

Trabajo Original

Toxicología Experimental

## **Efectos tóxicos de la mezcla cocaína-levamisol en modelos farmacológicos**

---

**<sup>1</sup>María Luisa Di Bernardo, <sup>2</sup>Yasmin Morales, <sup>3</sup>ONA-OVD, <sup>4</sup>Rosa de Jesús, <sup>4</sup>Mileyna Gudiño, <sup>4</sup>Andrés Osorio.**

<sup>1</sup>GITAEF: Grupo de Investigaciones en Toxicología Analítica y Estudios Farmacológicos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes-Mérida, Venezuela.

<sup>2</sup>CICPC: Laboratorio de Toxicología. Cuerpo de Investigaciones Científicas, Penales y Criminalística. Delegación Mérida-Venezuela.

<sup>3</sup>ONA-OVD: Oficina Nacional Antidrogas-Observatorio Venezolano de Drogas. Caracas, Venezuela.

<sup>4</sup>BIOULA: Bioterio de la Universidad de Los Andes-Mérida, Venezuela.

Correspondencia de autor: Dra. María Luisa Di Bernardo, correo: [girard@ula.ve](mailto:girard@ula.ve), [marydi32@gmail.com](mailto:marydi32@gmail.com) . y/o Dra. Yasmin Morales, correo: [dancar2men@gmail.com](mailto:dancar2men@gmail.com)

## Resumen

Se estudian efectos tóxicos de la mezcla de cocaína con levamisol, en 120 ratones NMRI machos en etapa adulto-joven, como modelos farmacológicos con conversión aproximada a 26 años de un humano. El levamisol es un fármaco con actividad antihelmíntica e inmunomoduladora utilizado en medicina veterinaria y actualmente registrado en "corte" (adulterante) de cocaína en EEUU y otros países. El estudio se realizó en seis grupos de 20 modelos cada uno (cocaína sola, levamisol sólo, tres concentraciones de la mezcla y control de suero fisiológico) e incluyó valoraciones hematológicas, bioquímicas, clínicas y conductuales antes, durante y al final de la experiencia, y hallazgos anatomopatológicos. Mediante los perfiles de transaminasas y creatinina, se evidencian daños severos a nivel hepático y renal. Los cambios en la fórmula hematológica son indicativos de daño a nivel del sistema inmunológico, corroborado por el hallazgo anatomopatológico de un bazo hipertrofiado. Entre los cambios conductuales se observa aumento en tiempo-efecto de la actividad psicomotora, conductas agresivas, ingesta excesiva de agua, baja ingesta de alimentos y marcado daño a nivel de piel, llegando a putrefacción de la misma en la semana 4 y 5 del estudio. El estudio permitió además observar que la mezcla tiene un efecto sinérgico, potenciando los efectos de la cocaína a nivel del sistema nervioso central. Para confirmar esta presunción se tomaron muestras de regiones cerebrales para estudios ulteriores de neurotransmisores aminoácidos inhibitorios, excitatorios y dopaminérgicos. De igual forma se encuentran actualmente en curso en nuestra unidad de investigación estudios toxicogénicos. Son necesarios otros estudios para aseverar que esta asociación prolonga la vida media de la cocaína, como se presume por algunas pruebas rápidas realizadas.

Estos primeros resultados permiten concluir que el corte de cocaína con levamisol produce daños severos a nivel hepático, renal, inmunológico, siendo lo más relevante el daño dérmico (necrosis). Esto sirve para alertar al personal de salud, de centros de tratamientos y organismos de seguridad, sobre esta patología que no debe confundirse con vasculitis ni infecciones dérmicas y por ende, administrar medicamentos que puedan exacerbar el cuadro clínico o potenciar el efecto de la mezcla.

**Palabras claves:** cocaína, levamisol, ratones NMRI, hematología, piel.

---

## Summary

### **Toxic effect of cocaine- levamisole in pharmacological models**

We study the toxic effects of mixing cocaine with levamisole in 120 male NMRI mice, young adult stage, as pharmacological models with approximate conversion to 26 years in a human. Levamisole is a drug with immunomodulating activity and anthelmintic used in veterinary medicine and currently enrolled in a "cut" (adulterant) of cocaine in the U.S. and other countries. The study was conducted in six groups of 20 models each (cocaine alone, levamisole alone, three concentrations of the mixture and saline control) and included hematologic values, biochemical, clinical and behavioral before, during and after the experience, and pathological findings, with three concentrations of the mixture and controls. Through profiles of transaminases and creatinine are evident severe damage to the liver and kidneys. Changes in hematologic formula are indicative of damage to the immune system level, confirmed by the pathological finding of an enlarged spleen. Among the behavioral changes observed time-effect increased psychomotor activity, aggressive behavior, excessive water intake, low food intake and marked damage to skin level, leading to putrefaction of the same in Week 4 and 5 of the study. The study also allowed to observe that the mixture has a synergistic effect, enhancing the effects of cocaine on central nervous system. To confirm this assumption was sampled brain regions for further study inhibitory amino acid neurotransmitters, excitatory and dopaminergic receptors. Likewise are currently underway in our research unit Toxicogenetics studies. Further studies are needed to assert that this association extends the half-life of cocaine, as assumed by some rapid tests performed.

These early results suggest that cutting cocaine with levamisole produces severe damage to the liver, renal, immune, the most relevant of the skin damage (necrosis). This serves to alert personnel of health, treatment centers, and security of this pathology should not be confused with vasculitis or skin infections and therefore, medications that may exacerbate the clinical or enhance the effect of the mixture.

