

# Inmunoprotección activa contra cocaína

Alberto Salazar-Juárez,<sup>1</sup> Susana Barbosa Méndez,<sup>1</sup> Noe Jurado,<sup>1</sup> Alfonso Munguía,<sup>1</sup> Benito Antón<sup>1</sup>

Actualización por temas

## ABSTRACT

### Introduction

The classic pharmacopoeia used to attenuate cocaine dependence has proved a poor therapeutic efficacy. Based on this discouraging clinical and therapeutic panorama, since more than a decade, various researchers have developed new therapeutic strategies against cocaine addiction. These new experimental strategies are based on the structural design and synthesis of therapeutic vaccine formulations against cocaine addiction.

### Objective

To describe the development and therapeutic evaluation of active immunization against cocaine.

### Method

A bibliographical search was made using PubMed, using as descriptors the words "Cocaine" and "Vaccine." 155 articles were obtained which were used for these review 46 items.

### Results

At preclinical level, active vaccination generates high levels of antibodies capable of recognizing with high specificity the cocaine present in the bloodstream, which attenuates the behavioral changes induced by different doses of cocaine.

### Discussion and conclusion

Preclinical and clinical results have reinforced "proof of concept" active therapeutic vaccination to pharmacological control to cocaine use relapse in humans, but gave guidelines to the postulation and justification of synthesizing new models of anti-cocaine vaccines for human use.

This experimental pharmacological strategy of "immunoprotective" nature has proven an effective treatment that significantly reduces drug-seeking behaviors, both at pre-clinical levels in the rodent model as well as in humans.

**Key words:** Addiction, cocaine, active immune-protection, antibodies and pharmacotherapies.

## RESUMEN

### Introducción

La farmacopea clásica, empleada para atenuar la dependencia a ciertas drogas de abuso ilegal, como la cocaína, ha demostrado una pobre eficacia terapéutica. Basado en este desalentador panorama clínico-terapéutico, desde hace más de una década diversos investigadores han desarrollado nuevas estrategias terapéuticas contra la adicción a la cocaína. Estas nuevas estrategias experimentales están basadas en el diseño y la síntesis de formulaciones estructurales de vacunas terapéuticas contra la adicción a la cocaína.

### Objetivo

Realizar una descripción del desarrollo y la validación terapéutica de la inmunización activa contra la cocaína.

### Método

Se realizó una búsqueda bibliográfica con el uso del PubMed, usando como descriptores las palabras "Cocaine" y "Vaccine". Se obtuvieron 155 artículos, de los cuales se usaron 46 para esta revisión.

### Resultados

A nivel preclínico, la vacunación activa genera altos niveles de anticuerpos capaces de reconocer con alta especificidad a la cocaína dentro del torrente sanguíneo, atenuando las alteraciones conductuales inducidas por diversas dosis de cocaína.

### Discusión y conclusión

Los resultados preclínicos y clínicos han reforzado "la prueba de concepto" terapéutica de la vacunación activa para el control farmacológico de la recaída al consumo adictivo de la cocaína en el humano, sin embargo, dieron pauta a la postulación y a la justificación de sintetizar nuevos modelos de uso humano de vacunas anticocaína.

Esta estrategia farmacológica experimental, de naturaleza "inmunoprotectora", ha demostrado ser un tratamiento eficaz al atenuar significativamente las conductas de búsqueda y consumo adictivo a la cocaína, tanto a nivel pre-clínico, en el modelo del roedor, como en el humano.

**Palabras clave:** Adicciones, cocaína, inmuno-protección activa, anticuerpos, terapia farmacológica.

<sup>1</sup> Subdirección de Investigaciones Clínicas. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM).

Correspondencia: Dr. Benito Antón Palma. Subdirección de Investigaciones Clínicas. Laboratorio de Neurobiología Molecular y Neuroquímica de las Adicciones. INPRFM. Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370, México, DF. Tel: (52 55) 4160 - 5093. E-mail: bapags@gmail.com  
Recibido primera versión: 4 de junio de 2014. Segunda versión: 16 de abril de 2015. Aceptado: 27 de agosto de 2015.

## INTRODUCCIÓN

La farmacopea clásica, empleada para atenuar y abolir la dependencia a ciertas drogas de abuso ilegal, como la cocaína, ha demostrado una pobre eficacia terapéutica, tanto a corto como a largo plazo. Basado en este desalentador panorama clínico-terapéutico, desde hace más de una década diversos investigadores han desarrollado nuevas estrategias terapéuticas contra la adicción a las drogas.

