han sido enfocadas hacia la prevención de recaídas en sujetos en proceso de desintoxicación, mientras que los programas de inmunidad pasiva con anticuerpos monoclonales ofrecen la posibilidad adicional de ser empleados en el rescate de individuos después de una sobredosis o intoxicación aguda.<sup>1,136</sup> Las inmunoterapias activa y pasiva presentan ventajas y desventajas individuales y en común:

### *Ventajas:*

- a) La inmunización activa repetida estimula la producción de anticuerpos circulantes antidroga y, al mismo tiempo, los mecanismos de memoria inmunológica que permiten una respuesta inmune más rápida tras la aplicación de inyecciones de refuerzo.<sup>1,136</sup>
- b) La protección de los anticuerpos monoclonales es inmediata después de su administración, ventaja por la cual puede emplearse durante casos de intoxicación aguda.<sup>1</sup>
- c) Las propiedades de reproducibilidad molecular, especificidad refinada y la habilidad de producir cantidades virtualmente ilimitadas de anticuerpos puros son ventajas extremadamente importantes de los anticuerpos monoclonales. Además, en planes de inmunización pasiva se pueden administrar dosis más altas y frecuentes durante puntos críticos, como cuando los síntomas de abstinencia son mayores o en periodos estresantes que puedan aumentar el riesgo de recaída.<sup>143</sup>

### *Desventajas:*

- a) La vacunación activa presenta inconvenientes individuales, entre ellos, el largo periodo necesario para la generación de niveles terapéuticamente útiles aunado a la variabilidad individual en la cantidad de anticuerpos producidos.<sup>136</sup>

- b)** La inmunización activa no es viable en individuos con deficiencias inmunitarias, como pacientes con SIDA, debido a que estos sujetos no son capaces de lograr títulos de anticuerpo efectivos.<sup>136</sup>
- c)** La inmunización pasiva con anticuerpos monoclonales presenta como principal desventaja las altas dosis requeridas y el alto costo de producirlas.<sup>136,143</sup>
- d)** Ambas estrategias producen cierto grado de reacciones alérgicas en el sitio de aplicación de la vacuna en la mayoría de los pacientes se manifiestan como inflamación y dolor. Además, es posible sobrepasar los efectos de ambas terapias al consumir altas dosis de droga. Lo anterior es más probable en el caso de la inmunización activa, donde el título de anticuerpos suele ser menor al alcanzado con anticuerpos monoclonales.<sup>136</sup>
- e)** Ambos tipos de inmunoterapia requerirán administraciones repetidas debido a la pérdida de anticuerpos y al largo periodo requerido para tratar el abuso de drogas (2 o más años). La frecuencia de aplicación de los refuerzos en técnicas de inmunización activa aún no se ha determinado, pero se estima que serán al menos en un intervalo de 3 a 6 meses después de la primera dosis. Con los anticuerpos monoclonales, la frecuencia de dosificación probablemente dependerá de los principios fundamentales de la farmacocinética clínica, la cual sugiere la dosificación cada vida media para mantener los efectos. Anticuerpos monoclonales actuales tienen vidas medias de hasta 28 días, por lo que la administración de los refuerzos sería cada 3 ó 4 semanas.<sup>136</sup>

En situaciones particulares, una combinación de vacunación activa y terapia con anticuerpos monoclonales podría ser administrada. Esta estrategia aprovecha las ventajas de ambas terapias, es decir, la protección a largo plazo proporcionada después de la vacunación y la eficacia inmediata de la terapia con anticuerpos monoclonales, los cuales podrían administrarse repetidamente para mantener niveles estables de protección en el caso de alguna recaída o en pacientes que no responden con títulos de anticuerpo suficientes a la inmunización activa.<sup>136</sup> Sin embargo, actualmente esta aproximación no sería económicamente accesible.<sup>1</sup>

Las técnicas inmunológicas presentadas para el tratamiento de la adicción a la cocaína pueden extenderse para tratar otras sustancias de abuso. La inmunización activa con vacunas de conjugados droga-proteína acarreadora se ha evaluado para el tratamiento de la adicción a heroína,<sup>144</sup> metanfetamina<sup>145</sup> y nicotina en modelos animales, con 3 vacunas para ésta última en estudios clínicos fase I y fase II.<sup>146,147,148</sup> Así mismo, estrategias de inmunización pasiva con anticuerpos monoclonales de alta afinidad se han ensayado en modelos animales preclínicos para metanfetamina,<sup>149</sup> nicotina<sup>150</sup> y fenciclidina (PCP).<sup>151</sup>

## **7. CONCLUSIONES**

El abuso en el consumo de cocaína es un problema grave en nuestro país. La falta de terapias eficaces para tratar la adicción ha hecho evidente la necesidad de desarrollar nuevas opciones de tratamiento, ya que los índices de recaídas entre los adictos en procesos de desintoxicación son relativamente altos. Dentro de las terapias exploradas experimentalmente las vacunas presentan cuatro ventajas fundamentales: son seguras y muestran baja reactividad cruzada; requieren sólo de algunas administraciones mensuales, lo que mejora la aceptación por el paciente; sus efectos presentan una duración relativamente larga y además, su mecanismo de acción las convierte en buenos candidatos para tratamientos en combinación con otras farmacoterapias, como medicamentos encargados de suprimir la conducta de búsqueda, maximizando así la eficacia.

