



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO  
INMUNIZACIÓN ACTIVA EN LA ADICCIÓN A  
LA NICOTINA**

Autor: Patricia Amalia Sánchez Vega

Fecha: Junio 2019

Tutor: Estefanía Patricia Hernández Benito

# INMUNIZACIÓN ACTIVA CONTRA LA ADICCIÓN A LA NICOTINA: ¿ES POSIBLE UN FUTURO LIBRE DE TABACO?

## Contenido

RESUMEN Y ABSTRACT .....	3
RESUMEN.....	3
ABSTRACT:.....	3
OBJETIVOS .....	3
MATERIALES Y MÉTODOS .....	4
INTRODUCCIÓN .....	4
PAPEL DE LA NICOTINA EN LA ADICCIÓN AL TABACO:.....	4
ESTRATEGIAS ACTUALES PARA DEJAR DE FUMAR.....	5
RESULTADOS.....	6
1.1 VACUNAS CONJUGADAS .....	6
1.2 VACUNAS NANOPARTICULARES .....	12
1.3 VACUNAS MULTIVALENTES .....	13
1.4 VACUNAS BASADAS EN RECOMBINACIÓN GENÉTICA .....	14
¿SE QUERRÍA VACUNAR LA POBLACIÓN EN CASO DE EXISTIR VACUNA? CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	14
¿PRECIO DE UNA VACUNA CONTRA LA NICOTINA? .....	16
DISCUSIÓN .....	16
CONCLUSIÓN .....	17
BIBLIOGRAFÍA.....	17

## RESUMEN Y ABSTRACT:

### RESUMEN:

El hábito de fumar se ha demostrado que es el principal causante de un gran número de enfermedades de forma directa o indirecta (y su consecuente carga para el sistema sanitario) pero que, sin embargo, está muy aceptado por la sociedad. A nivel mundial hay un estimado de 1,2 billones de personas que están expuestos a la nicotina o productos derivados del tabaco (Jain, R. *et al.*, 2013) y, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), si se siguen con los actuales patrones de consumo, se estima que fumar será la causa de más de 8 millones de muertes en el año 2030. Por otro lado, la mayoría de los fumadores de tabaco que intentan dejarlo, recaen en el hábito a corto o largo plazo con las terapias actuales (Hartmann-Boyce, J. *et al.*, 2012), lo que deja un panorama desolador tanto a nivel económico como personal. ¿Podría ser la creación de una vacuna contra la nicotina la respuesta a esta pandemia?

Desde hace más de 10 años se están llevando a cabo esfuerzos para sacar al mercado una vacuna eficaz contra la Nicotina, pero hasta el momento todos los intentos han sido infructuosos.

*Palabras clave: nicotina, inmunización, tabaco, vacuna*

### ABSTRACT:

Smoking is the main cause of many illnesses (both directly and indirectly). This comes with an enormous cost for the Public Health System and for the population. There's an estimate of 1,2 billion people worldwide that are exposed to nicotine or other products obtained from it. This is a cause of great concern to the World Health Organization, that published an article stating that smoking will cause 8 millions deaths during 2030 if the patterns of consume are kept up as today. However, those who try to stop smoking mostly fail even with the therapies that are available today. This is the reason why scientists are focusing on an alternative treatment to enhance the chance of breaking the habit: active immunization against nicotine.

It's been more than 10 years since the research began, but all the efforts have been unsuccessful.

*Keywords: nicotine, immunization, tobacco, vaccine*

## OBJETIVOS:

Los objetivos en este estudio han sido:

- Revisión de los tratamientos utilizados actualmente para la Deshabitación Tabáquica.
- Revisión de la inmunización activa como herramienta para tratar la adicción a la nicotina. Progresión del desarrollo de la misma.
- Revisión de los diferentes tipos de vacunas en fase de desarrollo.
- Revisión de los problemas éticos y económicos de estas posibles vacunas.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

En este estudio se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica donde conceptos como aspectos generales de la nicotina (mecanismo de acción, metabolismo, etcétera) y sobre el Sistema de Recompensa Dopaminérgico, se han obtenido de la Real Farmacopea Española y de libros de texto respectivamente. Además, se ha obtenido toda la información relativa a la inmunización activa a través de publicaciones científicas y artículos publicados en revistas de elevado prestigio como MEDLINE (mediante PubMed) ó *Google Academics*. De igual forma, se ha recabado información de publicaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS, *WHO* en inglés) y la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC) entre otras, llevando a cabo un cribaje de aquellas publicaciones lo más actuales y concluyentes posibles.

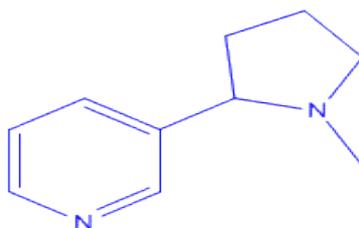
## INTRODUCCIÓN:

### *PAPEL DE LA NICOTINA EN LA ADICCIÓN AL TABACO:*

El contenido del humo del tabaco es muy variado. Según informes publicados por la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC), dicho humo está compuesto por más de 4 mil sustancias, de las cuales 69 están descritas como altamente tóxicas y cancerígenas. Entre dichas sustancias se encuentra, por supuesto, la nicotina, pero también monóxido de carbono, alquitranes, arsénicos etc. ¿Por qué es tan importante pues el papel de dicho alcaloide? Porque se considera que la Nicotina es la principal responsable de la adicción al tabaco (Wadgave, U. *et al.*, 2016).

Al inhalarse el humo del tabaco, la nicotina tarda unos 7 segundos en llegar al torrente sanguíneo a través de los alvéolos (Goniewicz, M. *et al.* 2013) y en 20 segundos al cerebro. Allí, se une a los receptores nicotínicos cerebrales (nAChR's, sobre todo al subtipo  $\alpha 4\beta 2$ , Zalewska-Kaszubska J., 2015) lo que provoca una liberación de dopamina (DA) al *Nucleus Accumbens*, de forma que se activa el Sistema de Recompensa en el fumador. Esta activación desencadena a su vez, un sentimiento de satisfacción que promueve, posteriormente, que la persona quiera volver a experimentar la misma sensación. Es esta sensación la que hace, por tanto, que la persona vuelva a fumar. (Hartmann-Boyce, J. *et al.*, 2012).