Estas nuevas estrategias experimentales están basadas en el diseño y la síntesis de diversas formulaciones estructurales de vacunas terapéuticas,<sup>1-4</sup> las cuales, al ser dosificadas en esquemas de inmunización activa en modelos animales, o inclusive en el humano, inducen la producción de anticuerpos séricos específicos que reconocen y unen a estas sustancias en el espacio intravascular sistémico. Estos anticuerpos poseen la capacidad de secuestrar a la cocaína circulante en el torrente sanguíneo una vez que es consumida por el sujeto, pues los anticuerpos son macromoléculas ( $\approx 150$  kD), las cuales normalmente no permean la barrera hematoencefálica, formando así complejos moleculares anticuerpo-droga de alto peso molecular, que "secuestran" e impiden la permeabilidad de la cocaína a través de la barrera hematoencefálica.<sup>5,6</sup> Así, por lo tanto, en esta condición de alteración farmacocinética de la cocaína, existe una disminución significativa de la fracción de "droga libre" plasmática que se difunde al espacio extracelular del tejido nervioso cerebral y, por ende, que estaría disponible para la unión y el bloqueo funcional del transportador de dopamina (DAT).<sup>7,8</sup> Como resultado, se observa una disminución en el valor reforzante placentero que induce la cocaína en el Sistema Nervioso, lo cual conlleva a un decremento significativo en el porcentaje de recaídas en el consumo adictivo de esta droga.<sup>1,2</sup> Además, su aplicación como terapéutica a largo plazo no produce efectos secundarios tóxicos colaterales, a menudo detectados con las farmacopeas clásicas antiadictivas empleadas comúnmente contra la adicción a esta sustancia psicoestimulante.<sup>4,9,10</sup>

Esta estrategia farmacológica experimental, de naturaleza "inmunoprotectora", ha demostrado ser un tratamiento eficaz para atenuar significativamente y/o inhibir las conductas de búsqueda y consumo adictivo a la morfina/heroina,<sup>11-13</sup> nicotina,<sup>14</sup> metanfetaminas<sup>15</sup> y cocaína,<sup>1,16-23</sup> tanto a nivel preclínico, en el modelo del roedor,<sup>16,21,22,24,25</sup> como en el humano.<sup>9,10,26</sup> En este último caso, un ejemplo notable del desarrollo de estudios de fases clínicas I-III, es para el caso particular de la cocaína.<sup>10,26,27</sup>

En 1974, Bonese et al. reportaron por primera vez la inmunización con un conjugado inmunogénico formado mediante la conjugación química entre una proteína acarreadora del tipo de la albúmina sérica de bovino (BSA) y el alcaloide opiáceo químicamente derivado de la morfina, llamado morfina-6-hemisuccinil (BSA-M-6-H). La inmunización de primates (*Macacus rhesus*), previamente entrena-

dos para autoadministrarse heroína y cocaína, con la preparación inmunogénica BSA-M-6-H, fue capaz de generar anticuerpos específicos antimorfina/heroína, capaces de atenuar la conducta de autoadministración de heroína en el primate, pero no de cocaína. Con esto se demostró la especificidad inmunoprotectora del procedimiento de vacunación activa y del antagonismo de los anticuerpos antiheroína/morfina sobre la conducta del consumo adictivo de estos opiáceos en el primate<sup>13</sup> ("prueba de concepto terapéutica").

Tuvieron que pasar dos décadas para que diferentes grupos de investigación iniciaran los primeros desarrollos de modelos de inmunoprotección activa contra la cocaína en roedores.<sup>17,28</sup>

Inicialmente se reportó el diseño molecular y la síntesis de conjugados inmunogénicos contra la cocaína mediante la conjugación covalente de la cocaína a proteínas acarreadoras de alta masa molecular ( $\geq 50$  kDa) de uso exclusivo para vacunación no humana, como es el caso de la hemocianina de molusco marino llamada KLH (*Keyhole limpet hemocyanin protein*)<sup>1,16-19,21</sup> o a BSA,<sup>22</sup> lo cual permitió la síntesis de inmunógenos del tipo KLH-cocaína o BSA-cocaína.<sup>29,30</sup>

Bagasra et al., mediante el uso de una formulación estructural KLH-cocaína, lograron generar anticuerpos séricos específicos anticocaína en ratas, detectando no sólo incrementos en los títulos de anticuerpos séricos específicos (0.004-0.019 mg/ml) por la readministración del inmunógeno, sino que además éstos eran capaces de disminuir los efectos analgésicos inducidos por esta droga (25 mg/kg, i.p). Sin embargo, cuando la dosis de cocaína se incrementaba considerablemente, los animales comenzaban a mostrar un incremento en el "tiempo de reacción" en cuanto al paradigma de *hot plate*. Lo anterior sugirió que los títulos de anticuerpos específicos generados por el inmunógeno KLH-cocaína no fueron los óptimos para neutralizar los efectos analgésicos inducidos por dosis altas de cocaína.<sup>16</sup>

A su vez, Carrera et al. mostraron que la inmunización, con un conjugado KLH-cocaína (tres inmunizaciones a una concentración de 250 $\mu$ g), denominado GNC-KLH, generaba altos títulos de anticuerpos (1:25000) con una alta afinidad para la cocaína (Kd1mM), los cuales disminuían significativamente tanto la actividad locomotora como las conductas estereotipadas inducidas por la administración intraperitoneal de cocaína (15mg/kg), mas no de conductas generadas por la administración de anfetaminas.<sup>17,18</sup> Además, el modelo GNC-KLH logró reducir significativamente, en casi un 80%, los niveles tisulares de "cocaína libre" en el tejido cerebral (estriado y cerebelo) de los animales inmunizados.<sup>17</sup> Sin embargo, estos niveles de anticuerpos no fueron suficientes para bloquear el restablecimiento de las alteraciones conductuales inducidas al incrementar la dosis o la frecuencia del consumo de cocaína.<sup>19</sup>