El desarrollo preclínico de vacunas con anticuerpos monoclonales esta progresando rápidamente y hay resultados prometedores de las pruebas clínicas de la vacunación activa con TA-CD, la cual ha mostrado pocos efectos adversos, producción de anticuerpos razonable y tendencias clínicas positivas.

Los datos aquí presentados son una evidencia de que una vacuna contra cocaína sería una herramienta efectiva para el tratamiento de la adicción a cocaína, aunque todavía falta evaluar si los ensayos clínicos demuestran la seguridad y eficacia buscada para tratarla por este método. No obstante, la adicción es un fenómeno complejo y es probable que sólo sea superada empleando una combinación de estrategias terapéuticas, tanto farmacológicas como psicosociales.

## 8. REFERENCIAS

- <sup>1</sup> Moreno, A.; Janda, K.: Immunopharmacotherapy: Vaccination Strategies as a Treatment for Drug Abuse and Dependence. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **2009**, 92, 199-205.
- <sup>2</sup> *Encuesta Nacional de Adicciones 2008*, Primera Edición, México, Instituto Nacional de Salud Pública, **2009**.
- <sup>3</sup> *Encuesta Nacional de Adicciones 2008 Resultados por entidad Federativa: Distrito Federal*, Primera Edición, México, Instituto Nacional de Salud Pública, **2009**.
- <sup>4</sup> Carrera, M.; Meijler, M.; Janda, K.: Cocaine Pharmacology and Current Pharmacotherapies for its Abuse. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2004**, 12, 5019–5030.
- <sup>5</sup> Solé, J.: Tratamiento del consumo de cocaína: Integrando Psicoterapia y Farmacoterapia. *Adicciones* **2001**, 13 (2), 209-225.
- <sup>6</sup> Pascual, F.: Aproximación histórica a la cocaína: De la coca a la cocaína, *Adicciones* **2001**, 13 (2), 7-22.
- <sup>7</sup> Grinspoon, L.; Bakalar, J.: Coca and cocaine as medicines: An historical review, *Journal of Ethnopharmacology* **1981**, 3(2-3), 149-159.
- <sup>8</sup> Lizasoain, I. y Moro, M. A. “Cocaína. Farmacología e Intoxicación Aguda”, Lorenzo P. et al Drogodependencias, España, Ed. Panamericana, **1998**.
- <sup>9</sup> García, L. C. “*Qué son las Drogas: Estimulantes*”, México, Ed. Árbol, **1990**
- <sup>10</sup> Torres de Galvis y Montoya, B. I. “*Estudio de la Salud Mental y Consumo de Sustancias Psicoactivas*”, Tomo II, Colombia, Investigación y Concepto, **1991**.
- <sup>11</sup> World Health Organization, *Programme on Substance Abuse*, United Nations Interregional Crime and Justice Research Institute, Initiative on Cocaine Key Informant Study International Report, **1995**.
- <sup>12</sup> Gómez, O. L., “*Historia de la Droga*”, 3ª Edición, Colombia, Investigación y Concepto, **1991**.
- <sup>13</sup> Tapia, R. “*Las Adicciones: Dimensión, Impacto y Perspectivas*”, 2ª Edición, México, Manual Moderno, **2001**.
- <sup>14</sup> Genaro, A., “*Remington Farmacia*”, Tomo II, 19ª Edición, México, Ed. Médica Panamericana, **1998**, 1745-1746.
- <sup>15</sup> Bouknight, L.; Bouknight, R. Cocaine: A particularly Addictive Drug. *Postgraduate Medicine* **1988**, 83(4), 115-131.
- <sup>16</sup> *Drogas de las que se Abusa*, US Department of Justice, Drug Enforcement Administration, EUA, 1986.
- <sup>17</sup> Redda, K.; Walker, C.; Barnett, G.: Cocaine, Marijuana, Designer Drugs: Chemistry, Pharmacology and Behavior. *CRC Press*, **1989**.
- <sup>18</sup> Shannon, M. Clinical Toxicity of Cocaine Adulterants. *Annals of Emergency Medicine* **1988**, 17, 1243-1247.