Cuando la exposición a la nicotina se alarga en el tiempo, el número de receptores cerebrales a los que se une aumenta. Esto se traduce en un aumento de tolerancia hacia la misma y, por tanto, en un aumento en la cantidad de cigarrillos fumados para intentar llegar al nivel de dopamina liberada en ocasiones anteriores (Jain, R. *et al.*, 2013).



3-(2-(N-metilpirrolidinil)) piridina

IMAGEN 1: Molécula de nicotina.

### ***ESTRATEGIAS ACTUALES PARA DEJAR DE FUMAR:***

Hoy en día existen varias alternativas terapéuticas para aquellos fumadores que deseen dejar el hábito. Estas terapias se conocen en su conjunto como Terapias de Reemplazamiento de la Nicotina o Terapias de Deshabitación Tabáquica e incluyen parches transdérmicos, chicles de nicotina, inhaladores, sprays nasales, tabletas sublinguales y medicación administrada por vía oral.

Dentro de la gran variedad de presentaciones existentes, podemos encontrar diferentes concentraciones de Nicotina (ej: chicles Nicorette ® de 2 y 4 mg).

De todo el arsenal disponible, por su efectividad, debemos destacar el uso del Bupropion y de la Vareniclina.

- **BUPROPION:** es un antidepresivo que actúa a nivel neuronal evitando de forma selectiva la recaptación de catecolaminas. Según su ficha técnica, se desconoce realmente como lleva a cabo su mecanismo antidepresivo, aunque se sospecha que tiene que ver con las vías adrenérgica y la dopaminérgica. A nivel de la terapia de deshabitación, se cree que el aumento de los niveles de DA y noradrenalina llevan a una activación de la vía de recompensa neuronal de la misma forma que si estuviera la nicotina unida a su receptor.

En diversos ensayos se ha advertido que durante la terapia con Bupropion, los participantes no notaban síndrome de abstinencia, ansiedad, hiperfagia, etc en comparación con el placebo. (Jain, R. *et al.*, 2013 )

- **VARENICLINA:** en ficha técnica aparece este principio activo como un agonista parcial de los receptores nicotínicos cerebrales  $\alpha 4\beta 2$ , de forma que en presencia de la nicotina actuaría como antagonista de la misma, evitándose por tanto, la activación del Sistema Mesolímbico Dopaminérgico. Debido a dicho mecanismo de acción, es efectiva a la hora de evitar los signos y síntomas del síndrome de abstinencia y además se evita el sentimiento placentero que actúa como refuerzo para continuar fumando.

Se han publicado estudios donde se evidencia que los pacientes tratados con Vareniclina tienen un mayor éxito respecto a los tratados con placebo tras varias semanas de tratamiento y de deshabitación.

También es importante mencionar las entrevistas al paciente y el asesoramiento, que deben ser incluidos en la Terapia de Deshabitación Tabáquica. Estas acciones se enmarcan dentro de la Atención Farmacéutica y, por tanto, deben ser llevadas a cabo por los profesionales farmacéuticos según lo establecido en la cartera de servicios de Farmacia Comunitaria. (*Foro de Atención Farmacéutica en Farmacéutica Comunitaria, 2009*).

Se ha demostrado que en su conjunto, las Terapias de Deshabitación hacen que aumente un 70% la tasa de abandono del tabaco al año tras la fecha de inicio de privación tabáquica (Mills *et al.*, 2010). Sin embargo, el hecho de llevar a cabo solo 1 año de seguimiento puede sobrevalorar la verdadera eficacia de la terapia, ya que en dichos estudios no parece tenerse en cuenta la cronicidad de la adicción (Etter *et al.*, 2006).

## RESULTADOS

Se han intentado realizar nuevas aproximaciones a la problemática de cómo tratar las adicciones y la búsqueda de nuevas alternativas para ellas es una de los mayores retos de la medicina actual. En este sentido, el tratamiento de la adicción a la Nicotina es una de las más investigadas (Zalewska-Kaszubska J., 2015).

En cualquier caso, estas vacunas están ideadas para el tratamiento de la adicción y para evitar recaer en el hábito, no para prevenir comenzar a fumar.

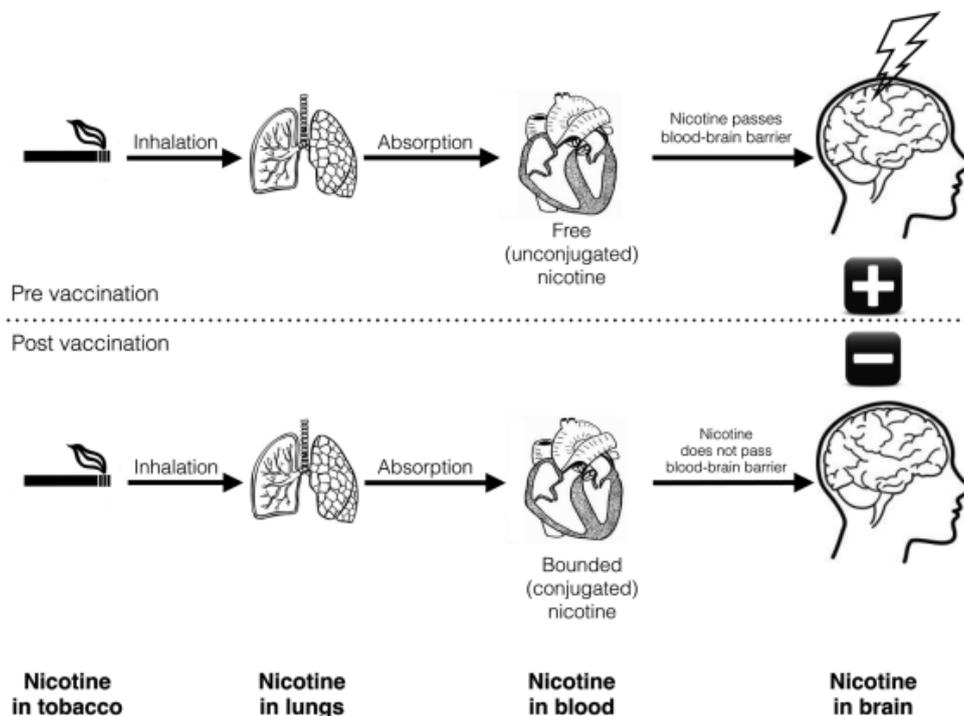


IMAGEN 2: Mecanismo de acción de una vacuna contra la nicotina

El nuevo abordaje mediante la inmunización activa, se basa en estimular el sistema inmune del propio paciente, de forma que se generen anticuerpos contra la molécula causante de la adicción. Así, dichos anticuerpos se unirían a su antígeno correspondiente, formándose un complejo de un tamaño demasiado grande para atravesar la Barrera Hematoencefálica (BHE). Siguiendo esta estrategia lo que se busca es evitar la unión de la molécula adictiva con su receptor correspondiente en el cerebro o enlentecer el paso de la misma a través de la BHE (Goniewicz, M. *et al*, 2013).

