

Primer estudio pre-clínico de la acción de pasta base de cocaína en el sistema nervioso central

Trabajos originales

Resumen

El consumo de pasta base de cocaína (PBC) constituye un serio problema en varios países de Latinoamérica, incluyendo Uruguay. Actualmente, no hay evidencias científicas publicadas sobre la acción de PBC en el sistema nervioso central (SNC) que expliquen la sintomatología que aparece en sus consumidores. La PBC es una forma fumable de cocaína. Aunque algunos de los efectos subjetivos de la PBC son similares a los observados por cocaína en su forma de clorhidrato (CC; estimulación, des-inhibición), varias características las distinguen clínicamente: rotura de códigos sociales, impulsividad, agresividad y un alto grado de dependencia. La cocaína es una potente droga estimulante del SNC. Sus propiedades adictivas en humanos se basan principalmente en su acción neurobiológica sobre el sistema mesolímbico (área tegmental ventral - núcleo accumbens; NAcc), causando un aumento en la transmisión dopaminérgica (DAérgica). Este efecto neuroquímico es esencial para que las drogas de abuso induzcan el comportamiento reforzador y así promuevan la aparición de la adicción. Con el objetivo de comenzar la caracterización de las acciones centrales de PBC, en el presente trabajo se estudia sus efectos sistémicos en agudo sobre el sistema DAérgico mesolímbico. En primer lugar, se realizó un análisis químico de la muestra de PBC (gota), que mostró un alto contenido en cocaína base (68%). Luego de la administración sistémica aguda en ratas, la PBC indujo un aumento en la transmisión DAérgica evidenciada por la estimulación locomotora y un aumento en los niveles tisulares de DA en la región del NAcc. Inyectada a dosis equimolares con CC y usando una misma vía de administración, la PBC no mostró diferencias con las acciones inducidas por CC, indicando que el contenido en cocaína base presente en la muestra de PBC podría ser la responsable de los efectos observados. Serán necesarios futuros experimentos para determinar cuál es el papel neurobiológico de los otros componentes presentes en la muestra de PBC. Los presentes resultados permitirán avanzar en el conocimiento del mecanismo de acción de la PBC, aportando evidencias para alcanzar un tratamiento específico y eficaz para sus consumidores.

Summary

Cocaine base paste, CBP (the acronym in Spanish for "pasta base de cocaína") consumption is a major health and social problem in several Latin-American countries, including Uruguay. Currently, there are no published scientific evidences of CBP central actions that may explain the syptomatology observed in its consumers. CBP is a cocaine-smoking form. Although subjective effects induced by CBP are shared with those of cocaine in its hydrochloride form - C-hy- (stimulation, des-inhibition), its consumers present distinctive clinical features like a breach of social codes, behavioral changes, impulsivity, aggressiveness and a greater abuse liability. Cocaine is a potent stimulant of the central nervous system (SNC). Its addictive properties in humans are mainly based on its neurobiological actions on the mesolimbic system (Ventral Tegmental Area - Nucleus Accumbens; NAcc), causing an increase in the dopaminergic (DAérgic) transmission. This neurochemical effect is essential for the behavior reinforcement of the drug, promoting addiction. In order to start the characterization of CBP central actions, in the present work we studied its systemic acute effects on the mesolimbic DAérgic system. First, a chemical analysis of a CBP sample ("gota") was performed, showing a high content in cocaine base (68%). When CBP was acutely administered to rats, it induced an increase of DAérgic transmission, evidenced by locomotor stimulation and increased DA tissue levels in the NAcc region. When injected at equimolar doses of C-hy and using the same administration route, CBP didn't show any differences with the C-hy-actions, indicating that the cocaine base present in the CBP sample might be responsible of the observed effects. Further experiments will be necessary to determine the neurobiological role of other components present in CBP sample. These data will improve the knowledge about the CBP mechanism of action, contributing to achieve an effective and specific treatment to CP consumers.

Autores

María Noel Meikle

Estudiante de Maestría, PEDECIBA-Biología. Laboratorio de Biología Celular, IIBCE.

Jessika Urbanavicius.

Estudiante de Maestría, PEDECIBA-Biología del Departamento de Neuroquímica, IIBCE. Investigadora Grado 2 del Laboratorio de Biología Celular, IIBCE.

Giselle Prunell

Doctora en Neurociencias, Investigadora Asistente del Departamento de Neuroquímica, IIBCE.

Eleuterio Umpiérrez

Encargado de Laboratorio de Análisis Orgánico de Facultad de Química-Polo Tecnológico de Pando.

Andrés Abín-Carriquiry

Estudiante de Doctorado, PEDECIBA-Química del Departamento de Neuroquímica, IIBCE. Encargado del Servicio de HPLC institucional del IIBCE.

María Cecilia Scorza

Doctora en Neurociencias, Investigadora Asistente del Laboratorio de Biología Celular, IIBCE.

Correspondencia:

María Cecilia Scorza. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, IIBCE. Laboratorio Biología Celular. Avenida Italia 3318, (+) 598 2 487 16 16
scorza@iibce.edu.uy

Palabras clave

Pasta base de cocaína
Clorhidrato de cocaína
Estimulante
Dopamina
Núcleo accumbens

Key words

Cocaine basic paste
Cocaine hydrochloride
Stimulant
Dopamine
Accumbens nucleus

Introducción

Problemática en el consumo de pasta base de cocaína

El consumo de pasta base de cocaína (PBC) aparece en varios países de Latinoamérica a partir de los años 70 y constituye un serio problema de salud pública desde hace varias décadas¹⁻⁴. Sin embargo, el consumo de PBC en Uruguay, como un problema social importante, surge recién en los últimos años, marcadamente asociado a la crisis económica del año 2002⁵. Esta situación favoreció una alta disponibilidad de PBC en el contexto de las drogas ilegales, debido a su bajo costo y dada la obtención de la misma a través de procesos de laboratorio muy simples. Estas características hicieron que el consumo de PBC tuviera una rápida instauración en el mercado generando un gran impacto en la población en general.