- <sup>19</sup> Shesser, R.; Jotte R.; Olshaker J.: The Contribution of Impurities to the Acute Morbidity of Illegal Drug Use. *American Journal of Emergency Medicine* **1991**, 9, 336-342.
- <sup>20</sup> McKinney, C.; Postiglione, K.; Herold, D.: Benzocaine-Adulterated Street Cocaine in Association with Methemoglobinemia. *Clinical Chemistry* **1992**, 38, 596-597.
- <sup>21</sup> Prasad, R.; Kodali, V.; Kuraijam, G. *et al*: Acute Confusion and Blindness from Quinine toxicity. *European Journal of Emergency Medicine* **2003**, 10, 353-356.
- <sup>22</sup> Wood, D.; Webster, E.; Martinez, D. *et al*: Case Report: Survival after Deliberate Strychnine Self-poisoning, with Toxicokinetic Data. *Critical Care* **2002**, 6, 456-459.
- <sup>23</sup> O'Callaghan, W.; Joyce, N; Counihan, H.: Unusual Strychnine Poisoning and its Treatment: Report of Eight Cases. *British Medical Journal* **1982**, 285, 478.
- <sup>24</sup> Goldstein, R.; DesLauriers, C; Burda, A., *et al*: Cocaine: History, Social Implications, and Toxicity: a Review, *Seminars in Diagnostic Pathology* **2009**, 26, 10-17.
- <sup>25</sup> Taylor, W.; Gold, M.: Pharmacologic Approaches to the Treatment of Cocaine Dependence. *Western Journal of Medicine* **1990**, 152, 573-577.
- <sup>26</sup> Jeffcoat, A.; Perez-Reyes, M.; Hill, J. *et al*: Cocaine Disposition in Humans after Intravenous Injection, Nasal Insufflation (Snorting), or Smoking. *Drug Metabolism and Disposition* **1989**, 17, 153-159.
- <sup>27</sup> Jatlow, P.: Cocaine: Analysis, Pharmacokinetics, and Metabolic Disposition. *The Yale Journal of Biology and Medicine* **1988**, 61, 105-113.
- <sup>28</sup> Johanson, C.; Fischman, M.: The pharmacology of Cocaine Related to its Abuse, *Pharmacology Reviews* **1989**, 41, 3-52.
- <sup>29</sup> Isenschmid, D.; Fischman, M.; Foltin, R.; Caplan, Y.: Concentration of Cocaine and Metabolites in Plasma of Humans Following Intravenous Administration and Smoking of Cocaine. *Journal of Analytical Toxicology* **1992**, 5, 311-314.
- <sup>30</sup> Maurer, H.; Sauer, C.; Theobald, D.: Toxicokinetics of Drugs of Abuse: Current Knowledge of the Isoenzymes Involved in the Human Metabolism of Tetrahydrocannabinol, Cocaine, Heroin, Morphine, and Codeine. *Drug Monitoring* **2006**, 28, 447-453.
- <sup>31</sup> Van Dyke, C.; Jatlow, P.; Ungerer, J.; Barash, P.; Byck, R.: Oral Cocaine: Plasma Concentrations and Central Effects. *Science* **1978**, 200 (4338), 211-213.
- <sup>32</sup> Ellenhorn, M., *Ellenhorn's Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, 2<sup>nd</sup> Edition, USA, Williams & Wilkins, **1997**, 356-380.
- <sup>33</sup> Flomenbaum, N.; Goldfrank, L.; Hoffman, R. *et al*, "Goldfrank's Toxicologic Emergencies", 8<sup>th</sup> Edition, USA, McGraw-Hill, **2006**, 1133-1146.

- <sup>34</sup> Leikin, J. and Paloucek, F., *Poisoning and Toxicology Handbook*, 4<sup>th</sup> Edition, USA, Informa Health Care: CRC Press, **2008**, 13.
- <sup>35</sup> Kolbrich, E.; Barnes, A.; Gorelick, D. *et al*: Major and Minor Metabolites of Cocaine in Human Plasma Following Controlled Subcutaneous Cocaine Administration. *Journal of Analytical Toxicology* **2006**, 30, 501-511.
- <sup>36</sup> Schenker, S.; Yang, Y.; Johnson, R. *et al*: The Transfer of Cocaine and its Metabolites across the Term Human Placenta. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* **1993**, 53, 329-339.
- <sup>37</sup> Brzezinski, M.; Spink, B.; Dean, R.; Berkman, C.; Cashman, J. and Bosron, W.: Human Liver Carboxylesterase hCE-1: Binding Specificity for Cocaine, Heroin and their Metabolites and Analogs. *Drug Metabolism and Disposition* **1997**, 25 (9), 1089-1096.
- <sup>38</sup> Huestis, M.; Darwin, W.; Shimomura, E. *et al*: Cocaine and Metabolites: Urinary Excretion after Controlled Smoked Administration. *Journal of Analytical Toxicology* **2007**, 21, 462-468.
- <sup>39</sup> Cone, E.; Tsadic, A.; Oyler, H., Darwin, W.: Cocaine Metabolism and Urinary Excretion after Different Routes of Administration. *Proceedings of the Fifth International Congress of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology* **1998**, 20, 556-560.
- <sup>40</sup> Rafla, F. and Epstein, R.: Identification of Cocaine and its Metabolites in Human Urine in the Presence of Ethyl Alcohol. *Journal of Analytical Toxicology* **1979**, 3(2), 59-63.
- <sup>41</sup> Boyer, C. and Petersen, D.: Enzymatic Basis for the Transesterification of Cocaine in the Presence of Ethanol: Evidence for the Participation of Microsomal Carboxylesterases. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **1992**, 260 (3), 939-946.
- <sup>42</sup> Bourland, J.; Martin, D. and Mayersohn, M.: In vitro Transesterification of Cocaethylene (ethylcocaine) in the Presence of Ethanol. *Drug Metabolism and Disposition* **1998**, 26 (3), 203-206.
- <sup>43</sup> Laizure, S.; Mandrell, T.; Gades, N.; Parker, R.: Cocaethylene Metabolism and Interaction with Cocaine and Ethanol: Role of Carboxylesterases. *Drug Metabolism and Disposition* **2003**, 31 (1), 16-20.
- <sup>44</sup> Dean, R.; Harper, E.; Dumauval, N.; Stoeckel, D. and Bosron, W.: Effects of Ethanol on Cocaine Metabolism: Formation of Cocaethylene and Norcocaethylene. *Toxicology and Applied Pharmacology* **1992**, 117 (1), 1-8.
- <sup>45</sup> Cone, E.: Recent Discoveries in Pharmacokinetics of Drugs of Abuse. *Toxicology Letters* **1998**, 102-103.
- <sup>46</sup> Kalant, H. y Roschlau, W.: "*Principios de Farmacología Médica*", 6<sup>ª</sup> Edición, México, Oxford University Press, **2002**; 177-178, 371-373.
- <sup>47</sup> Bear, M.; Conors, B.; Paradiso, M.: "*Neuroscience: Exploring the Brain*", 3rd Edition, USA, Lippincott Williams & Wilkins, 505-507.
- <sup>48</sup> Bielman, B. *et al*: "*Lines Across Europe: Nature and Extent of Cocaine Use*", Swets & Zeitlinger, **1993**