Posteriormente, el mismo grupo de trabajo diseñó y sintetizó un nuevo modelo estructural de conjugado inmunogénico contra la cocaína, llamado GND-KLH.<sup>18</sup>

Este modelo logró inducir una dramática disminución en la sensibilización locomotora inducida por la administración intraperitoneal de cocaína (15mg/kg). Pero no logró disminuir las alteraciones motoras generadas por dosis altas y seriadas ( $\geq 25$  mg/kg, i.p.) de cocaína, debido, probablemente, al "vencimiento" de la capacidad neutralizadora de los títulos máximos ( $\approx 1:25000$ ) de anticuerpos específicos séricos que este modelo de vacuna generaba después de la tercera inmunización.<sup>18</sup> Sin embargo, el modelo GND-KLH<sup>19</sup> mostró una notable mejora, con respecto al modelo GNC-KLH; este modelo bloqueó los efectos de sensibilización locomotora inducidos por cocaína a más largo plazo, al generar una inmunoprotección humoral, casi dos semanas después de la última reinmunización.

Otros grupos desarrollaron en paralelo el diseño y la generación de otras formulaciones de vacunas, con el fin de mejorar la eficacia para estimular una respuesta inmunológica humoral más robusta y con más altas concentraciones de anticuerpos séricos específicos contra esta droga.<sup>19,21,31,32</sup> Por ejemplo, empleando el mismo sistema de proteínas acarreadoras (KLH) con la unión química covalente de la cocaína, por medio de un brazo espaciador entrecruzador fotoactivable (N-hidroxisuccinamida-4-azidobenzoato), se demostró que la vacunación activa con este conjugado inmunogénico generaba una atenuación marginal en los efectos analgésicos y reforzantes placenteros inducidos por la administración de la cocaína en animales inmunizados.<sup>21,31</sup>

A su vez, Fox et al. demostraron que tres inmunizaciones seriadas (10 $\mu$ g/inoculación/animal) con la vacuna IP-1010, formulada con norcocaína conjugada con BSA como proteína acarreadora, eran eficaces para generar concentraciones máximas de anticuerpos circulantes anticocaína en un rango de 0.008-0.070 mg/ml en los animales inmunizados, dos semanas después de la tercera inmunización. Estos niveles de títulos de anticuerpos fueron capaces de inducir efectos inmunoprotectores contra la readquisición de las conductas de búsqueda y consumo de cocaína en ratas previamente entrenadas a autoadministrarse cocaína por vía intravenosa (1.0 mg/kg/infusión).

Sin embargo, sólo aquellos animales con niveles de anticuerpos por arriba de 0.05 mg/ml (en ratón, los títulos de anticuerpo fueron sobre 1:100000) y con una especificidad exquisita para unir rápidamente las moléculas de cocaína, eran capaces de mostrar una atenuación significativa en las conductas de búsqueda y consumo.<sup>22,33</sup>

Posteriormente, con el afán de incrementar la capacidad inmunogénica de la vacuna IP-1010, se conjugó a la norcocaína con toxina-B de cólera recombinante. La inmunización con este conjugado atenuó significativamente la conducta de autoadministración a cocaína en la rata, pero sólo en los animales que mostraban cantidades de anticuerpo sérico mayores a los 0.05 mg/ml. Sin embargo, cuando la infusión de la droga típicamente produce convulsiones y

muerte, en animales inmunizados con la IP-1010, solamente produce actividad locomotora estereotipada y una baja conducta de búsqueda de la droga.<sup>34,35</sup> Lo anterior sugiere una mejora en la especificidad de los anticuerpos a la cocaína.

Con el fin de incrementar la concentración en anticuerpos circulantes específicos, diversos grupos de investigación desarrollaron una nueva generación de inmunofármacos basados en la ingeniería genética, usando además bacteriófagos filamentosos como vectores.<sup>36-39</sup>

Janda et al.<sup>20</sup> desarrollaron el bacteriófago GNC92H2-p-VIII, al cual se le modificaron las proteínas de superficie pVIII, con el fin de generar una especie de malla esponjosa capaz de capturar las moléculas de cocaína dentro del SNC. La inmunización (dos veces diariamente) de ratas, vía intranasal con el bacteriófago, atenuó significativamente la actividad locomotora, pero sólo para dosis bajas o medias de cocaína.<sup>36,37,39</sup> Los estudios concluyeron que la eficacia del bacteriófago GNC92H2-p-VIII para capturar a la cocaína era dependiente del número de copias generadas.