En nuestro caso, la nicotina es la molécula que actuaría como antígeno y, de por sí, este alcaloide tiene un tamaño demasiado pequeño para estimular a nuestro sistema inmunitario, por lo que se han elaborado diversos mecanismos de reconocimiento.

Actualmente, están en estudio varios tipos de vacunas cuyo fin es actuar contra la Nicotina: vacunas conjugadas; vacunas nanoparticulares, vacunas multivalentes y vacunas basadas en recombinación genética, las cuales se describen a continuación:

### 1.1 VACUNAS CONJUGADAS:

Las vacunas conjugadas presentan una estructura en principio simple. Constan de:

- 1) **Hapteno:** molécula de nicotina natural o un derivado de la misma. Se ha observado que en la mayoría de ensayos utilizan un derivado de la molécula de nicotina y no la molécula de origen natural (ejemplo: 3'-AmNic-rEPA ó NicVAX, tiene como hapteno 3' amino nicotina).  
Actúa como epítopo de las células B, lo que permite que dichas células maduren y produzcan anticuerpos específicos.
- 2) **Proteína Carrier:** dado que la nicotina no es una molécula inmunogénica, necesita de una proteína que sea capaz de ser reconocida por el Sistema Inmune para generar la consiguiente respuesta humoral y los anticuerpos deseados.  
Los carriers actúan como los epítopos de las células Th, y estas a su vez actúan facilitando la maduración de las células B.
- 3) **Adyuvante:** su función en el preparado vacunal es la de aumentar la inmunogenicidad de la vacuna. Esta acción se lleva a cabo o bien al reconocerse el adyuvante como una molécula extraña, o simulando un daño tisular.  
Usualmente en humanos se utiliza el aluminio, pero también otros están en estudio. Un ejemplo son los oligodesoxinucleótidos (CpG), que ha demostrado que en combinación con aluminio aumenta la respuesta a determinados preparados vacunales (McCluskie *et al.*, 2015).
- 4) **Linker:** cadenas de diversa naturaleza cuya función es la unión de la molécula de nicotina que actúa como hapteno y la proteína Carrier. Un ejemplo de Carrier utilizado en algunas de las vacunas conjugadas estudiadas es un derivado del Ácido succínico.  
Un linker ideal permitiría la unión al Carrier del mayor número de moléculas de Nicotina posibles con una geometría adecuada para optimizar la presentación a los linfocitos B.

Este tipo de vacuna fue la primera en desarrollarse y diversos laboratorios han intentado elaborar su propia versión con diferentes haptenos y carriers (en cualquier caso se mantuvo en la mayoría de ellos el aluminio como adyuvante):

- **NicVAX** (Nabi Biopharmaceuticals/GlaxoSmithKline): en su estructura se utiliza como hapteno la 3' amino nicotina y como carrier los grupos amino terminales de la exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa* (modificada de forma que la molécula no presenta toxicidad). Ambos se unen gracias a un linker de naturaleza aminoacídica. En las primeras fases de los ensayos clínicos, demostró que en modelos animales descendía la cantidad de Nicotina que alcanzaba el cerebro en un 12%, bloqueando por tanto los efectos de la misma (aumento de presión arterial, aumento en la liberación de ACTH...) (Fahim *et al.*, 2013).

En un estudio llevado a cabo en 2011 por Hatsukami *et al.*, se demostró que aquellos pacientes que alcanzaban una mayor concentración de anticuerpos anti – nicotina, tenían más probabilidades de conseguir dejar el hábito y de no recaer en él.

Hablamos de un ensayo de Fase II, multicéntrico, randomizado, doble ciego y en el que había un control por placebo. Se basó en administrar 2 dosis distintas de NicVAX (200 y 400 µg respectivamente) a los pacientes siguiendo dos pautas distintas. A uno de los grupos se le administró 4 dosis de la vacuna durante 6 meses mientras que al otro se le administraron 5. Al final, se consiguieron 4 grupos de pacientes: dosis de 200 µg con 4 administraciones de vacuna; dosis de 200 µg con 5 administraciones; dosis de 400 µg con 4 inyecciones y dosis de 400 con 5 inyecciones. Tras cada administración aumentaba el título de anticuerpos en el suero, siendo la media alcanzada de 45 µg/mL.

Se llegó a la conclusión que aquellos tratados con la dosis más alta y con un mayor número de administraciones conseguían una mayor concentración de anticuerpos y tenían una mayor tasa de abstinencia a los 6 y 12 meses respecto al placebo que los otros grupos. Estos datos confirman que la hipótesis planteada es correcta, y que se deben mantener los esfuerzos en aras de encontrar una formulación optimizada. (Hatsukami *et al.*, 2011). Posteriormente a este estudio, el estudio de esta molécula progresó hasta ensayos de Fase III.

Es muy importante remarcar que esta vacuna es la única que ha conseguido llegar a ensayos de Fase III, pero, a pesar de lo prometedor de los anteriores estudios, no se observaron unos niveles de eficacia de la vacuna superiores al placebo. Se intentó incluso aumentar el número de dosis de la misma para intentar obtener un resultado significativo respecto al placebo, pero sin resultados (Fahim *et al.*, 2013, McCluskie *et al.*, 2015).

- **NicQβ** / CYT002 (Cytos Biotechnology/Novartis): en el diseño de esta vacuna se conjuga el hapteno con un VLP (*Virus – Like – Particle*). Los VLP's son fragmentos altamente repetitivos de un antígeno como, por ejemplo, la cápside de un virus o proteínas víricas, que son reconocidos por nuestros sistemas inmunológicos provocando intensas respuestas humorales. En este caso, se ha utilizado la exoproteína A de *Pseudomonas aeruginosa* obtenida a partir de recombinación genética en *Escherichia coli*.