- <sup>49</sup> National Institute on Drug Abuse (NIDA), Cocaine, *InfoFacts* **2009**
- <sup>50</sup> Goodman, F. y Gilman, H. “*Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*” 9ª Edición, México, Mc-GrawHill, **1996**
- <sup>51</sup> Souza y Machorro, M. *et al* “*Farmacoterapia de los Síntomas de Intoxicación y Abstinencia por Psicotrópicos*”, México, Centros de Investigación Juvenil, **1997**.
- <sup>52</sup> Kauer, J.; Malenka, R.: Synaptic Plasticity and Addiciton. *Nature Reviews Neuroscience* **2007**, 844-858.
- <sup>53</sup> National Institute on Drug Abuse (NIDA), Drugs, Brain, and Behavior: The Science of Addiction, **2008**.
- <sup>54</sup> Gawin, F.; Kleber, H.: Evolving Conceptualizations of Cocaine Dependence. *Yale Journal of Biology and Medicine* **1988**, 61, 123.
- <sup>55</sup> Bear, M.; Conors, B.; Paradiso, M.: “*Neuroscience: Exploring the Brain*”, 3rd Edition, USA, Lippincott Williams & Wilkins, **2001**, 505-507
- <sup>56</sup> National Institute on Drug Abuse (NIDA), The Brain’s Drug Reward System, *NIDA Notes* **1996**, 11 (4)
- <sup>57</sup> Brailoswky, S. “*Las Sustancias de los Sueños: Neuropsicofarmacología*”, 2ª Edición, México, Fondo de Cultura Económica, **1998**, 355.
- <sup>58</sup> Caballero, Luis. “*Adicción a Cocaína: Neurobiología, Clínica, Diagnóstico y Tratamiento*”, España; PNSD, **2005**, 236.
- <sup>59</sup> Carrera, M.; Trigo, J.; Wirsching, P.; Roberts, A.; Janda, K.: Evaluation of the anticocaine monoclonal antibody GNC92H2 as an immunotherapy for cocaine overdose, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **2005**, 81, 709–714.
- <sup>60</sup> Balcells, M.: Complicaciones Orgánicas de la Cocaína, *Adicciones* **2001**, 13 (2), 167-177.
- <sup>61</sup> National Institute on Drug Abuse (NIDA): Cocaine: Abuse and Addiction, *Research Report Series* **2009**.
- <sup>62</sup> Wassberg, J.; Ellenhorn, M.; Landers, S. *et al*: The Emergency Management of Acute Cocaine Toxicity. *Advanced Emergency Nursing Journal* **1993**, 15 (3), 27-40.
- <sup>63</sup> Mittleman, M.; Mintzwer, D; Maclure, M. *et al*: Triggering of myocardial infarction by cocaine. *Circulation* **1999**, 99 (21), 2737-2741
- <sup>64</sup> Weber, J.; Chudnofsky, C.; Boczar, M. *et al*: Cocaine-associated chest pain: how common is myocardial infarction? *Academic Emergency Medicine* **2000**, 7 (8), 873-877.