**Keywords:** cocaine, levamisole, NMRI mice, hematology, skin.

## Introducción

El fenómeno social contemporáneo de la globalización trae consigo efectos indeseados, como que la delincuencia organizada también puede acceder fácilmente a los beneficios de la información actual sobre diversos temas. Esto favorece la aparición en el mercado ilícito de nuevas drogas simples y asociaciones de ellas, por lo que se hace necesario periódicamente caracterizarlas químicamente a medida que ingresan y son incautadas tanto en nuestro país como en otros, permitiendo una acción rápida por parte de los organismos fiscalizadores y de los expertos, utilizando métodos y técnicas que permitan la separación e identificación respectiva de cada uno de los componentes en corto tiempo y con alta precisión. Además, al conocer estas mezclas se pueden desarrollar esquemas preventivos para informar a la población de los severos daños potenciales, en este caso de la cocaína "cortada" (adulterada) o no, donde el mensaje sigue siendo que es una droga altamente toxica e incluso mortal, y también permitir dar un manejo terapéutico adecuado a los consumidores de estas nuevas mezclas.

Cabe destacar que en Venezuela en el primer semestre del año 2011, las incautaciones de cocaína por parte de los órganos de seguridad del estado están por el orden de los 18.091, 48 kilogramos (18 toneladas) aproximadamente, esta cifra es aportada por el Observatorio Venezolano de Drogas (OVD).

Los análisis químicos realizados a estas incautaciones reportan que el 65% de la cocaína incautada viene mezclada con levamisol, el restante se encontró con fenacetina y ketamina, entre otros. Las proporciones de levamisol encontradas en las incautaciones correspondían a 80: 20, 70:30 y 60:40 de cocaína y levamisol respectivamente expresado en % peso/peso. Estas mismas proporciones fueron utilizadas en el presente estudio, que pretende confirmar experimentalmente observaciones realizadas en medicina humana y registradas recientemente (años 2009-2011) por otros investigadores (1-3).

La Oficina Nacional Antidrogas (ONA) como órgano rector en materia de droga, a través del Observatorio Venezolano de Drogas (OVD) conoce que el tráfico de estas

sustancias es de carácter internacional, y que nuestro país, por su ubicación geográfica es utilizado para el tránsito de las mismas con destino a otros países, por lo que responsablemente considera necesario realizar investigaciones de los perfiles químicos con resultados rápidos y confiables de todas las drogas que ingresan, realizando seguimiento rápidamente entre laboratorios químico-forenses para complementar o ampliar la información respecto a los cambios en adulterantes o "cortantes", con potenciales daños a la salud de sus consumidores. Al respecto, Eric Lavonas, Director asociado del Centro de control de drogas y venenos de Rocky Mountain, Denver-Colorado, EEUU, (4) comenta textualmente al referirse a que probablemente la mitad de la cocaína de ese país contenga levamisol: *"Creo que sería justo decir que la mayoría de los médicos en EEUU no tienen la menor idea de que esto está pasando"*, concluyendo que *"Así no se puede diagnosticar una enfermedad sobre la que nunca se ha oído hablar"*.

Noah Craft (5) en un estudio de casos clínicos registró recientemente que seis consumidores de cocaína estaban afectados por manchas color púrpura oscuro (ulceraciones pútridas), describiendo que el problema es nacional. Estos casos de reacciones en la piel y enfermedades vinculados a cocaína contaminada o intencionalmente adulterada son sólo la punta del iceberg de un problema de salud pública ocasionado por el levamisol en ese país.

Walsh Noreen M. G y colaboradores (6) refieren hallazgos de púrpura retiforme en personas que refieren uso de cocaína, atribuyéndoselo al levamisol, recomendando si ven tales manchas, se informe a un profesional de la salud inmediatamente.

Bertol E y colaboradores (7) refieren: "Presentamos aquí los resultados de los estudios in vivo que demuestra por primera vez, que el levamisol no sólo en equinos, sino también en el metabolismo de caninos y humanos puede dar lugar a la formación de aminorex" (5-fenil-4,5-dihidro-1,3-oxazol-2-amina, un estimulante similar a anfetaminas). Su trabajo se basó en la determinación de muestras de orina por extracción líquido-líquido y luego identificar y cuantificar mediante GC-MS (identificación por tres iones por sustancia, LLOQ en 0.15ng/ml para ambos).

El levamisol "eleva los niveles de péptidos opioides en varias zonas del cerebro, lo mismo que la codeína y la morfina", concluye Nancy Y Zhu y colaboradores, toxicólogos clínicos de la Universidad de Alberta que han estudiado el levamisol en la cocaína. (8)

Se sabe que la cocaína es un psicoestimulante cuyo mecanismo de acción es bloquear el sistema de transporte de la membrana de la terminación nerviosa en el sistema adrenérgico causando acumulación de la noradrenalina en los receptores (9-11). El levamisol por su lado es un antihelmíntico e inmunomodulador que pertenece a una clase de derivados sintéticos del imidazotiazol, considerado un producto psicoactivo que actúa como un agente de eliminación de parásitos que mata a los gusanos a través de la estimulación de su receptor de acetilcolina (ACTH) provocando la contracción y la parálisis muscular después de que los gusanos provoquen daños, siendo el receptor de la ACTH es responsable de la euforia (12,13).

## **Materiales y Métodos**

### **Población**

Se ensayaron los efectos individuales, mezclas de cocaína y levamisol en 120 biomodelos específicamente ratones de la línea NMRI machos, no consanguíneos, convencionales limpios mantenidos bajo barrera (alimento tratado calóricamente, esterilización de agua, encamado, cajas y rejillas) aire filtrado y personal con vestuario específico para el área experimental.

Los biomodelos correspondían a  $n = 48$ , clasificados como adultos-jóvenes (14), con pesos promedios de  $28.7 \pm 3$  gramos, los cuales fueron divididos en 6 grupos de 20 animales cada uno, identificados así: grupo control (A), grupo bajo administración de cocaína (B), grupo bajo administración de cocaína-levamisol, 60:40 (C), grupo bajo administración de cocaína-levamisol, 70:30 (C-1), grupo bajo administración de cocaína-levamisol, 80:20 (C-2) y grupo bajo administración de levamisol (D).