Esta molécula ha llegado hasta ensayos de Fase II, donde ha demostrado seguridad y ser altamente inmunogénica, pero, a la hora de la eficacia, no ha obtenido una diferencia significativa respecto al placebo. Es cierto, sin embargo, que se llevó a cabo un ensayo clínico a cargo de Cornuz *et al.* durante el 2008, en el que se observaron resultados similares a los ya explicados anteriormente en el ensayo llevado a cabo por la doctora Hatsukami.

Los resultados tanto de Hatsukami como de Cornuz dejan claro que, aunque el planteamiento es el correcto (ya que sí se obtienen anticuerpos anti-nicotina), hay una gran variabilidad interindividual a la hora de obtener una respuesta sostenida y con un nivel de anticuerpos adecuado. Esto debería solucionarse con un mejor diseño de la vacuna que permita obtener un nivel de anticuerpos suficientemente alto como para conseguir el objetivo: evitar el paso de la nicotina a través de la BHE.

- **Niccine** (Independent Pharmaceutica): en este caso el carrier utilizado fue el toxoide tetánico. Actualmente se ha abandonado este proyecto, ya que a pesar de que sí que se conseguía una respuesta, no era suficientemente fuerte como para

marcar una diferencia significativa con el placebo. Es decir, la abstinencia del grupo vacunado con esta molécula no fue diferente a la del grupo placebo.

Los desarrolladores indicaron que la cantidad de anticuerpo producida de media (1,34 µg/mL) podría unir 2 ng/mL de nicotina solamente y, si tenemos en cuenta que la concentración de nicotina media en un fumador es de entre 15 y 30 ng/mL, entendemos el resultado obtenido, que es lejano al deseado (Tonstad *et al.*, 2013).

- **TA-NIC** (Celtic Pharma): actualmente hay muy poca información disponible sobre el desarrollo de esta vacuna. Sólo Goniewicz *et al.* en su trabajo del 2013, ha publicado información sobre esta molécula. Según este autor, este preparado se basa en la unión de la nicotina a toxina B colérica recombinante. Igualmente, apuntan a que el desarrollo de esta vacuna ha llegado hasta la Fase II, en la que nuevamente se llegó a la misma deducción que anteriormente: la obtención en mayor cantidad de anticuerpos anti-nicotina es dosis dependiente (a mayor concentración del preparado vacunal, mayor concentración de anticuerpo obtenido).

En inicio, los resultados aportados por este autor aparentan ser prometedores, pero debemos tener en cuenta que la información sobre TA-NIC es muy limitada y hay que esperar a la publicación de los resultados oficiales.

Estas vacunas, a pesar de ser el punto de inicio en la carrera para conseguir una inmunización válida, tienen grandes limitaciones debidas, en parte, a su propio diseño. El cual se ha centrado en buscar los lugares de unión a la nicotina más adecuados, tamaño del linker más conveniente y naturaleza química del mismo, número de moléculas de nicotina conjugadas al carrier que produzcan una mayor respuesta inmunológica y el propio carrier.

Así, podemos decir que este planteamiento, a pesar de ser en inicio el más estudiado, tiene diversas limitaciones que debemos diferenciar en limitaciones del diseño y limitaciones a nivel biológico:

- **LIMITACIONES DE DISEÑO:**

- o **ENANTIÓMERO DE LA NICOTINA USADO COMO HAPTENO:** los anticuerpos son capaces de enantiodiferenciar las moléculas. Así, el uso de un hapteno racémico puede conducir a la obtención de una baja respuesta humoral (Lockner *et al.*, 2014).

El uso de un compuesto enantiopuro levógiro en el caso de la nicotina, da una mayor inmunogenicidad que utilizar la mezcla de enantiómeros (ya que, de forma natural, la mayor parte de la nicotina es levógira, **Monografía Nicotina**). De hecho, se ha demostrado que la vacuna (+)-nicotina es cuatro veces menos eficaz que su versión (-)-nicotina.

- o **DISEÑO DEL ANTÍGENO NO OPTIMIZADO:** tanto en NicVAX como en NicQβ se ha unido el linker a la molécula de nicotina a través del carbono 3' del anillo de pirrolidina. La unión a través del anillo pirrólico ha demostrado que da como resultado un mayor número de anticuerpos, pero no una mayor funcionalidad de los mismos. Sin embargo, la unión a un

linker a través del anillo de piridina sí aumenta la especificidad de los anticuerpos.

Por otro lado, se observó que las modificaciones llevadas a cabo en el linker no producían un aumento en la cantidad de anticuerpos producidos pero que, si se utilizaban linkers largos de naturaleza hidrofílica o linkers rígidos, sí se obtenían menores cantidades de anticuerpos (*Pryde et al., 2013*)

Es necesario mencionar, igualmente, que la unión entre el anillo pirrólico y el anillo pirrolidínico en la nicotina permite la rotación entre los mismos. Estudios llevados a cabo por **Moreno et al. (2012)** demuestran que si se restringe dicha rotación, aumenta la inmunogenicidad.

○ **TIPO/USO DE ADYUVANTE NO ÓPTIMO**: dado que se utilizan subunidades de microorganismos como carriers (en vez del microorganismo entero por motivos de seguridad), se debe utilizar un adyuvante para aumentar la respuesta del sistema inmunológico al haber perdido éstos capacidad inmunogénica. Se ha demostrado que el uso de varios adyuvantes conjuntamente, da como resultado una mayor cantidad de anticuerpos (*Pryde et al., 2013*).

Es cierto que, a pesar de que muchos de los adyuvantes han sido utilizados ampliamente (sobre todo las Sales de Aluminio), éstos también presentan inconvenientes como, por ejemplo, que algunos de ellos sólo se pueden administrar de forma parenteral; la disminución en los niveles de la vacuna o su inactivación tras la congelación etc.