- <sup>65</sup> Hollander, J.; Henry, T.: Evaluation and Management of the Patient who has Cocaine-associated Chest Pain. *Cardiology Clinics* **2006**, 24 (1), 103-104.
- <sup>66</sup> Plessinger, M. and Woods, J.: Cocaine in Pregnancy: Recent Data on Maternal and Fetal Risks, *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America* **1998**, 25 (1), 99-118
- <sup>67</sup> Wagner, C.; Katikaneni, L.; Cox, T. and Ryan, R.: The Impact of Prenatal Drug Exposure on the Neonate, *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America* **1998**, 25 (1), 169-194.
- <sup>68</sup> Gawin, F.: Cocaine addiction: Psychology and neurophysiology. *Science* **1991**, 251, 1580.
- <sup>69</sup> Warner, E.; Kosten, T.; O'Connor, P.: Phramacotherapy for Opiod and Cocaine Abuse, *Medical Clinics of North America* **1997**, 81 (4), 909-925.
- <sup>70</sup> Korenman, S. and Barchas, J., "*Biological Basis of Substance Abuse*", USA, Oxford University Press, **1993**, 425-439.
- <sup>71</sup> Kreek, J.: Goals and Rationale for Pharmacotherapeutic Approach in Treating Cocaine Dependence: Insights From Basic and Clinical Research, *NIDA Research Monograph Series* **1997**, 175, 5.
- <sup>72</sup> Galanter, M. and Kleber, H. "*Textbook of Substance Abuse Treatment*", 4th Edition, USA, The American Psychiatric Publishing Inc., **2008**, 157-168.
- <sup>73</sup> Smith, M.; Hoeping, A.; Johnson, K.; Trzcinska, M. and Kozikowski, A.: Dopaminergic Agents for the Treatment of Cocaine Abuse. *Drug Discovery Today* **1999**, 4(7), 322-332.
- <sup>74</sup> Meyer, R.: New pharmacotherapies for cocaine dependence revisited. *Archives of General Psychiatry* **1992**, 49 (11), 900-9004.
- <sup>75</sup> San Molina, L.; Arranz, B.: Aproximación Terapéutica de la Dependencia de Cocaína, *Adicciones* **2001**, 13 (2),191-208.
- <sup>76</sup> McCance-Katz, E.; Kosten, T.; Jatlow, P.: Disulfiram Effects on Acute Cocaine Administration, *Drug and Alcohol Dependence* **1998**, 52, 27-39.
- <sup>77</sup> Baker, J.; Jatlowb, P.; McCance-Katz, E.: Disulfiram Effects on Responses to Intravenous Cocaine Administration, *Drug and Alcohol Dependence* **2007**, 87, 202-209.
- <sup>78</sup> Kosten, T.; Clinical and Research Perspectives on Cocaine Abuse: The Pharmacotherapy of Cocaine Abuse, *NIDA Research Monograph Series* **1992**, 135, 46-55.

- <sup>79</sup> Gawin, F.; Ellinwood, E.: Cocaine and other stimulants: Actions, Abuse, and Treatment, *New England Journal of Medicine* **1988**, 318, 1173.
- <sup>80</sup> Abbas, A. y Lichtman, A. "*Inmunología Celular y Molecular*", 5ª Edición, México, Elsevier, **2004**, 1-15; 41-63.
- <sup>81</sup> Alberts, B. *et al*, "*Essential Cell Biology*", 2<sup>nd</sup> Edition, USA, Garland Science, **2004**, 144-145.
- <sup>82</sup> Janeway, C. *et al*. "*Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*", 5<sup>th</sup> Edition, USA, Garland Publishing, **2001**.
- <sup>83</sup> Kohler, G. and Milstein, C.: Continuous Cultures of Fused Cells Secreting Antibody of Predefined Specificity, *Nature* **1975**, 256, 495–497.
- <sup>84</sup> Goldsby, R.; Kindt, T; Osborne, B: "*Kuby Immunology*", 4th Edition, W. H. Freeman and Company, **2000**, 154.
- <sup>85</sup> Sánchez-Pérez, M. "*Inmunología Aplicada y Técnicas Inmunológicas*", México, Editorial Síntesis, **1998**, 289-307
- <sup>86</sup> Hockfield, S. *et al*. "*Selected Methods for Antibody and Nucleic Acid Probe: Molecular Probes of the Nervous System*", Vol. 1, USA, Cold Spring Harbor Lab. Press, **1993**; 21-28, 77-85.
- <sup>87</sup> Alberts, B.; *et al* "*Molecular Biology of the Cell*", USA, Garland Science, **2002**.
- <sup>88</sup> Machado, N.; Téllez, G.; Castaño, J.: Anticuerpos Monoclonales: Desarrollo Físico y Perspectivas Terapéuticas, *Asociación Colombiana de Infectología* **2006**, 10 (3), 186-197.
- <sup>89</sup> Clark, M.; Cobbold, S.; Hale, G. and Waldmann, H.: Advantages of Rat Monoclonal Antibodies. *Immunology Today* **1983**, 4 (4), 100-101.
- <sup>90</sup> Schroff, R. Foon, K.; Beatty, S.; Oldham, R. and Morgan, A.: Human Anti-murine Responses in Patients Receiving Monoclonal Antibody Therapy. *Cancer Research* **1985**, 45 (2), 879-885.
- <sup>91</sup> Shawler, D.; Bartholomew, R.; Smith, L. and Dillman, R.: Human Immune Responses to Multiple Injections of Murine Monoclonal Immunoglobulins. *The Journal of Immunology* **1985**, 135 (2), 1530-1535.
- <sup>92</sup> Boulianne, G; Hozumi, N. and Shulman, M.: Production of Functional Chimaeric mouse/human Antibody. *Nature* **1984**, 312 (5995), 643-646.
- <sup>93</sup> Morrison, S.; Johnson M., Herzenberg, L. and Oi, V.: Chimeric Human Antibody Molecules: Mouse Antigen Binding Domains with Human Constant Region Domains. *Proceedings of the National Academy of Science* **1984**, 81 (21), 6851-6855.