La experiencia se realizó por un lapso de 6 semanas consecutivas (45 días), tiempo en el cual el 50% de los biomodelos previo a la toma de sangre para análisis

hematológicos (hemoglobina, cuenta blanca, hematocrito, tiempo de coagulación) y bioquímica clínica (transaminasa y creatinina) fueron sacrificado por la técnica de dislocación cervical y sometidos a autopsia donde aparte de observar hallazgos anatomopatológicos, se tomaron muestras de regiones cerebral identificadas microscópicamente para estudios posteriores de neurotransmisores y proteínas, para estudios histoquímicos se tomaron muestras de hígado, riñón, bazo y tumores presentes. El resto de los animales se sometieron a apareos con hembras no consumidoras para evaluar daños genéticos. Estos estudios (neurotransmisores, proteínas y efectos teratogénicos) se encuentran en marcha en nuestro grupo de investigaciones (GITAEF) con apoyo del Grupo de Microscopia Electrónica de nuestra Universidad, para posteriormente ser publicados.

### **Toma de muestras**

Las muestras de sangre antes, durante y fin del experimento se tomaron vía retro-orbital, las mismas fueron transferidas directamente del capilar (volumen aproximado de 2 ml) a tubos ependorf rotulados, etiquetados y refrigerados hasta su análisis.

Las muestras de vísceras y órganos previa identificación fueron guardadas en contenedores de polietileno rotulados y etiquetados, conservadas en formaldehído hasta su posterior análisis histoquímicos.

Las regiones del cerebro identificadas y seccionadas microscópicamente se almacenaron en ependorf manteniendo la cadena de frío, para evitar procesos enzimáticos que alteraran los resultados, fueron trasladadas inmediatamente al Laboratorio de microscopía electrónica, para análisis de neurotransmisores aminoácidos por HPLC, los dopaminérgicos por técnicas electroquímicas y microscopía electrónica de regiones del cerebro y órganos para observar daños directos a nivel celular.

---

## **Preparación y administración de las soluciones**

Las soluciones a inyectar se preparan a partir de las sustancias caracterizadas previamente, las cuales fueron solicitadas a la Fiscalía en materia de drogas del Estado Mérida-Venezuela, las cuales fueron cedidas previamente al proceso de incineración por parte del Tribunal de control numero 5. Las mismas eran provenientes de incautaciones del primer trimestre del año 2011 en la región andina venezolana. Excepto la muestra de cocaína la cual es un patrón certificado de la casa Merck-Alemania y el levamisol obtenido comercialmente. Se caracterizaron químicamente por espectrofotometría ultravioleta con posterior confirmación de su idoneidad y porcentajes de mezclas por CG-MS.

Se prepararon soluciones madres de 100 ppm a partir de la cual se preparaban patrones estándares de 10 ppm. La solución madre se preparó semanalmente, tiempo en el cual se hidrolizaba la droga, los estándares de 10 ppm se mantenían en solución fisiológica y protegidos de la luz.

El levamisol en solución fisiológica presento estabilidad por diez días.

Las sustancias evaluadas se administraron vía intramuscular, las dosis se calcularon semanalmente por peso corporal y tomando como referencia la DL50 reportada para estas sustancias (15,16).

En promedio general se administraban 40 microlitros, inmediatamente se procedía a las observaciones de los grupos, llevando control de su ingesta de alimentos, agua, motilidad, conducta, actividad psicomotora, frecuencia cardiaca, actividad respiratoria y cambios fisiológicos externos tales como: observación de las pupilas, piel, cambios en coloración de los pelos, volumen de orina, observación de las heces, vascularización en orejas, colas, nariz, entre otros.

## **Análisis estadístico de los resultados**

Los resultados obtenidos se analizaron en el programa estadístico *Statistix 7.0 for Windows*. Se trabajo con un 95% de confianza. Los grupos estudiados fueron identificados como se muestran en la Tabla I.



## 1.- Evaluaciones generales

Estas evaluaciones comprendieron monitoreo diario de ingesta de agua, alimentos, motilidad, actividad psicomotora, respiratoria, cardiovascular, volumen excretado de orina, observación macroscópica y microscópica de las heces.

Las evaluaciones generales mostraron que el 80% de los animales ensayados e identificados con las letras C, C-1 y C-2 (tres concentraciones de la mezcla en estudio) aumentaron la ingesta de agua y disminuyeron la ingesta de alimentos. Este mismo grupo inmediatamente a la dosis (5 minutos) mostraba signos claros de prurito, incoordinación psicomotora, (bajo las rejillas realizaban volteretas y caminaban boca arriba (Figura 1) y en los encamados movimientos en círculos con cambios rápidos de dirección), fuertes conductas de agresividad entre ellos. Estos efectos duraban aproximadamente 3 horas.

Caso contrario al grupo B (cocaína sola) donde los efectos comenzaban pasado los 15 minutos de administración de la dosis y duraban por espacio de 1 hora. No se observó agresividad, pero si una estimulación, probablemente por el efecto propio de la droga.

El grupo D (levamisol solo) no mostró cambios conductuales, ni hábitos alimenticios significativos, mas si cambios severos en piel con sangrados y lesiones tipo necrosis, que también resulto evidente y marcado en el grupo C, independientemente del porcentaje de mezcla, coincidiendo la aparición de los daños dérmicos a la tercera semana en grupo C, mas marcado en el de proporción 60:40, y cuarta semana en grupo D. En las Figuras 2-5 se muestran estas lesiones dérmicas. Ambos grupos (C y D) expelían olores putrefactos en piel. Cabe destacar que las lesiones mostradas en las extremidades inferiores no fueron de interés, debido a que las mismas eran producto de irritación por administración de las sustancias, sin embargo, por la parte interior mostraron desgarro de piel no atribuible a la zona de administración.