#### - LIMITACIONES A NIVEL BIOLÓGICO:

○ **DEGRADACIÓN RÁPIDA, BAJA BIODISPONIBILIDAD Y BAJA PERSISTENCIA**: se ha demostrado en los estudios antes mencionados que es necesario conseguir un título alto de anticuerpos que secuestren la nicotina para que la vacuna lleve a cabo la acción deseada. Sin embargo, en los diversos ensayos clínicos se observó un descenso paulatino de los anticuerpos (vida media de 2 meses), cuyos niveles subieron significativamente tras una dosis de recuerdo de la vacuna (*Hatsukami et al., 2011; Cornuz et al., 2008*). Se ha postulado que este descenso se puede deber a una degradación enzimática rápida de los carriers y a un aclaramiento no específico por el cuerpo humano (*Hu et al., 2016*).

○ **BAJA AFINIDAD DE LOS ANTICUERPOS GENERADOS**: no sólo es importante el título de anticuerpos generados en plasma del individuo, sino también la afinidad de los mismos por la molécula de nicotina. Las vacunas antes mencionadas son capaces en muchos casos de generar cantidades importantes de anticuerpos, pero con una afinidad baja. Este hecho puede ser una de las respuestas a por qué no han conseguido resultados clínicos aceptables.

Para poder medir la afinidad de los anticuerpos, se utiliza la  $K_d$  (Constante de Disociación), que se definiría en este caso como la concentración de nicotina a la cual la mitad de los sitios de unión de los anticuerpos están ocupados. Por lo tanto, si la concentración de Nicotina es superior a la  $K_d$ , estamos en un punto cercano a la saturación y viceversa. Así, la obtención de anticuerpos con baja afinidad puede ser una de las causas de los resultados obtenidos en los ensayos de estas vacunas (Pentel *et al.*, 2014).

- **PROBLEMAS EN LA DENSIDAD DE HAPTENO:** en teoría, a mayor densidad de hapteno (es decir, epítomos reconocibles por células B), habrá un mayor reconocimiento por parte de los linfocitos B de los mismos, una mayor internalización y una mayor probabilidad de que linfocitos B naïve se acaben transformando en células capaces de generar anticuerpos específicos.

A la hora de comparar diferentes formulaciones de posibles vacunas, no se ofrecen los datos de la densidad de hapteno de las mismas o simplemente no se miden, dificultando dicha comparación. Como es obvio, la densidad de hapteno de una preparación es crucial a la hora de entender cuán inmunógena es dicha preparación (Pentel *et al.*, 2014).

Por otro lado, dependiendo de si hay una alta o baja densidad de hapteno en la superficie del conjugado, se obtiene de forma mayoritaria una respuesta Th1 o Th2 respectivamente, lo que, en su conjunto, nos permite comprender la importancia de saber este dato (Storni *et al.*, 2005).

Si hacemos un estudio del perfil de seguridad de estas vacunas, vemos que son relativamente seguras ya que se han identificado muy pocos efectos adversos durante los ensayos clínicos de las mismas. En general, se observaron un mayor número de efectos adversos asociados a la vacuna en el caso de NicQ $\beta$ . Tanto en NicVAX como para Niccine, la reactogenicidad fue más bien moderada (Pentel *et al.*, 2014).

En el caso de NicQ $\beta$ , la mayor parte de efectos adversos fueron moderados, correspondiéndose la mayoría con una sintomatología similar a la de una gripe, pero hasta en este caso no se observaron diferencias respecto al grupo placebo (Cornuz *et al.*, 2008). Datos muy similares a los anteriores fueron recogidos por los pacientes en el caso de Hatsukami *et al.*, 2011, estudio en el cual se recogieron datos relacionados con efectos adversos hasta 52 semanas después de a última inyección. Por tanto, **Pentel *et al.* (2014)** postula que la mayoría de estas reacciones no deseadas son debidas al adyuvante utilizado (sales de aluminio).

Debemos advertir que debido a que hay un gran número de diseños distintos en fase de desarrollo, no se puede afirmar que el comportamiento respecto a seguridad de las vacunas, sea igual para todas. Ello se observa en las distintas reacciones adversas catalogadas en los estudios antes mencionados. Por tanto, habría que estudiar cada vacuna en particular a la hora de hablar sobre su seguridad.

## 1.2 **VACUNAS NANOPARTICULARES:**

Las nanopartículas han sido revolucionarias en las últimas décadas dada su eficacia a la hora de presentar antígenos, vehiculizar medicamentos a su lugar diana, capacidad de atravesar membranas etc. Se basan en sistemas generalmente lipídicos con fosfolípidos y colesterol en su superficie, aunque también los podemos encontrar con diseños diversos (ejemplo: nano-horns, con un núcleo de grafeno recubierto por la capa lipídica).

Estos sistemas son una herramienta muy útil que, en el caso que nos incumbe, puede llegar a superar a las vacunas conjugadas al evitarse los inconvenientes de las mismas. Además, las nanopartículas cuentan de diversas ventajas, ya que se ha demostrado que tienen gran biocompatibilidad, estabilidad, seguridad y biodegradabilidad, todo ello gracias a la naturaleza de los biopolímeros.

Se considera que este tipo de vacuna se internaliza de forma más eficaz, debido en parte a que los biomateriales que la forman pueden llevar a cabo una liberación dirigida a las Células Presentadoras de Antígeno (APC, como las células dendríticas) y a la tendencia antes explicada de las células del sistema inmune de captar de una forma más eficaz elementos particulares que elementos disueltos.

Es importante mencionar que el “nanocarrier” de la vacuna no es inmunogénico, lo que evita que el sistema inmune actúe contra él y no contra la molécula deseada.

En diversos papers publicados en los que se desarrollan algunos tipos de nanopartículas con un derivado de nicotina en su superficie, sólo hemos encontrado una, SEL-068, que haya sido probada en primates no humanos y haya avanzado a estudios de Fase I. El resto está todavía en fases tempranas de desarrollo.

En uno de estos trabajos, el equipo de [Zhao et al. \(2017\)](#) ha estudiado ha creado series de nanovacunas con la nicotina como hapteno. Esta batería de nanovacunas contenía el hapteno o bien conjugado al carrier (diseño A), a la superficie de la nanopartícula (diseño B) o a ambos (diseño C). La finalidad que perseguía este grupo de investigación, es observar qué diseño obtenía una mayor respuesta inmune y, por tanto, en cuál se obtenía una reducción más significativa de la entrada de nicotina al cerebro. Se concluyó que los diseños más eficaces era el B y el C. Sin embargo, en el diseño C se observó que se obtenía por un lado, una alta cantidad de anticuerpos y un balance entre la respuesta Th1/Th2 más adecuado y, por otro, se evitaba en mayor proporción el paso de la nicotina a través de la BHE.