El consumo de PBC sostenido en el tiempo causa cuatro fases claramente distinguibles en la clínica: euforia, disforia, alucinaciones, psicosis paranoide; puede producir una severa intoxicación (donde predomina la angustia y una fuerte compulsión por consumir), psicosis prolongada o recaídas de psicosis y en algunos casos, la muerte. También se describe una devastación cada vez más intensa en los hábitos de la alimentación y de la higiene personal⁶. La marcada disminución en el peso corporal se utiliza en la clínica como marcador

de consumo activo; también aparece insomnio e irritabilidad, alteraciones cognitivas (alteraciones de memoria y concentración), conductas antisociales o asociadas a actos violentos, desinterés laboral y académico.

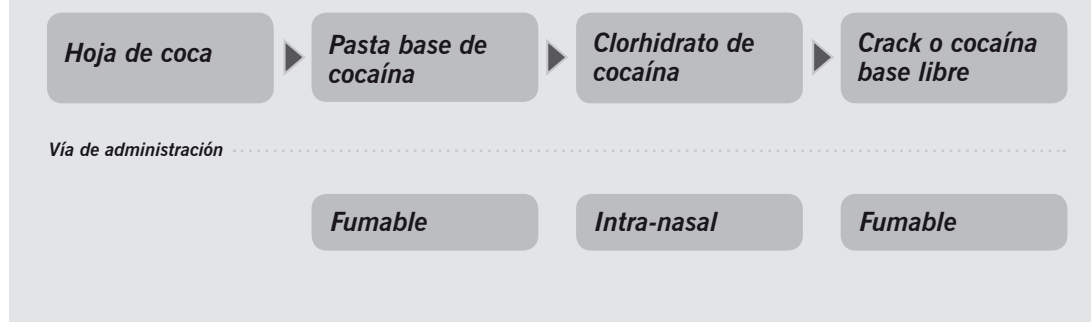
Si bien algunos de los efectos subjetivos inducidos por PBC (euforia, desinhibición, disforia post-consumo) son compartidos con los observados por cocaína en su forma de clorhidrato (CC), o con otras sustancias de abuso (anfetamina), algunas de las características que distinguen clínicamente el consumo de PBC del de otras sustancias de abuso, son la rotura de códigos sociales, los cambios de conducta y una gran impulsividad y agresividad²⁻⁶.

Los actores involucrados en la asistencia de los consumidores de PBC se vieron enfrentados a una nueva situación de diagnóstico y al tratamiento de síntomas inducidos por esta droga. El desconocimiento del mecanismo de acción de PBC a nivel del sistema nervioso central (SNC) generó la necesidad inmediata de contar con información sobre sus efectos neurobiológicos y las alteraciones físicas y psíquicas luego del consumo crónico.

¿Qué es la pasta base de cocaína?

La PBC, conocida también como pasta de coca, pasta base o simplemente pasta es el primer producto de extracción cruda obtenido durante el proceso de purificación y obtención del alcaloide cocaína en su forma de clorhidrato (Esquema 1).

Esquema 1 | Proceso para la obtención de clorhidrato de cocaína



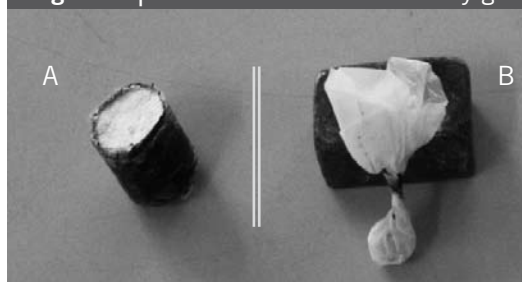
El esquema muestra que la PBC es un paso intermedio y temprano en el procesamiento de la hoja de coca para la obtención del clorhidrato de cocaína y que el crack es un paso posterior⁶. La PBC es una de las cocaínas fumables, al igual que el *crack* o también denominada como cocaína base libre, a diferencia del clorhidrato de cocaína que se consume principalmente por vía intra-nasal.

Se obtiene de la maceración de las hojas del arbusto *Erythroxylon coca* con ácido sulfúrico u otros productos químicos alcalinos, solventes orgánicos, amoníaco. La mezcla posee un color amarillento o amarronado, semisólido, conteniendo cocaína –en forma de sal y base libre–, otros alcaloides, residuos de queroseno, ácido sulfúrico (de ahí el nombre de sulfato de cocaína), además de otras impurezas⁷.

La proporción del alcaloide cocaína en muestras de PBC varía desde 40% a 70%, dependiendo del origen de la planta (las hojas de plantas provenientes de Bolivia, Perú y Ceilán contienen menos alcaloides pero una proporción superior de cocaína)⁸. La PBC se vende/consume en forma de “gota” o “lágrima”, siendo su forma “tiza” la que se utiliza en el transporte de tráfico internacional (Figura 1).

La figura muestra la PBC en sus formas de “tiza” (A) y “gota” (B) proporcionadas por el Instituto Técnico Forense del Uruguay con la autorización de la Junta Nacional de Drogas.