El grupo C y D en general presento un 20% de mortalidad entre la tercera y quinta semana, con diagnostico de causa de muerte insuficiencia renal con posterior infarto. El resto de los grupos no presento mortalidad.

La frecuencia cardiaca y respiratoria se presentó elevada tanto en el grupo B, C y D. Sin embargo, el grupo A (control con suero fisiológico) también manifestó este signo aunque menos leve. Lo que nos hizo pensar que podría ser producto del stress de recibir la administración de las respectivas sustancias ensayadas y no fue considerado como una manifestación clínica. Ver figura 2, 3, 2 y 5.

## **2.- Evaluaciones de parámetros hematológicos y bioquímicos**

El análisis estadístico aplicado a los valores obtenidos en las pruebas de diagnóstico hematológicas durante el desarrollo de esta investigación, reveló diferencias significativas para las variables hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), tiempo de coagulación (Tc) y formula blanca (Fb) en la interacción Grupo-Tiempo.

Los valores obtenidos en las pruebas de diagnóstico hematológicas, perfil hepático (transaminasa) y renal (creatinina) durante los muestreos realizados a cada una de los biomodelos controles (A), fueron comparados con los valores de los biomodelos de los grupos B, C, C-1, C-2 y D, usando un análisis de varianza para efectos fijos y un contraste de inferencia. Las diferencias en el promedio  $\pm$  desviación estándar (DE) de cada variable según los grupos y tiempos fueron consideradas estadísticamente significativas con valores de  $p < 0,05$  y  $p < 0,01$ .

### **2.a-Parámetros hematológicos.**

En la tabla II, se detallan los valores hematológicos reportados como normales por la literatura (17-19) y los resultados obtenidos, los cuales se discuten a continuación. Al inicio del experimento todos mostraron niveles dentro de lo reportado como normal por la literatura, sin embargo, a la tercera semana de administración de las respectivas dosis, se evidenciaron alteraciones hematológicas con diferencias significativas con respecto al grupo control, siendo estadísticamente significativo ( $p=0,002$ ) en los grupos cocaína-levamisol. Los promedios obtenidos en el grupo A la Hb expresada en g/dl, fue de  $16.36 \pm 0.34$ , en grupo B,  $11,11 \pm 1,34$ , el grupo C mostró resultados inferiores a las

mezclas C-1 y C-2 pero no significativo estadísticamente ( $P= 0,10$ ). En promedio general el grupo C arrojó valores  $10,83 \pm 0,92$ . El grupo D mostró valores promedios  $12,19 \pm 3,29$ .

El Hto, expresado en porcentaje, observo igual comportamiento,  $31,67 \pm 0,58$ ,  $29,33 \pm 1,53$ ,  $28,67 \pm 3,05$ ,  $25,00 \pm 5$ ,  $25,66 \pm 5,51$  y  $27,27 \pm 4,94$  para los grupos A, B, C, C-1, C-2 y D, conociendo que el mismo da información del porcentaje ocupado por glóbulos rojos del volumen total de la sangre. La disminución de glóbulos rojos en la sangre es una anemia. Hay numerosos factores que pueden contribuir a desarrollar una anemia, como la baja en la ingesta de hierro, o pacientes con enfermedad renal crónica, que no generan suficiente eritropoyetina para estimular la producción de glóbulos rojos en la médula ósea. Se puede relacionar igualmente con diferentes condiciones, como hemorragia o leucemia (20,21). En nuestro caso puede asociarse a daños a nivel del sistema inmunológico, observado al realizar las autopsias donde se encontró el bazo hipertrofiado (esplenomegalia) de los biomodelos, siendo más significativos en los grupos C y C-1, seguido del grupo D y C-2. El grupo B observo valores similares al C sin diferencia significativa con un  $p= 0,85$ .

La Fb, específicamente los neutrófilos (%) los cuales son una de las defensas básicas frente a las infecciones, mostro valores de  $60,33 \pm 0,58$ ,  $58 \pm 2,65$ ,  $55 \pm 5$ ,  $55 \pm 5$ ,  $50,67 \pm 3,51$  y  $55,67 \pm 6,51$ . La disminución de los neutrófilos aumenta el riesgo de procesos infecciosos. Esta brusca disminución indico una tendencia de agranulocitosis o neutropenia en el grupo C y D, caso contrario ocurrió con los eosinófilos (%) que aumentaron corroborando presencia de algún evento de tipo infeccioso, el cual podemos asumir se trataba en el caso del grupo C y D a lo presentado en piel con un prurito producido tras la administración de las sustancias. Los valores promedios obtenidos para los grupos A, B, C, C-1, C-2 y D, respectivamente fueron  $2,80 \pm 0,0$ ,  $3,07 \pm 0,40$ ,  $3,57 \pm 0,70$ ,  $3,77 \pm 0,8$ ,  $3,83 \pm 0,76$  y  $3,6 \pm 0,72$ . Los Tc, expresados en segundos fueron los siguientes  $249,67 \pm 0,58$ ,  $262,33 \pm 9,29$ ,  $276,67 \pm 30,55$ ,  $280 \pm 32,79$ ,  $279,33 \pm 31$  y  $270 \pm 20$  respectivamente para los grupos A, B, C, C-1, C-2 y D. Estos resultados nos hacen presumir que el levamisol al mezclarse con la cocaína aumenta los Tc, trayendo como consecuencia una deficiencia de vitamina K, cofactor indispensable para la

activación de las proteínas de la coagulación, por lo que su deficiencia prolonga Tc, mostrando estos resultados algún daño a nivel hepático, hematoma (acumulación de sangre debajo de la piel), infección (un riesgo leve en cualquier momento que se presente ruptura de la piel) que fue lo observado en estos modelos animales. Ver Tabla II.