Dada esta limitación, el grupo decidió utilizar a la proteína de la cápside del adenovirus, la cual es altamente inmunogénica en humanos, para desarrollar un constructo en el que, mediante la unión del hapteno con las proteínas de la cápside, podrían despertar una robusta respuesta inmune.<sup>39</sup>

En el intento número uno, el primer vector estuvo compuesto por un adenovirus-5 acoplado a la primera generación de hapteno GNC, el cual, al ser administrado, generó altos títulos de anticuerpos<sup>38</sup> capaces de atenuar los efectos estimulantes psicomotores de la cocaína en el ratón. Además, los títulos de anticuerpos permanecen en niveles altos hasta por tres meses después de la última administración.<sup>36</sup> Esto sugiere que el adenovirus podría ser un potente adyuvante, capaz de activar el sistema inmune.

Con el fin de aumentar aún más la potencia inmunogénica, se desarrolló otro modelo de vector usando la tercera generación de hapteno, denominada GNE acoplado a la cápside de un adenovirus-5. El vector fue denominado "dAd5GNE". Esta nueva generación de vector generó altos títulos de anticuerpos,<sup>37</sup> los cuales lograron persistir durante los cuatro meses posteriores a la última inmunización y fueron capaces de atenuar la sensibilización locomotora y las conductas de búsqueda y consumo de la droga en animales entrenados a autoadministrarse cocaína.<sup>37</sup>

Algunos estudios en primates demostraron que la vacuna dAd5GNE no sólo limita el acceso de la cocaína y sus metabolitos al cerebro (evaluado por la unión de la cocaína al DAT en el estriado) y a órganos periféricos sensibles a los efectos nocivos de la cocaína. Por su parte, ciertos estudios histopatológicos demostraron que órganos de animales vacunados con el vector dAd5GNE no mostraron efectos adversos en la estructura tisular de diversos órganos.<sup>40</sup> Además, el estudio determinó que la cocaína ocupó el 62% de los DAT en el caudado y el putamen en animales no vacunados. En cambio, los animales vacunados con el vector

dAd5GNE, que mostraron títulos de anticuerpos altos, mostraron menos del 20% de los DAT ocupados por la cocaína.<sup>41</sup>

Sin embargo, una de las desventajas del uso de vectores adenovirales es que en muchas ocasiones los sujetos ya tienen anticuerpos antiadenovirus preexistentes, lo cual limita su uso. Recientemente, De et al., inmunizaron a ratones con el vector Ad5, con el fin de generar una respuesta inmune al vector en los animales y, posteriormente, los inmunizaron con la vacuna dAd5GNE. Los animales vacunados generaron altos títulos de anticuerpos anticocaína, aun en animales previamente inmunizados con el adenovirus.<sup>42</sup> Esto sugiere que la vacuna dAd5GNE es capaz de evitar el acceso de la cocaína al cerebro aun en sujetos que presentan una respuesta inmune al adenovirus.

Otros grupos han usado otras estrategias para optimizar la generación de altos y específicos títulos de anticuerpos, mediante el desarrollo de nuevos haptenos.

Cai et al. evaluaron la estabilidad de diferentes haptenos (GNNA, GNNS, GNE y GNC) y encontraron que el más parecido estructuralmente a la cocaína, y que presentó una vida media más larga, fue aquel que generó las concentraciones más altas de IgG específico contra la cocaína. Además, fue también el que confirió una mejor protección contra la actividad locomotora inducida por la cocaína.<sup>43</sup> Janda et al., por su lado, usando haptenos fluorados, encontraron una mejora en las propiedades antigénicas de la vacuna, al tiempo que incrementaron significativamente la afinidad de unión y la selectividad de los anticuerpos.<sup>44,45</sup>

Recientemente, se desarrolló una vacuna contra la cocaína usando análogos del estado de transición de la cocaína (GNT). La vacuna GNE-KLH (usa como hapteno a la cocaína) generó altos y persistentes títulos de anticuerpos específicos contra la cocaína, los cuales fueron capaces de atenuar la actividad locomotora inducida por ella.<sup>43</sup> La inmunización con la vacuna GNT-KLH también generó potentes títulos de anticuerpos, pero de una naturaleza catalítica, que fueron capaces de bloquear la respuesta motora en ratones. Sin embargo, tras repetidas administraciones de cocaína, la protección inducida por estos anticuerpos fue disminuyendo gradualmente.<sup>43</sup>

## MODELOS CLÍNICOS

A la fecha, los estudios en humanos se encuentran en la fase clínica III,<sup>2,4,10,26,46,47</sup> dirigidos a evaluar las variables de inmunogenicidad, seguridad biológica e inmunoprotección de un modelo estructural de vacuna anticocaína (denominado TA-CD, Cantab Pharmaceuticals, UK). Este modelo estructural de vacuna fue diseñado y sintetizado usando a la cocaína como hapteno, la cual se unió covalentemente, por medio de un brazo espaciador tipo hidrocarbonado, a la subunidad-B de la toxina del cólera, además de ser formulada con alúmina.