- <sup>94</sup> Riechmann, L.; Clark, M.; Waldmann, H. and Winter, G.: Reshaping Human Antibodies for Therapy. *Nature* **1988**, 332, 323-327.
- <sup>95</sup> Jones, P.; Dear, P.; Foote, J.; Neuberger, M. and Winter, G.: Replacing the Complementarity-determining Regions in a Human Antibody with those from a Mouse. *Nature* **1986**, 321, 522-525.
- <sup>96</sup> Winter, G.; Griffiths, A.; Hawkins, R. and Hoogenboom, H.: Making Antibodies by Phage Display Technology. *Annual Review of Immunology*. **1994**, 12, 433-435.
- <sup>97</sup> Bruggemann, M.; Spicer, C.; Buluwela, L.; Rosewell, I. *et al*: Human Antibody Expression in Transgenic Mice: Expression from 100kb of the Human IgH locus. *European Journal of Immunology* **1991**, 21 (5), 1323-1326.
- <sup>98</sup> Mendez, M.J. *et al*. Functional Transplant of Megabase Human Immunoglobulin loci Recapitulates Human Antibody Response in Mice. *Nature Genetics* **1997**, 15, 146-156.
- <sup>99</sup> Clark, M.: Antibody Humanization: A case of the 'Emperor's new clothes'? *Immunology Today* **2000**, 21, 397-402.
- <sup>100</sup> Reff, M.; Hariharan, K. and Braslawsky, G.: Future of Monoclonal Antibodies in the Treatment of Hematologic Malignancies, *Cancer Control H. Lee Moffitt Cancer Center* **2002**, 9(2), 152-166
- <sup>101</sup> Bona, C. and Bonilla, F. "*Textbook of Immunology*", 2nd Edition, Amsterdam, Harwood Academic Publisher; **1990**.
- <sup>102</sup> Martell, B.; Mitchell, E.; Poling, J.; Gonsai, K. and Kosten, T.: Vaccine Pharmacotherapy for the Treatment of Cocaine Dependence. *Biological Psychiatry* **2005**, 58, 158-164.
- <sup>103</sup> Orson, F.; Kinsey, B.; Singh, R.; Wu, Y. and Kosten, T.: Vaccines for Cocaine Abuse, *Human Vaccines* **2009**, 5 (4), 194-199.
- <sup>104</sup> Powell, M. y Newman, M. "*Vaccine Design: The Subunit and Adjuvant Approach*", USA, Plenum Press, **1995**, 673-694.
- <sup>105</sup> Carrera, M.; Ashley, J.; Parsons, L.; Wirsching, P.; Koob, G.; Janda, K.: Suppression of Psychoactive Effects of Cocaine by Active Immunization, *Nature* **1995**, 378, 727-730.
- <sup>106</sup> Bagasral, O.; Forman, L. J.; Howedy, A.; Whittle, P.: A Potential Vaccine for Cocaine Abuse Prophylaxis, *Immunopharmacology* **1992**, 23 (3), 173-179.
- <sup>107</sup> Fox, B.S. *et al*: Efficacy of a Therapeutic Cocaine Vaccine in Rodent Models. *Nature Medicine* **1996**, 2, 1129-1132.