### **3.-Bioquímica hemática**

Los parámetros bioquímicos evaluados fueron creatina y transaminasas, en la Tabla III, se muestran los resultados obtenidos y sus valores normales de referencia.

#### **3a.-Transaminasas**

Los valores promedios de transaminasas encontrados en nuestros modelos animales fueron de  $20.17 \pm 0.28$ ,  $28 \pm 8$ ,  $31.67 \pm 10.40$ ,  $31 \pm 9.84$ ,  $29.33 \pm 8.62$  y  $25.63 \pm 5.03$  para los grupos A, B, C, C-1, C-2 y D respectivamente.

Las transaminasas constituyen un excelente marcador de lesión hepatocelular. Participan en la gluconeogénesis al catalizar la transferencia de grupos amino del ácido aspártico o alanina del ácido cetoglutarico para producir ácido oxalacético y pirúvico, respectivamente. Su valor normal de referencia en ratones machos adultos es de 21.7-46.5 mg/dl.

#### **3b.- Creatinina**

Los valores promedios de creatinina encontrados en nuestros modelos animales fueron de  $0.9 \pm 0.0$ ,  $0.96 \pm 0.04$ ,  $1.1 \pm 0.26$ ,  $1.2 \pm 0.35$ ,  $1.2 \pm 0.30$  y  $1.16 \pm 0.25$  para los grupos A, B, C, C-1, C-2 y D respectivamente.

La creatinina está en el cuerpo principalmente en forma de fosfato de alta energía. La creatinina es una sustancia muy difusible y distribuida de manera uniforme en el agua corporal. Se elimina del plasma aproximadamente en la tasa de filtración glomerular.

Al estudiar la excreción de creatinina, tiene valor el hecho de que los niveles séricos de creatinina casi no son afectados por la creatinina exógena de los alimentos, por la edad, el sexo, el ejercicio o la dieta. Por lo tanto los niveles elevados solamente se presentan cuando se altera la función renal (22,23).

Las causas de creatinina alta incluyen enfermedades renales e insuficiencia renal, con disminución de la filtración glomerular; obstrucción del tracto urinario; reducción en el flujo sanguíneo que incluye infarto y fallo cardíaco, shock y deshidratación (24,25). Es de mencionar que a la cuarta semana de experimentación fallecieron 02 animales del grupo C-2, a la quinta semana uno del grupo C-1 y a la sexta semana 1 del grupo D con diagnóstico de insuficiencia renal y consiguiente colapso cardiovascular.

La medición de los niveles de creatinina en sangre proporcionan la misma información para el diagnóstico y pronóstico de la función renal que la obtenida por la medición del nitrógeno ureico. Su valor de referencia en ratones adultos machos es de 0,7 - 1,3 mg/dl. Ver Tabla III.

#### **4.-Hallazgos anatomopatológicos**

Los hallazgos encontrados se describen en la Tabla IV, en la misma se observa que los biomodelos bajo administración de cocaína-levamisol independientemente de los porcentajes mostraron daños marcados a nivel cardiovascular, hepático, renal y bazo, mostrando estos tres últimos órganos hipertrofia. En su mayoría revelaron atrofia de los órganos genitales y presencia de tumores. En la Figura 6 se observan estos hallazgos. Ver Tabla IV.

#### **Discusión de resultados**

Existen pocos trabajos registrados por la literatura sobre este binomio cocaína-levamisol. Sin embargo, los existentes son bastante claros al referir que este binomio causa severos daños a nivel del sistema inmunológico y dérmico. Coincidiendo con lo encontrado por nuestro grupo de investigación en modelos animales, que por su

característica genética permiten extrapolar los resultados encontrados al humano. Existen reportes que aseguran que este tipo de corte a la cocaína se viene informando desde el año 2008, pero no es hasta 2009-2010 cuando su impacto en la salud humana es estudiado.

Catherine Chungn (26) reporta que la mezcla o adulteración de cocaína con levamisol produce un tipo de daño dérmico asociado con vasculitis, neutropenia y que esta combinación es un verdadero y alarmante caso de salud pública. Registró que seis pacientes desarrollaron un color púrpura de la piel con manchas necróticas en las orejas, la nariz, las mejillas y otras partes de su cuerpo y, en algunos casos, sufrieron cicatrices permanentes después de haber consumido cocaína. Menciona que médicos de San Francisco, EEUU, ya habían denunciado dos casos similares. Otros han informado también que los usuarios de cocaína adulterada con levamisol desarrollaron un trastorno llamado agranulocitosis, letal en el 7% al 10% de los pacientes, relacionado con el sistema inmunológico. En imagen cedida por *Dr. Noah Craft la investigadora* Chungn muestra los daños (Imagen 1) donde al extrapolarla a nuestros ratones es coincidente con los daños observados sobre todo en el grupo C, el cual contenía la proporción más alta de levamisol y mostrado en la Figura 2.

Igualmente Science Daily (27) el 23 de junio de 2011) refiere que la cocaína adulterada con levamisol es desencadenante de un proceso de descomposición de la piel y la muerte: "Si las razones obvias de evitar el uso de drogas no están fuera de alcance suficiente, los médicos tienen otra consecuencia perjudicial para agregar a la lista - áreas crujiente y de color púrpura de la piel muerta que son muy dolorosas y puede abrir la puerta a las infecciones desagradables". La imagen 2, lo demuestra y es igualmente coincidente con nuestras observaciones.