Durante los ensayos de Fase Clínica I,<sup>2,26</sup> se evaluó en 15 sujetos dependientes de cocaína, quienes llevaban al menos tres meses en la fase de abstinencia, la capacidad de la vacuna TA-CD de estimular la producción de anticuerpos específicos anticocaína (inmunogenicidad). Se determinaron los posibles efectos adversos tóxicos (seguridad biológica), como fiebre, reacciones alérgicas, inflamación, edema, daño tisular, efectos inmunológicos adversos, mareo, hipotensión, entre otros, generados por la dosificación intramuscular de tres diferentes dosis de la vacuna TA-CD (13, 82 y 709  $\mu\text{g}$ /inoculación), en un esquema secuencial de tres-inoculaciones, siendo determinada la respuesta humoral 21 días después de cada revacunación durante un periodo total de 12 meses.<sup>26</sup>

Los resultados indicaron que este esquema de inmunización fue capaz de generar la producción de anticuerpos específicos anticocaína en forma directamente proporcional a la dosis del inmunógeno inoculado (con una concentración sérica promedio de inmunoglobulina específica de  $\approx 3\mu\text{g}/\text{ml}$ ). Del mismo modo, se detectaron títulos significativos a partir del día 42 posterior al inicio del esquema de inmunización (14 días después de la segunda inmunización) y títulos máximos 84 días posteriores a la primera inmunización (tercera inmunización;  $13\mu\text{g}-101 \pm 60$ ,  $86\mu\text{g}-109 \pm 62$  y  $709\mu\text{g}-2655 \pm 2223$ ) indistintamente de la aplicación de las dosis adicionales del inmunógeno. Sin embargo, al igual que sucede en los estudios preclínicos, todos los sujetos evaluados a lo largo de un año, con las distintas dosis del inmunógeno, mostraron un decaimiento progresivo en los títulos de anticuerpos hasta un nivel basal casi nueve meses después de la última inmunización, siendo la velocidad del decaimiento inversamente proporcional a la dosis de la vacuna aplicada.<sup>26</sup>

Los análisis de especificidad y afinidad demostraron que los anticuerpos generados por la vacuna TA-CD no mostraban reactividad cruzada con los principales metabolitos de biotransformación de este psicoestimulante (benzoilecgonina y ecgonina) y reconocían a la cocaína con una alta afinidad ( $2.5 \times 10^{-8}$  M).

Con respecto a la seguridad biológica, la vacuna TA-CD no mostró toxicidad ni letalidad en animales, aun en dosis superior (10 veces mayor) que la propuesta para los humanos. En éstos, no se observaron efectos adversos relacionados con la administración de la vacuna ni con el uso de la toxina del cólera recombinante (rCTB).<sup>2,9,26</sup>

Una vez evaluados los parámetros iniciales de bioseguridad e inmunogenicidad de la vacuna TA-CD, se llevaron a cabo estudios subsiguientes de Fase Clínica IIa con este modelo de vacuna en sujetos seleccionados de una población de voluntarios dependientes de cocaína en la fase de manutención de abstinencia y en recuperación temprana postdesintoxicación.<sup>10</sup>

En este estudio, los grupos experimentales fueron expuestos a cinco inmunizaciones seriadas de la vacuna TA-CD, a dos dosis de 100 y 400  $\mu\text{g}$ /inoculación durante dos



meses, con el fin de determinar el espectro de potencia inmunogénica.

Los resultados mostraron que aquellos sujetos inmunizados con una dosis de 100µg/inoculación de la vacuna TA-CD alcanzaron el título máximo de anticuerpos circulantes anticocaína después de la quinta inmunización. En cambio, los sujetos expuestos a cinco inmunizaciones con la dosis de 400µg de la vacuna TA-CD generaron niveles de anticuerpos 24 veces más altos con respecto a los detectados con la dosis de 100µg de vacuna a partir de la tercera inmunización.

Si bien el análisis estadístico dio como resultado que los títulos más altos de anticuerpos se correlacionan con periodos de menor reconsumo de cocaína en los sujetos tratados, basados en las determinaciones del metabolito benzoilecgonina en urianálisis, los niveles de anticuerpos en la mayoría de los sujetos no fueron significativamente más altos que aquellos obtenidos en el primer estudio de Fase Clínica I<sup>26</sup> de esta vacuna TA-CD.

Para los ensayos de Fase Clínica IIb, se usaron 114 pacientes ambulatorios, los cuales se encontraban en un programa de mantenimiento de abstinencia con metadona. Estos pacientes fueron sometidos a un programa de cinco inmunizaciones cada dos semanas, con la vacuna TA-CD a una dosis de 360µg/inoculación.<sup>10</sup> Los resultados de los primeros ensayos demostraron que cuando la vacuna TA-CD generaba una concentración de anticuerpos de alta afinidad, mayor a los 43µg/mL, los pacientes mostraban un menor número de pruebas de orina positivas a cocaína. Sin embargo, sólo el 38% de los sujetos en este estudio logró esta concentración de anticuerpos.<sup>10</sup>

Posteriormente, otro estudio determinó la relación entre diversos estímulos externos (incentivos monetarios) que incrementen la motivación de los sujetos a asistir a las sesiones de vacunación con regularidad y cumplir con el protocolo de inmunización de una manera regular y confiable, con el fin de asegurar una buena respuesta inmunogénica.