Figura 1 | PBC en sus formas de tiza y gota

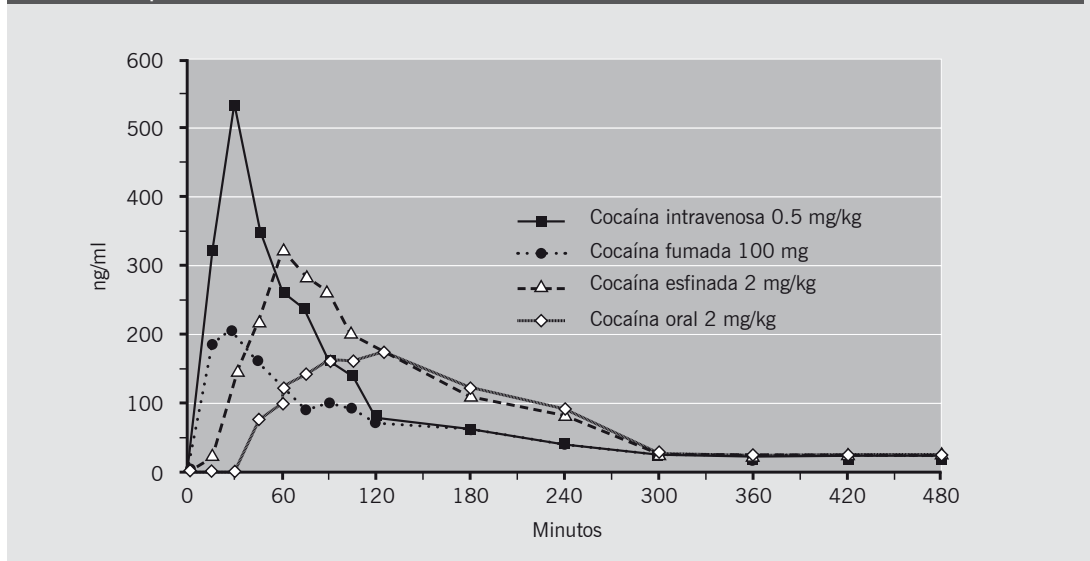


Diferentes vías de administración de cocaína

La PBC, al igual que el *crack*, es una forma fumable de cocaína (Esquema 1). Su punto de sublimación es bajo a diferencia del de CC, cuyo punto de volatilización es muy alto, lo que impide su sublimación y por lo tanto no se puede fumar dado que sería destruida por el calor⁶.

Se sabe que la cantidad de cocaína que se absorbe a nivel sistémico depende fundamentalmente de su vía de administración (Figura 2). Por lo tanto, comenzar por estudiar la acción de PBC sobre el SNC implica conocer si la vía de administración es o no un factor importante para considerar sus efectos farmacológicos. En este sentido, ya se ha publicado la velocidad con que alcanzaría la cocaína el SNC luego de diferentes vías de administración (Figura 2).

Figura 2 | Niveles plasmáticos de cocaína base libre luego de diferentes vías de administración



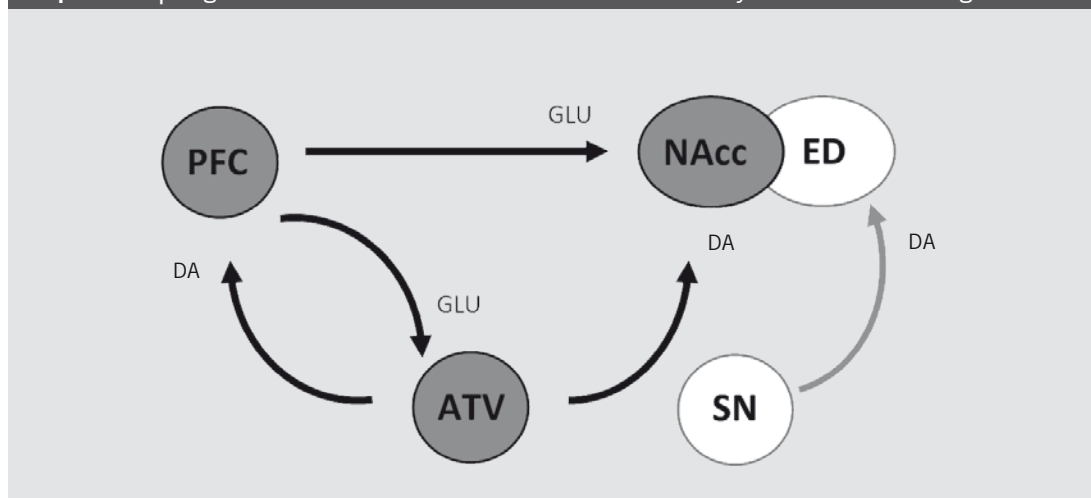
La gráfica muestra las diferencias temporales en el contenido de cocaína en plasma humano luego de su administración a dosis equimolares y por diferentes vías de administración. Modificado de Jones RT ⁹.

La Figura 2 muestra cómo la absorción de cocaína consumida por vía nasal u oral es similar, aunque más lenta cuando se fuma o después de la administración intravenosa. Bajo estas formas de administración (nasal u oral) el pico plasmático de cocaína se produce a los 60 minutos, a diferencia de los 30 minutos que demora en aparecer luego de la administración intravenosa. Las formas fumables de cocaína generan un pico plasmático rápido, a los 30 minutos aunque de más baja bio-disponibilidad en comparación con la vía intravenosa.

Factor “vía de administración” en la generación de adicción

Los circuitos neurales que subyacen y promueven la aparición del fenómeno de adicción son aquellos que median los efectos motivacionales y reforzadores de las drogas de abuso. Dichos circuitos involucran principalmente a regiones cerebrales tales como el núcleo accumbens (NAcc), así como también

al estriado dorsal (ED) y la corteza prefrontal (PFC)¹⁰⁻¹⁶. En la investigación pre-clínica sobre adicción está ampliamente aceptado que cuanto más rápido una droga de abuso alcanza el cerebro, mayor potencial adictivo posee, aunque aún se desconoce las causas^{10,17}. Una posibilidad proviene de la idea de que la adicción sea debida, en parte, a la capacidad de las drogas de abuso de reorganizar circuitos en las regiones del NAcc, ED y/o PFC. Esta reorganización se manifiesta a nivel conductual como una respuesta de sensibilización psicomotora o comportamental producida por la repetida administración de la droga; respuesta que modelaría el comportamiento de *craving* (o búsqueda de drogas) que aparece en humanos^{14,18}. Es decir, que las diferencias en las vías de administración con las que las drogas adictivas son administradas, podrían determinar su capacidad de producir sensibilización comportamental y probablemente los cambios neurobiológicos en las regiones mencionadas anteriormente¹⁰. En este sentido, estudios en roedores evidenciaron que la administración intraperitoneal de cocaína, en su forma clorhidrato, indujo cambios metabólicos (aumento en la utilización de glucosa) primeramente en estructuras relacionadas con el circuito motor nigro-estriatal (sustancia nigra, SN - ED), pero no en el sistema motivacional meso-córtico-límbico (área tegmental ventral; ATV - PFC - NAcc; Esquema 2).