Noreen M. G. Walsh y colaboradores (6)) describen dos pacientes de sexo femenino de 39 años y 49 años consumidores de cocaína y lo relacionan con la púrpura retiforme, que afecta principalmente a las piernas. El perfil inicial clínico y serológico en el caso 1 ha dado lugar a una sospecha de síndrome antifosfolípido y en el caso 2 a la granulomatosis de Wegener con una neutropenia asociada inexplicable. Refieren los

investigadores que biopsias de piel revelaron un patrón mixto de vasculitis y trombosis microvascular en el caso 1 y la trombosis microvascular pura en el caso 2. Identificaron anticuerpos anti-HNE en los pacientes. El patrón mixto vasculopático en el caso 1 y la neutropenia asociada en el caso 2, se conocen como efectos adversos de levamisol, apuntan a este como el verdadero agente etiológico. Toxicología de orina poco después de un "atacón" de consumo de cocaína en cada caso fue positivo para el levamisol. Finalmente comentan que casos publicados de púrpura retiforme relacionados con el consumo de cocaína son poco frecuentes y que se ha postulado el papel etiológico del levamisol, un adulterante común de la cocaína.

En nuestro trabajo de investigación encontramos hallazgos coincidentes, pues la purpura retiforme es una condición en la que el individuo en este caso el biomodelo se ve afectado por hemorragias bajo la piel, para producir inicialmente manchas de color rojo, que finalmente, se volvieron de color morado, luego pardo-amarillento y posterior putrefacción de la piel. Lewinda Knowles (28) y colaboradores reportan cinco casos de neutropenia severa (recuento de neutrófilos  $<0,5$  por  $10^9$  células / L) asociados con la exposición a la mezcla de cocaína y levamisol, agente antihelmíntico que ya no está disponible en Canadá. Los mismos concluyen que se necesita más investigación para establecer métodos para que los consumidores de cocaína puedan detectar la presencia de levamisol y estudios para cuantificar la dosis requerida para que el levamisol produzca una neutropenia. La neutropenia asociada a la cocaína adulterada con levamisol presenta un problema importante de salud pública emergente en Canadá. Para los médicos, conocer este diagnóstico diferencial en neutropenias, puede asegurar un manejo adecuado de los casos. En el presente estudio se encontró que solo con un 20% de levamisol en la mezcla con cocaína es capaz de inducir neutropenia, y daños severos en piel. Sin embargo, las mezclas con mayor proporción de levamisol fueron las que evidenciaron mayor daño dérmico.

Es atinente aquí recordar la frase de Eric Lavonas, mencionada en la introducción y recientemente publicada en el diario *The Herald* (29).

---

## Conclusiones

Los resultados obtenidos refuerzan el concepto sobre la necesidad de conocer la composición química de las sustancias ilícitas que se incautan, lo que permite mejor control y tomar medidas de prevención sanitaria en los consumidores eventuales.

La putrefacción de la piel observada es causada por el levamisol, que al ser mezclado con la cocaína potencia este efecto, siendo entonces más intenso en las mezclas con cocaína que solo. Este es tal vez un daño que debe poner en alerta a la comunidad médica y a los propios consumidores.

El "corte" (adulteración) de cocaína con levamisol produce daños a nivel del sistema inmunológico, predisponiendo al organismo a daños hematológicos, como agranulocitosis o neutropenia, así como también daños a nivel renal y hepático.

Como se mencionara antes, el levamisol mata los parásitos intestinales por estimulación del receptor de acetilcolina que provoca la contracción y la parálisis muscular y este receptor sería el responsable de la euforia, por lo que podemos presumir que la agresividad mostrada en estos modelos animales se explicaría por interactuar el levamisol con receptores de acetilcolina. El levamisol no sólo podría actuar aumentando la vida media de la cocaína, sino que también podría reforzar su uso a través de un sistema adicional de neurotransmisores.

Se han programado estudios para evaluar daños genéticos y efectos en el sistema nervioso central (específicamente sobre neurotransmisores aminoácidos y dopaminérgicos) en nuestro grupo de investigaciones.

El mensaje final sigue siendo el mismo, consumir cocaína es altamente tóxico y muchas veces mortal. Asociada con levamisol es peor aún que sola.

## Agradecimientos

-A los modelos animales que hicieron posible esta experiencia, héroes de toda investigación científica, que nos permiten extrapolar estos primeros resultados a nuestra población vulnerable al consumo de drogas en pro de su calidad de vida e informar a la



comunidad científica el daño potencial de este agente de corte. A ellos nuestro agradecimiento eterno.

-A la Oficina Nacional Antidrogas (ONA) por el apoyo financiero para la realización de este estudio.

-Al Teniente Coronel Douglas González, Director del Observatorio Venezolano de Drogas y su equipo, siempre presente y presto a colaborar en cada una de las necesidades que se presentaron a lo largo de este primer camino.



Figura 1.- Muestra de hiperactividad con duracion de mas de 2 horas, hasta su agotamiento.



Figura 2.- Daños causados en piel en grupo C



Figura 3.- Daños causados en piel grupo C-1



Figura 4.- Daños causados en piel, grupo C-2



Figura 5.- Daños causados en piel del Grupo D

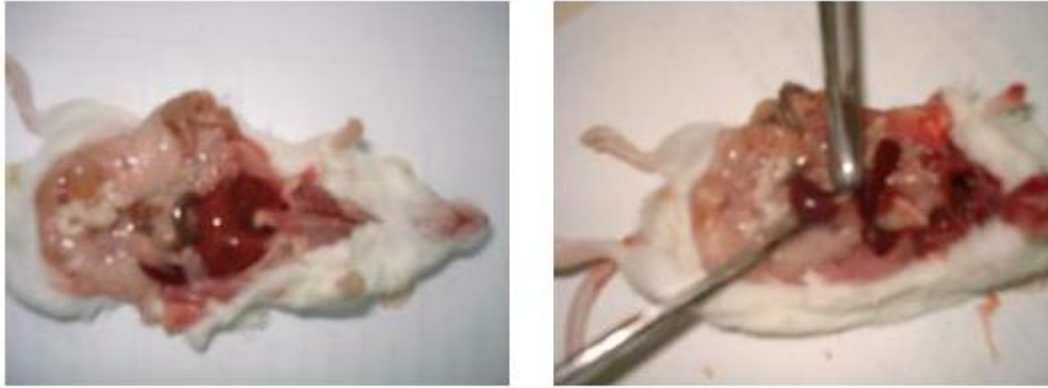


Figura 6.- El biomodelo de la izquierda muestra hipertrofia hepática y el derecho muestra esplenomegalia y riñón hipertrofiado