Los resultados mostraron que cerca del 77% de los sujetos sometidos a un programa de vacunación con incentivos económicos terminaron el programa de inmunización, en comparación con el 45% que no recibieron el incentivo. Esto sugiere que ciertos estímulos externos, como los incentivos económicos, pueden ser una herramienta útil para incrementar y mantener la adherencia de los pacientes al programa de vacunación, y con ello se podría anticipar un incremento en el número de sujetos que pudieran responder con títulos altos de anticuerpos.<sup>48</sup>

Simultáneamente, Haney et al. realizaron un estudio aleatorio, en el que sometieron a 10 sujetos dependientes de cocaína a un programa de vacunación con una de dos dosis diferentes de la vacuna TA-CD (82µg y 369µg/inoculación) y compararon los efectos subjetivos de la cocaína, antes y después de la vacunación, a la primera, tercera, quinta y novena semana.

Los resultados mostraron que, al igual que en los otros ensayos, la generación de anticuerpos fue muy variable. Los sujetos inmunizados con una dosis de 369µg/inoculación mostraron altos niveles de anticuerpos, en comparación con los sujetos vacunados con la dosis de 82µg. En ambos casos, el título de anticuerpos disminuyó rápidamente después de que las inmunizaciones se detuvieron.

Con respecto a los efectos subjetivos de la cocaína, los sujetos que mostraron los más altos niveles de anticuerpos (mayor a 1:2000) reportaron las más bajas calificaciones en las preguntas referentes a "Buenos Efectos de la Droga" y a la "Calidad de Cocaína", lo cual sugiere que los anticuerpos impidieron el paso de la droga al cerebro y disminuyeron el efecto subjetivo inducido por la cocaína.<sup>2</sup>

Dado que el principal inconveniente encontrado en los ensayos de fase clínica I y II, realizados con la vacuna TA-CD, es que sólo una minoría de los sujetos son capaces de generar una respuesta inmune robusta, se han realizado diferentes estudios encaminados a determinar la(s) causa(s). Por un lado, se ha sugerido que los sujetos que abusan de la cocaína podrían generar anticuerpos contra ésta.<sup>49,50</sup> Orson et al., evaluaron los sueros de 55 sujetos que mostraron una baja respuesta inmunogénica y la correlacionaron con la posible presencia de anticuerpos contra la cocaína.

Los resultados mostraron que los sujetos que desarrollaron una respuesta inmune robusta a la cocaína (11µg/ml) antes de la inmunización con el conjugado TA-CD no fueron capaces de generar altos títulos de anticuerpos.<sup>50</sup>

Por otro lado, recientemente se ha analizado el uso del gen de la dopamina-β-hidroxilasa (DβH) y del gen del receptor opioide kappa (OPRK1) para identificar a un subconjunto de individuos, a los cuales el tratamiento de vacunación activa con el conjugado TA-CD pueda ser un tratamiento farmacológico eficaz para la dependencia de la cocaína. Para ello se analizaron 114 sujetos dependientes de cocaína y de opioides, los cuales habían recibido cinco inmunizaciones en las primeras 12 semanas.

Los resultados indicaron que en los pacientes que mostraron un bajo nivel de expresión de los genes DβH y OPRK1, la inmunización con la vacuna TA-CD generó bajos títulos de anticuerpos, mientras que en aquellos pacientes con niveles normales de DβH y OPRK1, los títulos de anticuerpos contra cocaína fueron altos.<sup>47,51</sup>

Estos resultados sugieren que no todos los sujetos dependientes de cocaína son candidatos para ser inmunizados con la vacuna TA-CD, además de que se requieren buenos marcadores moleculares (gen DβH y OPRK1) o bioquímicos (anticuerpos para cocaína) para determinar si un paciente es o no candidato para ser sometido a la inmunización con la vacuna TA-CD.

Sin embargo, todos estos resultados preclínicos y clínicos en conjunto reforzaron "la prueba de concepto" terapéutica de la vacunación e inmunoprotección activas para el control farmacológico de la recaída al consumo adictivo

de la cocaína en el humano. Pero también dieron pauta a la postulación y justificación de sintetizar nuevos modelos de uso humano en vacunas anticocaína.<sup>52-55</sup>

## Financiamiento

Este trabajo recibió financiamiento de la Fundación Gonzalo Ríos Arronte, INP-2040.

## Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

- Carrera MR, Meijler MM, Janda KD. Cocaine pharmacology and current pharmacotherapies for its abuse. *Bioorg Med Chem* 2004;12(19):5019-5030.
- Haney M, Kosten TR. Therapeutic vaccines for substance dependence. *Expert Rev Vaccines* 2004;3(1):11-18.
- McMillan DE, Hardwick WC, Li M, Owens SM. Pharmacokinetic antagonism of (+)-methamphetamine discrimination by a low-affinity monoclonal anti-methamphetamine antibody. *Behav Pharmacol* 2002;13(5-6):465-473.
- Orson FM, Kinsey BM, Singh RA, Wu Y et al. Vaccines for cocaine abuse. *Hum Vaccine* 2009;5(4):194-199.
- Dickerson TJ, Janda KD. Recent advances for the treatment of cocaine abuse: central nervous system immunopharmacotherapy. *AAPS J* 2005;7(3):E579-E586.
- Kosten T, Owens SM. Immunotherapy for the treatment of drug abuse. *Pharmacol Ther* 2005;108(1):76-85.
- Meijler MM, Matsushita M, Wirsching P, Janda KD. Development of immunopharmacotherapy against drugs of abuse. *Curr Drug Discov Technol* 2004;1(1):77-89.
- Orson FM, Kinsey BM, Singh RA, Wu Y et al. Substance abuse vaccines. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1141(2):257-269.
- Kosten TR, Biegel D. Therapeutic vaccines for substance dependence. *Expert Rev Vaccines* 2002;1(3):363-371.
- Martell BA, Mitchell E, Poling J, Gonsai K et al. Vaccine pharmacotherapy for the treatment of cocaine dependence. *Biol Psychiatry* 2005;58(2):158-164.
- Anton B, Leff P. A novel bivalent morphine/heroin vaccine that prevents relapse to heroin addiction in rodents. *Vaccine* 2006;24(16):3232-3240.
- Anton B, Salazar A, Florez A, Matus M et al. Vaccines against morphine/heroin and its use as effective medication for preventing relapse to opiate addictive behaviors. *Hum Vaccine* 2009;5(4):214-229.
- Bonese KF, Wainer BH, Fitch FW, Rothberg RM et al. Changes in heroin self-administration by a rhesus monkey after morphine immunization. *Nature* 1974;252(5485):708-710.
- Cerny EH, Cerny T. Vaccines against nicotine. *Hum Vaccine* 2009;5(4):200-205.
- Gentry WB, Rüedi-Bettschen D, Owens SM. Development of active and passive human vaccines to treat methamphetamine addiction. *Hum Vaccine* 2009;5(4):206-213.
- Bagasra O, Forman LJ, Howeedy A, Whittle P. A potential vaccine for cocaine abuse prophylaxis. *Immunopharmacology* 1992;23(3):173-179.
- Carrera MR, Ashley JA, Parsons LH, Wirsching P et al. Suppression of psychoactive effects of cocaine by active immunization. *Nature* 1995;378(6558):727-370.
- Carrera MR, Ashley JA, Wirsching P, Koob GF et al. A second-generation vaccine protects against the psychoactive effects of cocaine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(4):1988-1992.
- Carrera MR, Ashley JA, Zhou B, Wirsching P et al. Cocaine vaccines: antibody protection against relapse in a rat model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(11):6202-6206.
- Carrera MR, Kaufmann GF, Mee JM, Meijler MM et al. Treating cocaine addiction with viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(28):10416-10421.
- Ettinger RH, Ettinger WF, Harless WE. Active immunization with cocaine-protein conjugate attenuates cocaine effects. *Pharmacol Biochem Behav* 1997;58(1):215-220.
- Fox BS, Kantak KM, Edwards MA, Black KM et al. Efficacy of a therapeutic cocaine vaccine in rodent models. *Nat Med* 1996;2(10):1129-1132.
- Kantak KM. Anti-cocaine vaccines: antibody protection against relapse. *Expert Opin Pharmacother* 2003;4(2):213-218.
- Fox BS. Development of a therapeutic vaccine for the treatment of cocaine addiction. *Drug Alcohol Depend* 1997;48(3):153-158.
- Landry DW. Immunotherapy for cocaine addiction. *Sci Am* 1997;276(2):42-45.
- Kosten TR, Rosen M, Bond J, Settles M et al. Human therapeutic cocaine vaccine: safety and immunogenicity. *Vaccine* 2002;20(7-8):1196-1204.
- Kosten TR, Domingo CB, Shorter D, Orson F et al. Vaccine for cocaine dependence: A randomized double-blind placebo-controlled efficacy trial. *Drug Alcohol Depend* 2014; 140(1):42-47.
- Ino A, Dickerson TJ, Janda KD. Positional linker effects in haptens for cocaine immunopharmacotherapy. *Bioorg Med Chem Lett* 2007;17(15):4280-4283.
- Kinsey BM, Jackson DC, Orson FM. Anti-drug vaccines to treat substance abuse. *Immunol Cell Biol* 2009;87(4):309-314.
- Kinsey BM, Kosten TR, Orson FM. Active immunotherapy for the Treatment of Cocaine Dependence. *Drugs Future* 2010;35(4):301-306.
- Johnson MW, Ettinger RH. Active cocaine immunization attenuates the discriminative properties of cocaine. *Exp Clin Psychopharmacol* 2000;8(2):163-167.
- Koetzner L, Deng S, Sumpter TL, Weisslitz M et al. Titer-dependent antagonism of cocaine following active immunization in rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;296(3):789-796.
- Wise RA, Ranaldi R. Cocaine vaccines revisited. *Nat Med* 1996;2(10):1073-1074.
- Kantak KM, Collins SL, Bond J, Fox BS. Time course of changes in cocaine self-administration behavior in rats during immunization with the cocaine vaccine IPC-1010. *Psychopharmacology (Berl)* 2001;153(3):334-340.
- Kantak KM, Collins SL, Lipman EG, Bond J et al. Evaluation of anti-cocaine antibodies and a cocaine vaccine in a rat self-administration model. *Psychopharmacology (Berl)* 2000;148(3):251-262.
- Hicks MJ, De BP, Rosenberg JB, Davidson JT et al. Cocaine analog coupled to disrupted adenovirus: a vaccine strategy to evoke high-titer immunity against addictive drugs. *Mol Ther* 2011;19(3):612-619.
- Koob GF, Hicks MJ, Wee S, Rosenberg JB et al. Anti-cocaine vaccine based on coupling a cocaine analog to a disrupted adenovirus. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2011;10(8):899-904.
- Matthews QL, Yang P, Wu Q, Belousova N et al. Optimization of capsid-incorporated antigens for a novel adenovirus vaccine approach. *Virology* 2008;5(1):98.
- Wee S, Hicks MJ, De BP, Rosenberg JB et al. Novel cocaine vaccine linked to a disrupted adenovirus gene transfer vector blocks cocaine psychostimulant and reinforcing effects. *Neuropsychopharmacology* 2011;37(5):1083-1091.
- Hicks MJ, Kaminsky SM, De BP, Rosenberg JB et al. Fate of systemically administered cocaine in nonhuman primates treated with the dA-d5GNE anticocaine vaccine. *Hum Gene Ther Clin Dev* 2014;25(1):40-49.
- Maoz A, Hicks MJ, Vallabhjousla S, Synan M et al. Adenovirus capsid-based anti-cocaine vaccine prevents cocaine from binding to the