Esquema de los principales circuitos que integran el sistema motivacional o de recompensa de la rata: sistema meso-córtico-límbico formado por las regiones: área tegmental ventral (ATV), corteza prefrontal (PFC) y núcleo accumbens (NAcc). El esquema incluye sistemas relacionados, tales como el nigro-estriatal formado por sustancia nigra (SN) y el estriado dorsal (ED). Se marcan también los principales neurotransmisores mediadores de las acciones de los circuitos: DA, dopamina; GLU, glutamato. Modificado de Kalivas y O'Brien¹⁶.

Sin embargo, la administración intravenosa de CC aumentó la utilización de glucosa en ambos circuitos, sugiriendo que la cocaína activaría diferentes circuitos neuronales dependiendo de la vía por la cual es administrada y que las diferencias se deben principalmente a factores farmacocinéticos¹⁷. Un desafío para la neurobiología es determinar los mecanismos por los que las distintas vías de administración inducen diferentes caminos o cascadas de eventos intracelulares que terminan en el reclutamiento de distintos circuitos neuronales y su subsecuente plasticidad¹⁰.

Mecanismo de acción de cocaína: bloqueo de la recaptación de DA

La cocaína y las anfetaminas son los psicoestimulantes del SNC más potentes

que se conocen. Comparten la propiedad de causar adicción en humanos y de activar el sistema mesolímbico aumentando la transmisión dopaminérgica en el NAcc, a través del bloqueo de la recaptación de dopamina (DA). Este efecto neuroquímico es esencial para que las drogas de abuso induzcan el comportamiento reforzador y así generar adicción^{14, 19, 20}. En roedores, además de aumentar la transmisión del sistema DAérgico en el NAcc, ambos psicoestimulantes inducen un efecto de hiperactividad locomotora, luego de una única administración, y producen el fenómeno de sensibilización comportamental luego de su administración crónica, indicativo del potencial adictivo de las drogas.

Hasta el momento únicamente existen evidencias publicadas sobre aspectos epidemiológicos y clínicos del consumo de PBC, así como algunas sobre su composición química. Sin embargo, existe escasa información científica publicada sobre las acciones neurobiológicas de esta droga, que pudieran explicar su gran potencial adictivo y el deterioro cognitivo que genera en sus usuarios luego del consumo crónico. Queda en evidencia que es necesario conocer los mecanismos subyacentes a la acción de PBC en el SNC para poder desarrollar tratamientos específicos y efectivos para sus consumidores. En este sentido, estamos llevando a cabo un estudio neurobiológico pre-clínico sobre PBC. En la línea de investigación general, planteamos que no se puede asumir a priori que las diferencias

entre PBC y CC se deban exclusivamente a las diferentes vías de administración (fumada *vs.* nasal). Proponemos, entonces, que otros componentes presentes en la muestra de PBC, diferentes al alcaloide cocaína, podrían contribuir en las acciones centrales de PBC y responder, en parte, a las diferencias clínicas encontradas con CC.

Por lo tanto, los experimentos del presente trabajo fueron diseñados para analizar químicamente la muestra de PBC y comparar los efectos inducidos por PBC con una muestra de CC pura, administrada bajo las mismas condiciones. Estos experimentos permitirán evidenciar posibles diferencias farmacológicas entre ambas formas de cocaína (base y clorhidrato). En este sentido, se caracterizarán: 1) la alteración de la transmisión DAérgica en el NAcc y 2) los cambios en la actividad locomotora en animales de experimentación, luego de la administración sistémica aguda de PBC (gota). A través de estos ensayos se estudiarán dos de las propiedades más comunes de las drogas de abuso: el aumento en la transmisión DAérgica y el efecto estimulante.

Material y método

Animales

En este estudio fueron utilizadas ratas macho cepa Wistar (250-300 g) obtenidas del Bioterio del IIBCE. Fueron alojadas en grupos de 6 animales por cajas transparentes (50 x 30 x 20 cm) con comida y agua *ad libitum* en condiciones de temperatura y luz controladas (temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo de luz-oscuridad de 12 horas, encendiéndose la luz a las 7:00 a. m.).

Los experimentos fueron conducidos de acuerdo con las normas éticas del Comité de Bioética del IIBCE, basados en las normativas éticas vigentes de la Ordenanza Universitaria CDC Exp. 4332/99, Diario Oficial N° 25467, Feb.21/00 UdelaR.

Muestra de PBC y de CC

Para este estudio se utilizó una muestra de PBC gota proveniente de incautaciones realizadas por la policía luego de procedimientos de allanamientos. La muestra ha sido proporcionada por el Instituto Técnico Forense (ITF) con la autorización de la Junta Nacional de Drogas (JND) y de los Juzgados penales correspondientes al lugar de la incautación de la droga. La muestra de clorhidrato de cocaína ha sido comprada en Sigma-Aldrich, con su correspondiente legalización a través del Ministerio de Salud Pública y la *Drug Enforcement Administration* (DEA).

Análisis químico de la muestra de PBC

Para la determinación de la composición química de la muestra de PBC incautada se realizó un ensayo de química húmeda, cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas (GC/MS) y posteriormente cromatografía líquida (CL y/o HPLC). Se realizó un análisis cualitativo de las muestras de PBC y secundariamente uno cuantitativo, para determinar el porcentaje del alcaloide cocaína y de las posibles sustancias adulterantes (cafeína, lidocaína).