- <sup>108</sup> Carrera, M.; Ashley, J.; Zhou, B.; Wirsching, P.; Koob, G.; Janda, K.: Cocaine Vaccines: Antibody Protection Against Relapse in a Rat Model, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2000**, 97, 6202-6206.
- <sup>109</sup> Carrera, M.; Ashley, J.; Wirsching, P.; Koob, G.; Janda, K.: A Second-Generation Vaccine Protects against the Psychoactive Effects of Cocaine, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2001**, 98, 1988-1992.
- <sup>110</sup> Ino, A.; Dickerson, T.; Janda, K.: Positional Linker Effects in Haptens for Cocaine Immunopharmacotherapy, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, 17, 4280-4283.
- <sup>111</sup> Kantak, K.; Collins, S.; Lipman, E. *et al*: Evaluation of Anti-cocaine Antibodies and a Cocaine Vaccine in a Rat Self-administration Model, *Journal of Psychopharmacology* **2000**, 148, 251-262.
- <sup>112</sup> Jertborn, M.; Svennerholm, A.; Holmgren, J.: Safety and Immunogenicity of an Oral Recombinant cholera B subunit-whole-cell Vaccine in Swedish Volunteers. *Vaccine* **1992**, 10(2), 130-132.
- <sup>113</sup> Jertborn, M.; Svennerholm, A.; Holmgren, J.: Immunological Memory after Immunization with Oral cholera B subunit-whole-cell Vaccine in Swedish Volunteers. *Vaccine* **1994**, 12, 1078-1082.
- <sup>114</sup> Holmgren, J.; Czerkinsky, C.; Lycke, N.; Svennerholm, A.: Strategies for the Induction of Immune Responses at Mucosal Surfaces Making Use of cholera toxin B subunit as Immunogen, Carrier, and Adjuvant. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **1994**, 50, 42-54.
- <sup>115</sup> Kosten, T.; Rosen, M.; Bond, J. *et al*: Human Therapeutic Cocaine Vaccine: Safety and Immunogenicity, *Vaccine* **2002**, 20, 1196-1204.
- <sup>116</sup> Celtic Pharma. Celtic Pharma reports preliminary results of phase 2 clinical trials with TA-CD, cocaine addiction vaccine, **2006**. de [http://www.celticpharma.com/news/pr/release\\_062106.pdf](http://www.celticpharma.com/news/pr/release_062106.pdf).
- <sup>117</sup> Martell, B.; Orson, F.; Poling, J.; Mitchell, E.; Rossen, R.; Gardner, T.; Kosten, T.: Cocaine Vaccine for the Treatment of Cocaine Dependence in Methadone-Maintained Patients A Randomized, Double-blind, Placebo-Controlled Efficacy Trial; *Archives of General Psychiatry* **2009**, 66(10), 116-1123.
- <sup>118</sup> Haney, M.; Gunderson, E.; Jiang, H.; Collins, E.; Foltin, R.: Cocaine-specific Antibodies Blunt the Subjective Effects of Smoked Cocaine in Humans, *Biological Psychiatry* **2010**, 67(1), 59-65.
- <sup>119</sup> National Institute on Drug Abuse (NIDA), Multisite Controlled Trial of Cocaine Vaccine TA-CD, Study NCT00969878, **2009** de <http://clinicaltrials.gov>
- <sup>120</sup> Carrera, M.; Trigo, J.; Wirsching, P.; Roberts, A.; Janda, K.: Evaluation of the Anticocaine Monoclonal antibody GNC92H2 as an Immunotherapy for Cocaine Overdose, *Pharmacology Biochemistry & Behavior* **2005**, 81, 709-714.

- <sup>121</sup> Redwan, E.; Larsen, N.; Zhou, B.; Wirsching, P.; Janda, K.; Wilson, I.: Expression and Characterization of a Humanized Cocaine-binding Antibody, *Biotechnology and Bioengineering* **2003**, 82 (5), 612-618.
- <sup>122</sup> Matsushita, M.; Hoffman, T.; Ashley, J.; Zhou, B.; Wirsching, P.; Janda, K.: Cocaine Catalytic Antibodies: the Primary Importance of Linker Effects, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **2001**, 2, 87-90.
- <sup>123</sup> Isomura, S.; Hoffman, T.; Wirsching, P.; Janda, K.: Synthesis, Properties, and Reactivity of Cocaine Benzoylthio Ester Possessing the Cocaine Absolute Configuration, *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124 (14), 3661-3668.
- <sup>124</sup> Landry, D.; Zhao, K.; Yang, G. *et al*: Antibody-catalyzed Degradation of Cocaine. *Science* **1993**; 259, 1899-1901.
- <sup>125</sup> Yang, G.; Chun, J.; Arakawa-Uramoto, H. *et al*: Anti-cocaine Catalytic Antibodies: A synthetic Approach to Improve Antibody Diversity, *Journal of American Chemistry Society* **1996**, 118, 5881-5890.
- <sup>126</sup> Mets, B.; Almonte, R.; Woods, J.; Landry, D. *et al* A catalytic Antibody against Cocaine Prevents Cocaine's Reinforcing and Toxic Effects in Rats, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1998**, 95, 10176-10181.
- <sup>127</sup> Baird, T.; Deng, S.; Landry, D. *et al*: Natural and Artificial Enzymes Against Cocaine: Monoclonal Antibody 15A10 and the Reinforcing Effect of Cocaine in Rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2000**, 295, 1127-1134.
- <sup>128</sup> Matsushita, M.; Hoffman, T.; Ashley, J.; Zhou, B.; Wirsching, P.; Janda, K.: Cocaine Catalytic Antibodies: The primary Importance of Linker Effects, *Bioorganic & Medical Chemistry Letters* **2001**, 11, 87-90.
- <sup>129</sup> Abramowicz, D.; Crusiaux, A.; Niaudet, P.; Kreis, H.; Chatenoud, L. and Goldman, M.: The IgE Humoral Response in OKT3-treated Patients: Incidence and Fine Specificity. *Transplantation* **1996**, 61, 577-581.
- <sup>130</sup> Paula, S.; Tabet, M.; Farr, C.; Norman, A. and Ball, W.: Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship Modeling of Cocaine Binding by a Novel Human Monoclonal Antibody. *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**, 47(1), 133-142.
- <sup>131</sup> Lonberg, N.: Human Antibodies from Transgenic Animals. *Nature Biotechnology* **2005**, 23 (9), 1117-1125.
- <sup>132</sup> Norman, A.; Tabet, M.; Norman, M.; Buesing, W.; Pesce, A. and Ball, W.: A Chimeric Human/Murine Anticocaine Monoclonal Antibody Inhibits the Distribution of Cocaine to the Brain in Mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2007**, 320 (1), 145-153.