- nonhuman primate CNS dopamine transporter. *Neuropsychopharmacology* 2013;38(11):2170-2178.
42. De BP, Pagovich OE, Hicks MJ, Rosenberg JB et al. Disrupted adenovirus-based vaccines against small addictive molecules circumvent anti-adenovirus immunity. *Hum Gene Ther* 2013;24(1):58-66.
  43. Cai X, Whitfield T, Hixon MS, Grant Y et al. Probing active cocaine vaccination performance through catalytic and noncatalytic hapten design. *J Med Chem* 2013;56(9):3701-3709.
  44. Meijler MM, Kaufmann GF, Qi L, Mee JM et al. Fluorescent cocaine probes: a tool for the selection and engineering of therapeutic antibodies. *J Am Chem Soc* 2005;127(8):2477-2484.
  45. Reindl M, Hoffmann-Roder A. Antibody recognition of fluorinated haptens and antigens. *Curr Top Med Chem* 2014;14(7):840-854.
  46. Kosten T, Domingo C, Orson F, Kinsey B. Vaccines against stimulants: cocaine and MA. *Br J Clin Pharmacol* 2014a; 77(2):368-374.
  47. Kosten TR, Domingo CB. Can you vaccinate against substance abuse? *Expert Opin Biol Ther* 2013;13(8):1093-1097.
  48. Stitzer ML, Polk T, Bowles S, Kosten T. Drug users' adherence to a 6-month vaccination protocol: effects of motivational incentives. *Drug Alcohol Depend* 2010;107(1):76-79.
  49. Matsui K, Friedman H, Klein TW. Cocaine augments proliferation of human peripheral blood T-lymphocytes activated with anti-CD3 antibody. *Int J Immunopharmacol* 1992;14(7):1213-1220.
  50. Isomura S, Hoffman TZ, Wirsching P, Janda KD. Synthesis, properties, and reactivity of cocaine benzoylthio ester possessing the cocaine absolute configuration. *J Am Chem Soc* 2002;124(14):3661-3668.
  51. Nielsen DA, Hamon SC, Kosten TR. The  $\kappa$ -opioid receptor gene as a predictor of response in a cocaine vaccine clinical trial. *Psychiatr Genet* 2013;23(6):225-232.
  52. Kinsey BM, Kosten TR, Orson FM. Anti-cocaine vaccine development. *Expert Rev Vaccines* 2010;9(9):1109-1114.
  53. Shen X, Kosten TR. Immunotherapy for drug abuse. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2011;10(8):876-879.
  54. Orson FM, Rossen RD, Shen X, Lopez AY et al. Spontaneous development of IgM anti-cocaine antibodies in habitual cocaine users: effect on IgG antibody responses to a cocaine cholera toxin B conjugate vaccine. *Am J Addict* 2013;22(2):169-174.
  55. Carrera MR, Trigo JM, Wirsching P, Roberts AJ et al. Evaluation of the anticocaine monoclonal antibody GNC92H2 as an immunotherapy for cocaine overdose. *Pharmacol Biochem Behav* 2005;81(4):709-714.