Procedimiento experimental

Para la realización de los experimentos conductuales y neuroquímicos la muestra de PBC debió ser disuelta en una solución de ácido clorhídrico (HCl) 2%, agua destilada y cantidad suficiente de hidróxido de sodio 50% hasta llevar la solución a un pH= 6.3. En cambio, la muestra de CC se disolvió rápidamente en agua destilada y fue preparada fresca el día de cada experimento.

Previo a la realización de estos experimentos, la muestra de PBC gota fue analizada químicamente para determinar su contenido en cocaína base y posibles adulterantes. El

contenido de cocaína base en la muestra de CC (89,6%) fue utilizado como referencia. Una vez terminado este análisis, la muestra de PBC fue fraccionada y mantenida a -20°C hasta su utilización.

Dosis. La dosis para la administración sistémica de PBC y CC fue de 10 mg/kg^{16, 21}. Ambas drogas fueron inyectadas por vía intraperitoneal (i. p.) en animales *naïve*. El volumen de inyección fue de 1 ml/kg. En el caso de los experimentos con dosis equimolares se inyectó una cantidad de la solución de PBC de 13,2 mg/kg, valor calculado a partir del análisis cuantitativo del contenido de cocaína base en la muestra de PBC en relación con el contenido de cocaína base en la muestra de CC. Los animales control fueron inyectados i.p. con los vehículos correspondientes de PBC y CC.

Estudios de la actividad locomotora. La actividad locomotora del animal es el parámetro que refleja el efecto estimulante de PBC y CC. Se utilizó el modelo de campo abierto u *open field*, el cual consiste en una caja cuadrada (60 x 60 cm) con paredes de acrílico rojas de 40 cm de alto. Al nivel de la base está equipado con un sistema óptico de 8 fotoceldas por lado (64 en total) que registran automáticamente la actividad locomotora del animal a través de una interfase conectada a una computadora equipada con el *software Motor Behaviour Monitor* (MBM). El número de cruces de fotoceldas registrado representa la actividad motora del animal durante el tiempo de registro²².

Los animales fueron inyectados con droga o vehículo e inmediatamente ingresados al campo abierto donde se registró su actividad durante 30 minutos. Antes del registro de la actividad, la caja se cubre con una capa uniforme de viruta y una vez finalizado el mismo se la retira y se limpia con alcohol al 30% para luego colocar el siguiente animal.

Los experimentos fueron realizados entre las 8:00 y las 13:00 horas y en cada uno de ellos los animales fueron trasladados al cuarto

de experimentación (con condiciones de luz y temperatura iguales a las del Bioterio), pesados e identificados un día antes para su adaptación al ambiente.

Cuantificación de los niveles de DA. Los cambios en los niveles tisulares de DA son indicativos del estado de la transmisión DAérgica.

Una vez terminados los experimentos comportamentales, los animales fueron sacrificados inmediatamente por decapitación. El NAcc fue disecado y posteriormente guardado a -70°C hasta el día de su procesamiento. Para la cuantificación del contenido de DA en el NAcc se utilizó la técnica de cromatografía líquida de alta resolución con detección electroquímica (HPLC-DE)²³.

Análisis estadístico

Los datos de actividad locomotora fueron expresados como la media \pm error estándar de la media (EEM) del número de cruces en función del tiempo. Los niveles tisulares de DA en el NAcc también fueron expresados como la media \pm EEM, en nanogramos (ng)/gramo de tejido húmedo.

La comparación estadística de los datos obtenidos fue realizada utilizando un ANOVA de una vía de muestras independientes, seguido del *test* de comparación múltiple de medias de *Newman Keuls*. El nivel de significación fue considerado para un valor de $p < 0.05$.

Resultados

Para llevar a cabo los experimentos comportamentales y neuroquímicos, primeramente se realizó el análisis químico de la muestra de PBC con el fin de determinar el contenido del alcaloide cocaína, además de la presencia de otras sustancias. En la Tabla 1 se muestra los resultados del análisis cuantitativo y cualitativo de la muestra de PBC gota.

Tabla 1 | Análisis cuati y cualitativo de la muestra de PBC, teniendo como referencia la muestra de CC

Muestras	Cocaína base	Ecgonina	Trans-cinamoil ecgonina	Cis-cinamoil ecgonina	Sustancias adulterantes	
					Cafeína	Lidocaína
PBC gota	68,1 ± 3%	+	+	+	15,0 ± 0%	-
Clorhidrato de cocaína	89,6 ± 0%	-	-	-	-	-

El análisis cuantitativo de la muestra de PBC gota evidenció que la media del contenido de cocaína base estuvo en un 68% y cafeína en un 15%. El análisis cualitativo demostró la presencia (+) de sustancias como ecgonina, trans-cinamoil ecgonina, cis-cinamoil ecgonina, mientras que no se detectó (-) lidocaína como sustancia adulterante adicional a cafeína. El análisis se hizo por triplicado.

El análisis cualitativo de la muestra de PBC demostró la presencia de cocaína y otros compuestos relacionados con su metabolismo, tales como ecgonina, trans-cinamoil ecgonina y cis-cinamoil ecgonina. Como sustancia adulterante se detectó cafeína pero no lidocaína. El contenido de cocaína base fue de un 68,1% (calculado a partir del contenido en cocaína base de la muestra de CC), mientras que el de cafeína fue de un 15%.