Imagen 1.- Los médicos advierten de una epidemia de salud pública potenciales después de tratar a los pacientes con reacciones cutáneas graves después de que los pacientes habían fumado o inhalado cocaína cree que está contaminado con un medicamento veterinario. (Crédito: Dr. Noah Craft)



Imagen 2. Púrpura o muerte de la piel. (Crédito: Imagen cortesía de la Universidad de Rochester Medical Center)

**Tabla I.- Identificación de los grupos bajo estudio**

Grupo	Identificación	Numero (n=)
A	Control (solución Fisiológica)	n=20
B	Cocaína	n=20
C	Cocaína- levamisol 60:40	n=20
C-1	Cocaína- levamisol 70:30	n=20
C-2	Cocaína- levamisol 80:20	n=20
D	Levamisol	n=20

**Tabla II.- Valores hematológicos normales en ratones y obtenidos en nuestro estudio desglosado por grupo-tiempo.**

Grupo-tiempo	Hemoglobina (g/dl)	Hematocrito (%)	Tiempo coagulación (segundo)	Formula blanca (%) (neutrófilos y eosinófilos)
Normal*	10-20	35-45	120-600	(N)neutrófilos 55 a 70 (E)eosinófilos 1 a 4
A-inicio	16.45	32	250	N=60, E= 2.8
semana 3	15.98	31	249	N=61, E= 2.8
semana 6	16.65	32	250	N=60, E= 2.8
B-inicio	15.98	31	252	N=60, E= 2.7
semana 3	12.45	28	265	N=59, E= 3.0
semana 6	12.90	29	270	N=55, E= 3.5
C-inicio	16	32	250	N=60, E= 2.9
semana 3	11.95	28	270	N=55, E= 3.5
semana 6	9.00	26	310	N=50, E= 4.3
C1-inicio	15.85	30	250	N=60, E= 2.9
semana 3	10.98	25	275	N=55, E= 3.9
semana 6	9.86	20	315	N=50, E= 4.5
C2-inicio	15.58	31	248	N=61, E= 3.0
semana 3	12.00	26	280	N=54, E= 4.0
semana 6	9.00	20	310	N=47, E= 4.5
D-inicio	16.15	31.80	250	N=62, E= 2.8
semana 3	12.05	28	270	N=56, E= 3.8
semana 6	12.0	22	290	N=49, E= 4.2

\*Normales de referencia: tener en cuenta que hay influencias considerables de raza, sexo y edad en estas cifras y hay que utilizar animales de la misma edad y sanos como controles.

**Tabla III. Niveles de creatinina y transaminasa normales en ratones y obtenidos en nuestro estudio desglosado por grupo-tiempo.**

Grupo-tiempo	Creatinina (mg/dl)	Transaminasa (mg/dl)
Normal*	0.7 - 1.3	21.7-46.5
A-inicio	0.9	20
semana 3	0.9	20.5
semana 6	0.9	20
B-inicio	0.9	20
semana 3	0.98	28
semana 6	0.99	36
C-inicio	0.9	20
semana 3	1.0	35
semana 6	1.4	40
C1-inicio	0.9	20
semana 3	1.2	34
semana 6	1.6	39
C2-inicio	0.9	20
semana 3	1.3	31
semana 6	1.5	37
D-inicio	0.9	20
semana 3	1.2	26
semana 6	1.4	30

\*Normales de referencia: tener en cuenta que hay influencias considerables de raza, sexo y edad en estas cifras y hay que utilizar animales de la misma edad y sanos como controles.

**Tabla IV. Hallazgos anatomopatológicos.**

Grupo	corazón	riñón	páncreas	hígado	bazo
A	normal	normal	normal	normal color rojo normal	normal
B	Hipertrofia leve, marcada en lado derecho	Hipertrofia leve	Hipertrofia leve	Hepatomegalia moderada color parduzco con tintes amarillos leves	esplenomegalia moderada
C	Hipertrofia leve, órgano de color rosa pálido	Hipertrofia moderada	Hipertrofia moderada	Hepatomegalia moderada esteatosis	esplenomegalia fuerte
C-1	Hipertrofia leve, órgano de color rosa pálido	Hipertrofia moderada	Hipertrofia moderada	Hepatomegalia moderada esteatosis	esplenomegalia fuerte
C-2	Hipertrofia leve, órgano de color rosa pálido	Hipertrofia moderada	Hipertrofia moderada	Hipertrofia moderada esteatosis	esplenomegalia fuerte
D	Hipertrofia leve, órgano de color rosa pálido	Hipertrofia moderada	Hipertrofia moderada	Hepatomegalia moderada esteatosis	esplenomegalia fuerte

Nota: En la vesícula, no se observaron daños relevantes, mas en el estomago del grupo C y D se evidencio sangrado.