El mismo equipo en trabajos posteriores, observaron igualmente que el tamaño de la nanopartícula sí influye en la farmacocinética y en la respuesta del Sistema Inmune obtenida. Se ha demostrado con anterioridad, que nanopartículas tipo liposoma con tamaños inferiores a 500 nm tienen un mejor rendimiento a la hora de obtener una respuesta inmune ([Hu et al., 2016](#)). En esta publicación de Zhao et al. (2017) se llegó a una conclusión similar al comparar nanopartículas de diversos tamaños.

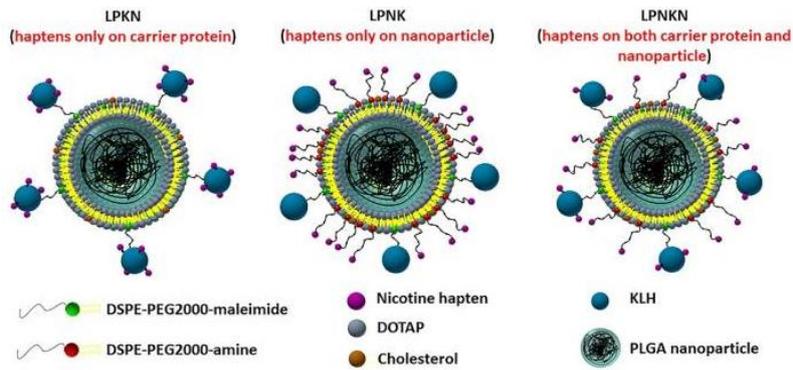


IMAGEN 3: Esquema de nanopartículas utilizadas por Zhao et al, 2017

Por otro lado, en estudios de **Hu et al. (2014)** se planteó la creación de nanopartículas con adyuvante en el interior de la misma y con el hapteno unido a un Carrier en el exterior. Este diseño buscaba mantener el adyuvante en la composición para tener una mayor respuesta inmune, pero intentar evitar una respuesta inmunológica contra el mismo. Consiguieron una nanovacuna con un título de anticuerpos muy superior al blanco (adyuvante conjugado a nicotina) de forma que es uno de los diseños más prometedores estudiados.

Respecto a **SEL-068** (Selecta Biosciences), es la única vacuna de este tipo que ha llegado a ensayos clínicos de Fase I. Según los datos ofrecidos por Selecta Biosciences, SEL-068 está compuesta por una matriz polimérica, un agonista de TLR (*Toll-Like Receptor*), un péptido de reconocimiento para linfocitos T, y el antígeno de nicotina conjugado a la nanopartícula que debe ser reconocido por los linfocitos B.

Desde la rueda de prensa en el 2012 anunciando que entraba en Fase I, no se han publicado más resultados sobre este proyecto en humanos. En otros primates, sin embargo, sí se han publicado estudios (preclínicos, por supuesto) en los que se demuestra que esta vacuna evita los efectos producidos por la nicotina sin afectar a otros principios activos que actúan sobre receptores nicotínicos (**Desai et al., 2016**).

### 1.3 VACUNAS MULTIVALENTES :

Una estrategia paralela que se ha seguido es la obtención de vacunas multivalentes. Estas consiste en la combinación de 2 o más inmunógenos distintos que de forma que el SI genere anticuerpos contra todos ellos. Esta táctica se ha utilizado de forma amplia en otras vacunas, como por ejemplo la del Meningococo.

Mediante el uso de una vacuna multivalente se obtendría una respuesta aditiva en lo que a anticuerpos se refiere, pero a partir diferentes poblaciones de linfocitos B (cada una especializada en la producción de anticuerpos para un inmunógeno distinto).

Una de las principales ventajas de esta estrategia es que aquellos individuos que son no respondedores o que producen una baja concentración de anticuerpos frente a un inmunógeno determinado, pueden responder intensamente contra otro.

**Zeigler et al.** ha seguido esta estrategia, creando una vacuna bivalente con 2 haptenos distintos: (-) 3'AmNic and (-) 1'SNic. De esta forma, se generaron péptidos conjugados que, tras ser administrados en animales, obtuvieron el resultado previsto.

También se pudo comprobar que en la población murina de estudio tras la administración de una dosis de lo que se correspondería con un gran consumo de cigarrillos (12), se evitó el paso al cerebro del 85% de la Nicotina.

#### 1.4 **VACUNAS BASADAS EN RECOMBINACIÓN GENÉTICA:**

Otro de los proyectos que se han investigado se basa en el uso de un vector de transferencia de un virus adenoasociado (AAV) que exprese un alto nivel de anticuerpos anti-nicotina en ratones. Así, en primer lugar se obtuvo un anticuerpo monoclonal de alta afinidad a la nicotina (NIC9C) cuya secuencia codificante fue posteriormente introducida en el vector AAV.rh10 (que proporciona una mayor expresión génica en ratones en comparación con otros serotipos, [Hu et al., 2010](#)).

En ratones en los que se les administró dicho vector con la secuencia incluida, se obtuvieron concentraciones de anticuerpos anti-nicotina que respondían a un patrón dosis-dependiente. Es decir, aquellos a los que se les administró una mayor cantidad de copias, respondían con una mayor producción de anticuerpos a partir de la cuarta semana. En esta población murina, se observó que se evitaba que un 15% de la nicotina alcanzase el cerebro incluso a concentraciones de nicotina correspondientes a un fumador crónico, evitándose por tanto los efectos centrales de la misma. También se pudo observar que una disminución de la presión sanguínea y bradicardia (en respuesta a la administración del alcaloide), respuesta contraria a la que se produce cuando se fuma.

De esta manera, se ha estado demostrando que siguiendo esta estrategia, con una sola administración del vector se consiguen niveles adecuados de anticuerpos y una respuesta aceptable. Por tanto, podría ser una vía para obtener una vacuna optimizada ([Hicks et al., 2012](#)).