- <sup>133</sup> Norman, A.; Norman, M.; Buesing, W.; Tabet, M.; Tsibulsky, V. and Ball, W.: A Human Anti-cocaine Monoclonal Antibody Antagonizes the Cocaine-induced Reinstatement of Self-administration in Rats, *The FASEB Journal* **2008**, 22, 713-716.
- <sup>134</sup> Pizzoli, L. "Cocaine and Heroin Abuse Research", UK, NOVA Biomedical, **2006**, 1-35.
- <sup>135</sup> European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA): Treatment of Problem Cocaine Use: a Review of the Literature. *Literature Reviews* **2007**.
- <sup>136</sup> Kosten, T. and Owens, M.: Immunotherapy for the Treatment of Drug Abuse, *Pharmacology & Therapeutics* **2005**, 108, 76-85.
- <sup>137</sup> Amato, L.; Minozzi, S.; Pani, P.; Davoli, M.: Antipsychotic Medications for Cocaine Dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2007**, 3, CD006306.
- <sup>138</sup> Castells, X.; Casas, M.; Pérez-Mañá, C.; Roncero, C.; Vidal, X.; Capellà, D.: Efficacy of Psychostimulant Drugs for Cocaine Dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2010**, 2, CD007380.
- <sup>139</sup> Minozzi, S.; Amato, L.; Davoli, M.; Farrell, M.; Lima A., Pani, P., Silva de Lima M., Soares, B., Vecchi, S.: Anticonvulsants for Cocaine Dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2008**, 2, CD006754.
- <sup>140</sup> Soares, B.; Lima, A., Farrell, M., Silva de Lima, M.: Dopamine Agonists for Cocaine Dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2010**, 2, CD003352.
- <sup>141</sup> Silva de Lima, M.; Farrell, M.; Lima, A.; Soares, B.: Antidepressants for Cocaine Dependence. *Cochrane Database of Systematic Reviews* **2010**, 2, CD002950.
- <sup>142</sup> Kantak, K.: Vaccines Against Drugs of Abuse: A Viable Treatment Option? *Drugs* **2003**, 63(4), 341-352.
- <sup>143</sup> Roskos, L.; Davis, C. and Schwab, G.: The Clinical Pharmacology of Therapeutic Monoclonal Antibodies. *Drug Development Research* **2004**, 61, 108-120.
- <sup>144</sup> Anton, B. and Leff, P.: A novel bivalent morphine/heroin vaccine that prevents relapse to heroin addiction in rodents, *Vaccine* **2006**, 24, 3232-3240.
- <sup>145</sup> Byrnes-Blake, K.; Carroll, F.; Abraham, P. and Owens, S.: Generation of Anti-(+)Methamphetamine Antibodies is not Impeded by (+)Methamphetamine Administration During Active Immunization of Rats. *International Immunopharmacology* **2001**, 1, 329-338.
- <sup>146</sup> Hatsukami, D.; Rennard, S.; Jorenby, D. *et al.*: Safety and Immunogenicity of a Nicotine Conjugate Vaccine in Current Smokers. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* **2005**, 78, 456-467.

- <sup>147</sup> St Clair Roberts, J.; Akers, C.; Vanhinsbergh, L. *et al.*: Longitudinal Safety and Immunogenicity Data of TA-NIC, a Novel Nicotine Vaccine. Abstract from the *Society for Reserach on Nicotine and Tobacco Annual Meeting 2003*, Feb 19-22.
- <sup>148</sup> Maurer, P.; Jennings, G.; Willers, J. *et al.*: A Therapeutic Vaccine for Nicotine Dependence: Preclinical Efficacy and Phase I Safety and Immunogenicity. *European Journal of Immunology* **2005**, 35, 2031-2040.
- <sup>149</sup> Byrnes-Blake, K.; Laurenzana, E.; Carroll, F.; Abraham, P.; Gentry, W.; Landes, R. *et al.*: Pharmacodynamic Mechanisms of Monoclonal Antibody-based Antagonism of (+)Methamphetamine in Rats. *European Journal of Pharmacology* **2003**, 461, 119-128.
- <sup>150</sup> Carrera, M.; Ashley, J.; Hoffman, T.; Isomura, S.; Wirsching, P.; Koob, G. *et al.*: Investigations Using Immunization to Attenuate the Psychoactive Effects of Nicotine. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2004**, 12, 563-570.
- <sup>151</sup> Laurenzana, E.; Gunnell, M.; Gentry, W. and Owens, S.: Treatment of Adverse Effects of Excessive Phencyclidine Exposure in Rats with a Minimal Dose of Monoclonal Antibody. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **2003**, 306, 1092-1098.