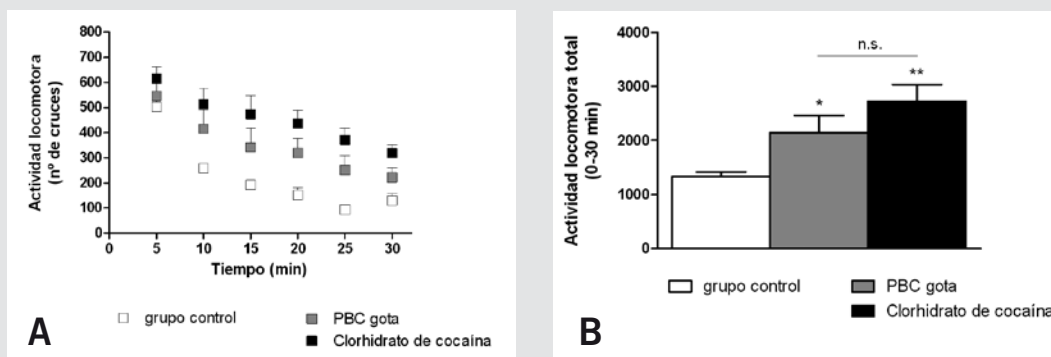
Efecto comportamental y neuroquímico inducido por PBC gota y CC (10 mg/kg)

La actividad locomotora de los animales inyectados con vehículo de PBC fue similar

a la de los inyectados con el vehículo de CC (1.333,1 ± 236,2 vs 1.140,0 ± 278,4; p > 0.05). Por lo tanto, se utilizó como grupo control a los animales inyectados con el vehículo de PBC para comparar los efectos observados en los demás tratamientos.

La Figura 3 muestra la actividad motora inducida por la administración sistémica de la dosis de 10 mg/kg de PBC gota y CC. Como es de esperar para las drogas estimulantes, PBC gota indujo un aumento significativo de la actividad locomotora de los animales comparado con el grupo control (p < 0.05), evidenciando un efecto estimulante. Similarmente, CC produjo un efecto de hiperactividad (p < 0.01; Figura 3A). La comparación entre ambos tratamientos reflejó que la actividad

Figura 3 | Actividad motora inducida por la administración sistémica de PBC gota y CC



Actividad locomotora inducida por PBC y clorhidrato de cocaína (A) en función del tiempo a la dosis de 10 mg/kg. Los datos están expresados como la media ± EEM del número de cruces registrados en el campo abierto durante 30 minutos. En (B) se muestra la actividad locomotora total de PBC gota comparando con la inducida por clorhidrato de cocaína. ANOVA de una vía seguido por el test de Newman Keuls. * = vs control. * = p < 0.05; ** = p < 0.01. No hubo diferencias entre PBC vs CC (p > 0.05). n.s. = no significativo. N=5-6.

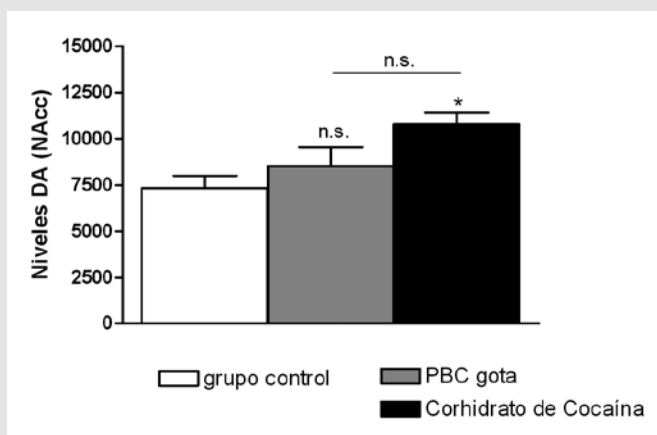
locomotora inducida por CC tuvo una tendencia a ser mayor a la inducida por PBC ($p > 0.05$; Figura 3B).

La Figura 4 muestra el efecto de PBC gota y CC sobre los niveles tisulares de DA en el NAcc. Únicamente CC indujo un aumento significativo en los niveles de DA en el NAcc ($p < 0.05$) comparado con el grupo control; sin embargo, no alcanzó significancia estadística comparado con el grupo de PBC ($p > 0.05$).

Efecto comportamental y neuroquímico inducido por PBC gota y CC a dosis equimolar

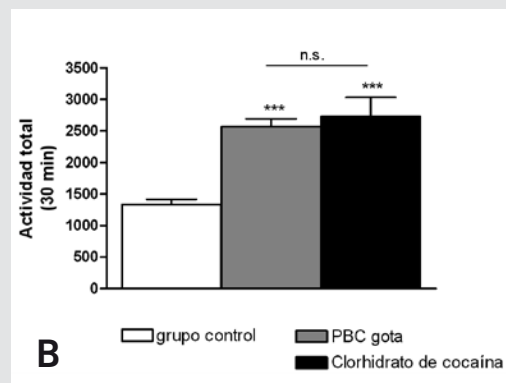
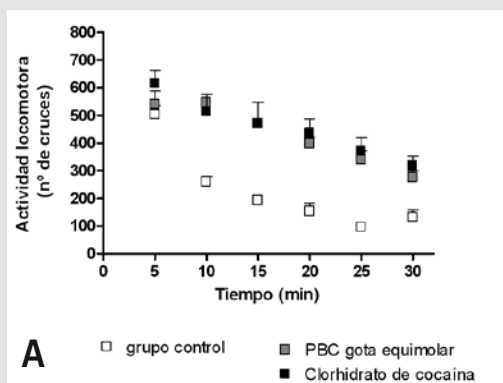
La Figura 5 muestra la locomoción inducida por PBC gota a una dosis equimolar (13,8 mg/kg) con respecto a la dosis de CC (tomando como referencia la dosis de 10 mg/kg). Podemos observar cómo PBC gota indujo un aumento significativo en la actividad locomotora de los animales ($p < 0.001$) de forma similar a CC ($p < 0.001$; Figuras 5A y B).