#### **A. AAVantiNic (AAVrh.10antiNic.Mab)**

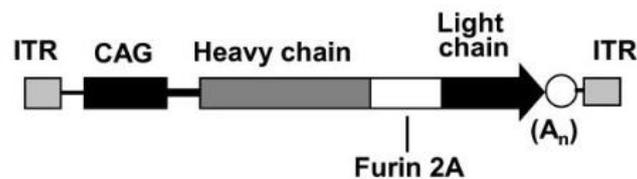


IMAGEN 4: Esquema del vector AAVantiNic

ITR: origen de replicación  
CAG: promotor  
Furin2A: lugar de escisión  
(An): cadena de poliadeninas.

### **¿SE QUERRÍA VACUNAR LA POBLACIÓN EN CASO DE EXISTIR VACUNA? CONSIDERACIONES ÉTICAS.**

En este trabajo estamos investigando la posibilidad de la salida al mercado de una posible vacuna contra la nicotina, asumiendo que será aceptada por la población. A este

respecto, hemos encontrado dos trabajos que se centran en la intención (o falta de ella) de la población de probar este método a la hora de dejar de fumar.

**Leader et al. (2010)** llevaron a cabo un estudio en Estados Unidos en el que se intentó evaluar la aceptación que tendría la inmunización activa contra la adicción a la nicotina y si era relevante para el paciente a la hora de estar interesado o no en la misma saber que la adicción a la nicotina tiene un componente genético.

Para llevar a cabo este estudio, se eligió una población de fumadores a los que se les presentó una teórica descripción de la vacuna. Dicha descripción tenía 2 variantes: en la primera se hacía entender que la adicción a la nicotina estaba influenciada genéticamente, en la segunda versión se hacía entender que la influencia era ambiental. De los casi 500 participantes, más de la mitad estaría dispuesto a probar este nuevo método y sólo un 20% estaría en contra.

Dentro de esta población, aquellos pacientes con un historial de intentos de dejar de fumar son los que estarían más abiertos a la posibilidad de probar una vacuna de estas características.

Tras el estudio de los datos, se observó que el hecho de presentar la adicción a la nicotina como si tuviera base genética o ambiental, no varió las intenciones de los participantes de utilizar este nuevo método.

Otro estudio llevado a cabo por **Lieber et al. (2013)** exploran el hecho de si sería aceptable a nivel ético la administración de una vacuna contra la nicotina con fines preventivos en niños y pre-adolescentes (ya que es el momento en el que se empieza a probar productos que contienen nicotina, pero sin ser todavía adictos).

El equipo se planteó varias objeciones de naturaleza ética a dicha administración de la vacuna, pero posteriormente resolvió que la inmunización de niños sería aceptable si se cumpliesen algunos requisitos. Entre ellos, se encuentra que la inmunización resulte en un beneficio claro de forma que incluso los efectos adversos de la misma compensen claramente los daños causados por el tabaco y que se use dicho método sólo en caso de no existir una medida preventiva mejor para evitar el inicio del hábito.

Algunas de las objeciones a la vacunación contra la adicción a la nicotina que se plantearon fueron:

- 1) Pérdida de libertad del individuo a la hora de tomar la decisión de fumar o no.
- 2) Disminución de la responsabilidad personal por los actos llevados a cabo: es decir, un individuo que fume es responsable de las consecuencias que acarrea el fumar. Por el contrario, en el caso de una persona vacunada (con una vacuna eficaz, por supuesto) que nunca se ha habituado al tabaco, ésta puede argumentar que no ha tomado una decisión libre.
- 3) Pérdida de autonomía y autodeterminación.

En otras publicaciones similares se ha encontrado también la objeción de que, en caso de diseñarse una vacuna que no necesitase dosis de recuerdo (es decir, irreversible), se limitaría la opción de en un futuro, utilizar la nicotina como terapia (**Goniewicz et al., 2013**). En cualquier caso, dado que los beneficios de una vacuna de estas características sobrepasan a los inconvenientes (tanto a nivel personal como a nivel del sistema sanitario), la vacunación preventiva con las consideraciones antes mencionadas sería ética.

Es cierto que los daños causados por el tabaco no se ven a corto plazo, al contrario, de forma que hay muchas ocasiones en las que se puede actuar para evitar caer en el hábito. Pero se debería demostrar que dichas actuaciones son igual de eficaces que una teórica vacuna optimizada para evitar dicha adicción.

### **¿PRECIO DE UNA VACUNA CONTRA LA NICOTINA?**

En el caso de estas vacunas en particular, las industrias farmacéuticas catalogan una vacuna de este tipo como un producto de alto riesgo, debido en parte a que el tabaco es legal en la mayoría de países.

Las industrias se lo plantean estas vacunas como arriesgadas debido a que la inversión que se debe llevar a cabo es muy grande, y el posible margen de beneficio se considera relativamente bajo (Shen *et al.*, 2012).

Un estudio de cohortes llevado a cabo en Australia obtuvo como resultados que, ante varios escenarios distintos (con planteamientos de vacunas distintas, distintos precios para las mismas etc), no sería coste-efectivo llevar a cabo un programa de vacunación contra la nicotina, ya que vacunar a la población tendría un precio muy alto para el verdadero efecto sobre la prevalencia del hábito de fumar (Gartner *et al.*, 2012).

No obstante, sí se propuso que, en un caso como este, se limitase la vacunación a aquellos individuos que se encontrasen en mayor riesgo de caer en el hábito (Goniewicz *et al.*, 2013).

En general, dejando a un lado los retos que ya de por sí la optimización de una vacuna contra la nicotina tienen, los inconvenientes (sobre todo a nivel económico) son una de las barreras más importantes a las que se deberá enfrentar la industria farmacéutica en caso de sacar al mercado una vacuna como esta.

## **DISCUSIÓN**

Tras llevar a cabo una revisión amplia de la bibliografía disponible, tenemos que indicar que, actualmente, no parece que una vacuna contra la adicción a la nicotina vaya a ser una alternativa terapéutica real en un futuro próximo. Sin embargo, opinamos que es un enfoque del problema que, con el correcto desarrollo (en aras de obtener una formulación que satisfaga los criterios de eficacia, seguridad y estabilidad) podría aplicarse de forma exitosa.