---

## Referencias Bibliográficas

1. Bradford M, Rosenberg B, Moreno J, Dumyati G. "Bilateral necrosis of earlobes and cheeks: another complication of cocaine contaminated with levamisole". *Ann. Intern. Med.* (2010); 152 (11): 758-9.
2. R. Baselt, *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*, 9th edition, Biomedical Publications, Seal Beach, CA. (2011);901-902.
3. Moisse, Katie (2011-06-23). Fuente:"Cocaine Laced With Veterinary Drug Levamisole Eats Away at Flesh". ABC News. Fuente: <http://abcnews.go.com/Health/Wellness/flesh-eating-cocaine-laced-veterinary-drug-levamisole/story?id=13902353>. Acceso Junio 2011.
4. Eric Lavonas, One-Third of US Cocaine Laced with Dangerous Veterinary Medicine. Fuente: <http://promises.com/promisesnews/articles/cocaine/one-third-of-us-cocaine-laced-with-dangerous-veterinary-medicine>. Acceso mayo 2011.
5. Noah Craft, Doctors see rise in adverse reactions to drug found in cocaine. Fuente: [http://www.dailybreeze.com/lifeandculture/ci\\_18317195](http://www.dailybreeze.com/lifeandculture/ci_18317195). Acceso Julio 2011.
6. Noreen M. G. Walsh, Peter J. Green, Rufus W. Burlingame, Sylvia Pasternak, John G. Hanly. Cocaine-related retiform purpura: evidence to incriminate the adulterant, levamisole. *Journal of Cutaneous Pathology.* (2010); 37 (12): 1212-19.
7. Bertol E, Mari F, Milia MG, Politi L, Furlanetto S, Karch SB. Determination of aminorex in human urine samples by GC-MS after use of levamisole. *J Pharm Biomed Anal* (2011); 15; 55(5):1186-9.
8. Nancy Y Zhu, Donald F. LeGatt, A Robert Turner. "Agranulocytosis After Consumption of Cocaine Adulterated With Levamisole". *Annals of Internal Medicine.* (2009); 150 (4): 287-289.
9. Manuel Repetto, Guillermo Repetto Kuhn. *Toxicología fundamental*. Ediciones Díaz de Santos, Madrid. 2009.
10. Darío Córdoba. *Toxicología*. Ediciones Manual Moderno, 5ª edición. Bogotá. 2006.



- 11.**Guillermo Burillo-Putze, Santiago Nogué-Xarau, Jose Suárez-Peláez, Antonio Dueñas-Laita. Documento de consenso sobre bloqueadores de los receptores betaadrenérgicos y consumo de cocaína. Revista Española de Cardiología (2007); 60(12).
- 12.**Dustin K. Williams, Jingyi Wang, Roger L. Papke. Positive allosteric modulators as an approach to nicotinic acetylcholine receptor-targeted therapeutics: Advantages and limitations. Review Article. Biochemical Pharmacology, In Press. Fuente: <http://www.sciencedirect.com>. acceso: 7 May 2011.
- 13.**Michael D. Lorenz, Joan R. Coates, Marc Kent. [Localization of Lesions in the Nervous System](#). Handbook of Veterinary Neurology:(2011); (Fifth Edition) , Pages 37-57
- 14.**Robert Quinn, DVM. Comparing rats to human age: How old is my rat in people years? Editorial Opinion, Journal Nutrition. (2005); 21(4): 775-77.
- 15.**R. Wennig. Laboratory diagnosis of poisonings.Human Toxicology. 1996: 25-236
- 16.**Osvaldo A. Curci. Cocaína. Cuadernos de Medicina Forense (2008); 2(2):65
- 17.**William Medway, D.V.M., James E. Prier, John S. Wilkinson. Patología Clínica Veterinaria. Editorial UTEHA, México. 1990.
- 18.**B. M. Bush, Manual del Laboratorio Veterinario de Análisis Clínicos. Editorial ACRIBIA Zaragoza -España.1982.
- 19.**K.V.F Jubb, Peter C. Kennedy. Patología de los animales domésticos. Editorial LABOR. 1973.
- 20.**Benjamin Herms, Michael Kaplon, Michael Baumann. Agranulocytosis in cocaine users in Ohio: Suspected levamisole taint.Leukemia Research.In Press, Corrected Proof, Fuente :<http://www.sciencedirect.com/> 3. acceso: Junio 2011
- 21.**Ruiz Reyes, Guillermo. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio (2ª ED.). Editorial PANAMERICANA. España 2008.



- 22.** M. Picazo Sánchez , M. Cuxart Pérez , F. Martín Romero, R. Sans Lorman . Consumo de cocaína, hipertensión arterial y enfermedad renal crónica. *Nefrología* (2010); 30(6):706-707
- 23.** Furaz K, Bernis C, Cirugeda A, Pérez A, Sánchez JA. Infarto renal e insuficiencia renal aguda por consumo de cocaína. *Nefrología* (2008); 3:347-9.
- 24.** Guillermo Burillo-Putze, Óscar Miró, Alberto Domínguez-Rodríguez, Santiago Nogué Xarau. Síndrome coronario agudo y cocaína: la punta del iceberg *Medicina Clínica* (2010); 135 (11), 9:527-29.
- 25.** Bankole Johnson, Dennis Overton, Lynda Wells, Paul Kenny, David Abramson, Sukhjinder Dhothar, Y. Richard Chen, Patrick Bordnick. Effects of acute intravenous cocaine on cardiovascular function, human learning, and performance in cocaine addicts .*Psychiatry Research*.(1998): 77(1): 35-42.
- 26.** Catherine Chung, Paul C. Tumeo, Ron Birnbaum, Belinda H. Tan, Linda Sharp, Erin McCoy, Mary Gail Mercurio, Noah Craft. Characteristic purpura of the ears, vasculitis, and neutropenia—a potential public health epidemic associated with levamisole-adulterated cocaine. *Journal of the American Academy of Dermatology* (2011).  
Fuente: <http://www.sciencedirect.com/> . Acceso: Julio 2011.
- 27.** Fuente: <http://www.sciencedaily.com/releases/2011/06/110620094427.htm>. Acceso: Junio 2011.
- 28.** Lewinda Knowles, Jane Buxton, Nataliya Skuridina, James Talbot. Levamisole tainted cocaine causing severe neutropenia in Alberta and British Columbia. *Harm Reduct J*. (2009); 6(1):30-35.
- 29.** Fuente: Tomado de: <http://www.elnuevoherald.com/>. Fecha de acceso: Junio 2011.

**Recibido: 27/07/11**

**Aceptado: 05/08/11**