Figura 4 | Efecto de PBC gota y CC sobre los niveles tisulares de DA en el NAcc



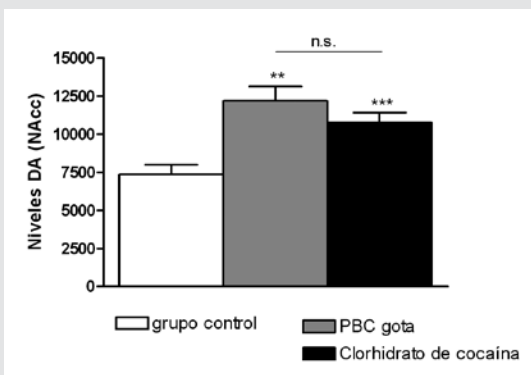
Niveles tisulares de DA en el NAcc inducido por PBC gota y clorhidrato cocaína a la dosis de 10 mg/kg. Los datos están expresados como la media \pm EEM de los niveles tisulares de DA (ng/gr de tejido) ANOVA de una vía seguido por el test de Newman Keuls. * = vs control; * = $p < 0.05$. No hubo diferencias entre PBC vs control y PBC vs CC ($p > 0.05$). n.s. = no significativo. N=5-6.

Figura 5 | Locomoción inducida por PBC gota y CC



Actividad locomotora inducida por PBC y clorhidrato de cocaína (A) en función del tiempo a una dosis equimolar de PBC con clorhidrato de cocaína (dosis referencia 10 mg/kg). Los datos están expresados como la media \pm EEM del número de cruces registrados en el campo abierto durante 30 minutos. En (B) se muestra el efecto comparativo entre PBC y clorhidrato de cocaína. ANOVA de una vía seguido por el test de Newman Keuls. * = vs control; *** = $p < 0.001$. No hubo diferencias entre PBC vs CC ($p > 0.05$). n.s. = no significativo. N=5-6.

Figura 6 | Niveles tisulares de DA en el NAcc inducido por PBC gota y clorhidrato de cocaína a dosis equimolares



Los datos están expresados como la media ± EEM de los niveles tisulares de DA. ANOVA de una vía seguido por el test de Newman Keuls. * = vs control; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$. No hubo diferencias entre PBC vs CC ($p > 0.05$). N=5-6.

Por otro lado y a diferencia de lo observado en la Figura 4, PBC gota inyectada a una dosis equimolar logró inducir un aumento significativo en los niveles tisulares de DA en el NAcc ($p < 0.01$), sin mostrar diferencia significativa con CC ($p > 0.05$; Figura 6).

Discusión

El cuerpo de resultados presentados en este trabajo forma parte del primer estudio pre-clínico en Uruguay y Latinoamérica, caracterizando los efectos comportamentales y neuroquímicos de una muestra de PBC. Además, este estudio permitió identificar el contenido químico de una muestra de PBC gota, que eventualmente podría llegar a individuos consumidores.

Los experimentos realizados permitieron, en primer lugar, evidenciar el efecto estimulante de la muestra de PBC estudiada. Aun más, este efecto se vio igualado a la hiperactividad inducida por la muestra de CC luego de la inyección de PBC a una dosis equimolar en contenido de cocaína base. Este resultado indica fuertemente que el contenido en cocaína en la muestra de PBC estaría en la base de la respuesta comportamental de estimulación locomotora observada en los animales.

En segundo lugar, PBC a la dosis de 10 mg/kg (no equimolar) no modificó los niveles tisulares de DA en el NAcc, efecto que sí se

observó en los animales inyectados con CC a la misma dosis. Sin embargo, luego de la dosis equimolar de PBC se produjo un aumento significativo en la transmisión DAérgica en esa región. Al igual que para el efecto estimulante, este resultado demuestra que el contenido de cocaína presente en la muestra de PBC tendría un papel preponderante en el cambio neuroquímico inducido por la droga.

Hasta nuestro conocimiento existe un único trabajo científico publicado, que reporta el contenido químico de muestras de PBC provenientes de Colombia y Perú. En dicho estudio, a través de la metodología de GC-Masa, se identificaron sustancias en diferentes fracciones: en la fracción de alcaloides se observó cocaína como principal alcaloide, ecgonina metil ester, tropacocaine, cis-cinamoilcocaína, trans-cinamoil cocaína, etc., y residuos de manganeso y plomo. En la fracción de hidrocarburos se identificaron compuestos tales como etilbenceno, xileno⁷. Consideramos dicho trabajo una importante referencia, dado que el análisis químico realizado en la muestra de PBC gota de la incautación proporcionada por el ITF, demostró la presencia de otros compuestos, aparte de cocaína: ecgonina, trans-cinamoil ecgonina y cis-cinamoil ecgonina, de forma similar a lo descrito por Elsohly⁷. Destacamos que apareció cafeína como principal adulterante y no lidocaína, como esperábamos, dado que es el principal adulterante utilizado para “cortar” drogas como cocaína. Futuros experimentos nos

permitirán cuantificar dichos compuestos así como, también, residuos de ácidos y solventes orgánicos necesarios para el procesamiento de la extracción de la cocaína.

En este estudio pudimos comprobar que, con la misma vía de administración e igual contenido en cocaína base, PBC gota indujo un efecto estimulante y neuroquímico similar al de CC. No es extraño que el alcaloide cocaína esté en la base de los efectos centrales de PBC, dado que su contenido alcanza valores tan altos como un 68%. Si bien hasta el momento no se pudo cuantificar el contenido de los otros compuestos presentes en muestras de PBC, no descartamos que estos u otros aún sin determinar, puedan ser responsables de la aparición de otras propiedades de la droga que puedan explicar la sintomatología de sus consumidores. Tal vez, los trastornos descritos en la clínica, tales como el deterioro cognitivo, puedan ser atribuidos al potencial neurotóxico de la droga. La realización de futuros experimentos neurobiológicos permitirá corroborar dicha propiedad.

A pesar de no mantener la vía de administración utilizada en el consumo de PBC (fumada) o CC (nasal) en los experimentos diseñados, la inyección sistémica permitió identificar dos de las propiedades que caracterizan a las drogas de abuso: el aumento de la transmisión DAérgica en el NAcc y el efecto estimulante, validando el uso de la misma para el estudio pre-clínico de las acciones centrales de PBC. No obstante, es necesario caracterizar los efectos inducidos por un tratamiento crónico en modelos experimentales validados para determinar la propiedad adictiva, tales como la sensibilización comportamental y neuroquímica.

Por último, no hay que dejar de mencionar que los resultados obtenidos en este estudio nos llevarían a pensar que el potente efecto adictivo observado en los consumidores de PBC y sus diferencias con los consumidores de CC podría ser explicado principalmente por la vía de administración utilizada (fumada *vs.* nasal). En este sentido, como hemos mencionado en la introducción, cuanto más rápido una droga de abuso alcanza el cerebro, más potencial adictivo posee. Sin embargo, no podemos descartar aún que la presencia de

otras sustancias participe también del gran potencial adictivo de PBC. Son necesarios más experimentos para llegar a responder esta interrogante. Comprender los mecanismos neurobiológicos de la adicción inducida por PBC permitirá seleccionar farmacoterapias más efectivas.

Agradecimientos

A las personas que colaboraron con el presente trabajo en sus diferentes etapas: Lic. Milton Romani, Secretario General de la Junta Nacional de Drogas y Sra. Laurita Regueira, secretaria de la Junta Nacional de Drogas; Q.F. Elena Lerena, Instituto Técnico Forense; Dr. Juan Triaca, Portal Amarillo y Dra. Andrea Gago por su participación inicial en el proyecto de investigación en pasta base.

Este estudio fue financiado por el Proyecto Programa de Desarrollo Tecnológico-Salud N° 76/26.

Referencias bibliográficas

1. **Jeri FR.** The Coca Paste Epidemic in South America: Epidemiological, Clinical, Experimental and Therapeutic Observations. Revista de la Sanidad de las Fuerzas Policiales 1982; 43(2):170-179.
2. **Castro de la Mata R.** Aspectos farmacológicos de la pasta básica de cocaína. En: F. R. León, Castro de la Mata (ed). Pasta Básica de Cocaína: Un estudio multidisciplinario. Centro de Información y Educación para la Prevención del Abuso de Drogas (CEDRO); 1989. <http://www.cedro.org.pe/>
3. **Navarro R.** Aspectos clínicos de la dependencia a la pasta básica de cocaína. En: F. R. León, Castro de la Mata (ed). Pasta Básica de Cocaína: Un estudio multidisciplinario. Centro de Información y Educación para la Prevención del Abuso de Drogas (CEDRO); 1989. <http://www.cedro.org.pe/>

4. **Pérez J.** Clínica de la adicción a pasta base de cocaína. *Rev Chil Neuropsiq* 2003; 41:55-63.
5. Junta Nacional de Drogas, "Drogas: más información menos riesgos", 6ª edición 2008. Editor: Junta Nacional de Drogas, Presidencia de la República Oriental del Uruguay: Presidente Lic. Jorge Vázquez; Secretario General Lic. Milton Romani Gerner. <http://www.infodrogas.gub.uy/>
6. **Castaño P.** Cocaínas Fumables. *Adicciones* 2000; 12(4):541-550.
7. **Elsohly MA, Brenneisen R, Jones AB.** Coca Paste: Chemical Analysis and Smoking Experiments. *Journal of Forensic Sciences* 1991; 36:93-103.
8. **Lizasoain I, Moro MA, Lorenzo P.** Cocaína: aspectos farmacológicos. *Adicciones* 2002; 14(1):57-64.
9. **Jones RT.** Pharmacokinetics of cocaine: considerations when assessing cocaine use by urinalysis. *NIDA Res Monog* 1998; 175:221-34.
10. **Samaha AN, Robinson TE.** Why does the rapid delivery of drugs to the brain promote addiction? *Trends in Pharmacological Science* 2005; 26(2):82-87.
11. **Bradberry CW, Roth RH.** Cocaine increases extracellular dopamine in rat nucleus accumbens and ventral tegmental area as shown by in vivo microdialysis. *Neurosci Lett* 1989; 103:97-102.
12. **Carboni E, Imperato A, Perezzi L, Di Chiara.** Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neuroscience* 1989; 28:653-661.
13. **Kalivas PW, Duffy P.** Effect of acute and daily cocaine treatment on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *Synapse* 1990; 5:48-58.
14. **Robinson TE, Berridge KC.** The neural basis of drug craving: an incentive sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev* 1993; 18:247-291.
15. **Kalivas PW, Volkow ND.** The Neural Basis of Addiction: A Pathology of Motivation and Choice. *A J Psychiatry* 2005; 162:1403-1413.
16. **Kalivas PW, O'Brien C.** Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33(1):166-80.
17. **Porrino LJ.** Functional consequences of acute cocaine treatment depend on route of administration. *Psychopharmacol (Berl)* 1993; 112:343-351.
18. **Pierce RC, Kalivas PW.** A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Rev* 1997; 25(2):192-216.
19. **Samaha AN, Mallet N, Ferguson SM, Gonon F, Robinson TE.** The rate of cocaine administration alters gene regulation and behavioral plasticity: implications for addiction. *J Neurosci* 2004; 24(28):6362-70.
20. **Noble EP.** Addiction and its reward process through polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene: a review. *Eur Psychiatry* 2000; 15(2):79-89.
21. **Antoniou K, Kafetzopoulou E, Papadopoulou-Daifotis Z, Hyphantisa T, Marselosa M.** D-amphetamine, cocaine and caffeine: a comparative study of acute effects on locomotor activity and behavioural patterns in rats. *Neurosci and Biobehav Rev* 1998; 23:189-196.
22. **Lagos P, Scorza MC, Monti JM, Jantos H, Reyes-Parada M, Silveira R, Ponzoni A.** Effects of the D₃ preferring dopamine agonist pramipexole on sleep and waking, locomotor activity and striatal dopamine release in rats. *Eur J Neuropsychopharmacol* 1998; 8:113-120.
23. **Scorza MC, Carrau C, Silveira R, Zapata G, Cassels BK, Reyes-Parada M.** Monoamino oxidase inhibitory properties of some methoxylated and alkylthio amphetamine derivatives. Structure-activity relationships. *Biochem Pharmacol* 1997; 54:1361-1369.