Por otro lado, si se consiguiese dicha formulación optimizada, habría de plantearse a nivel sanitario y gubernamental qué grupos de población serían susceptibles de recibir la vacuna y las consideraciones éticas que conllevaría dicha decisión. Por supuesto, no se puede llevar a cabo una resolución como ésta sin tener en cuenta el aspecto económico.

Dado que no existe en el mercado ninguna vacuna que se centre en tratar la adicciones como esta, cualquier presupuesto que se plantee es meramente especulativo, pero consideramos que, al menos durante los primeros años de comercialización, no tendrá un precio asequible para todos.

## CONCLUSIÓN

El arsenal terapéutico actual para tratar la deshabituación tabáquica, a pesar de ser amplio, no alcanza los niveles de éxito deseados, lo que hace que antes o después, aquellos fumadores que decidan intentar dejar el hábito, recaigan. Se ha intentado buscar alternativas eficaces a la hora de tratar el tabaquismo, considerando a la nicotina la principal causante de la adicción. Una de estas alternativas es la inmunización activa. Es decir, estimular al sistema inmunitario de forma que se formen anticuerpos contra la molécula de nicotina.

Se han diseñado 4 modelos distintos de posibles vacunas: 1) vacunas conjugadas; 2) vacunas nanoparticulares, 3) vacunas multivalentes y 4) vacunas obtenidas por ingeniería genética.

Las vacunas conjugadas han sido las más estudiadas, pero no hay ninguna disponible en el mercado ya que no demuestran una eficacia suficiente. Los otros 3 tipos de vacunas están en fases de desarrollo muy tempranas, pero los resultados publicados son prometedores.

A pesar de que este tipo de vacuna no está en el mercado, diferentes grupos de investigación ya se han planteado a nivel ético y económico el impacto de una vacuna de este tipo. Por un lado, concluyen que una campaña de vacunación contra la adicción a la nicotina no sería asequible para ningún Sistema de Salud pero que, por otro lado, acotar a determinados grupos poblacionales (fumadores que deseen dejarlo) la vacunación podría ayudar realmente al cese del hábito.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) **Agencia Europea del Medicamento.** *Ficha Técnica O Resumen De Las Características Del Producto Champix, Inn Varenicline Tartrate* [Internet]. [cited 8 April 2019]. Available from: [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/06360001/FT\\_06360001.html.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/06360001/FT_06360001.html.pdf)
- 2) **Asociación Española Contra el Cáncer.** *Componentes del tabaco* [Internet]. Aecc.es. [cited 6 March 2019]. Available from: <https://www.aecc.es/es/todo-sobre-cancer/prevencion/no-fumes/componentes-tabaco>
- 3) **Benne, N., van Duijn, J., Kuiper, J., Jiskoot, W., & Slütter, B.** (2016). *Orchestrating immune responses: How size, shape and rigidity affect the immunogenicity of particulate vaccines.* *Journal of Controlled Release*, 234, 124–134. doi:10.1016/j.jconrel.2016.05.033 .
- 4) **Bremer P, Janda K.** *Conjugate Vaccine Immunotherapy for Substance Use Disorder* [Internet]. 2017 [cited 6 April 2019]. Available from: <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/69/3/298>
- 5) **Chen, X.-Z., Zhang, R.-Y., Wang, X.-F., Yin, X.-G., Wang, J., Wang, Y., Guo, J.** (2019). *Peptide-free synthetic nicotine vaccine candidates with  $\alpha$ -Galactosylceramide as adjuvant.* *Molecular Pharmaceutics*.doi:10.1021/acs.molpharmaceut.8b01095
- 6) **Cornuz J, et al.** *A Vaccine against Nicotine for Smoking Cessation: A Randomized Controlled Trial.* plosone.org. 2008.

- 7) **Desai R.** *Effects of the Nanoparticle-Based Vaccine, SEL-068, on Nicotine Discrimination in Squirrel Monkeys* [Internet]. 2015 [cited 8 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4613610/>
- 8) **Etter JF and Stapleton JA,** *Nicotine replacement therapy for long-term smoking Cessation: a meta-analysis*, *Tobacco Control*, vol. 15, no. 4, pp. 280–285, 2006.
- 9) **Fahim R, et al.** *Therapeutic vaccines against tobacco addiction* [Internet]. 2013 [cited 6 April 2019]. Available from: <https://tandfonline.com/doi/full/10.1586/erv.13.13>
- 10) **Fraser CC, et al.** *Generation of a universal CD4 memory T cell recall peptide effective in humans, mice and non-human primates.* *Vaccine* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.024>
- 11) **Foro de Atención Farmacéutica en Farmacéutica Comunitaria.** *Cartera de Servicios Farmacéuticos en la farmacia comunitaria* [Internet]. FORO DE ATENCIÓN FARMACÉUTICA; 2009 [cited 19 March 2019]. Available from: <https://www.portalfarma.com/inicio/serviciosprofesionales/forofarmaciacomunitaria/comunicaciones>
- 12) **Gartner, C. E., Barendregt, J. J., Wallace, A., & Hall, W. D.** (2012). *Would vaccination against nicotine be a cost-effective way to prevent smoking uptake in adolescents?* *Addiction*, 107(4), 801–809. doi:10.1111/j.1360-0443.2011.03718.x
- 13) **Goniewicz M, et al.** *Nicotine vaccines to treat tobacco dependence* [Internet]. 2013 [cited 6 April 2019]. Available from: <http://dx.doi.org/10.4161/hv.22060>
- 14) **González-Aramundiz J.** *Nanovacunas: nuevas estrategias de inmunización.* *Biotech Magazine* [Internet]. 2014 [cited 6 April 2019];(26):22-27. Available from: [https://issuu.com/nachosaez/docs/revista\\_biotech\\_magazine\\_26](https://issuu.com/nachosaez/docs/revista_biotech_magazine_26)
- 15) **Hartmann-Boyce J, Cahill K, Hatsukami D, Cornuz J.** *Nicotine vaccines for smoking cessation.* *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012, Issue 8. Art. No.: CD007072. DOI: 10.1002/14651858.CD007072.pub2.
- 16) **Hatsukami D.** *Immunogenicity and Smoking Cessation Outcomes for a Novel Nicotine Immunotherapeutic* [Internet]. 2011 [cited 15 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4106715/>
- 17) **Hicks M.** *AAV-directed Persistent Expression of an Anti-nicotine Antibody Gene for Smoking Cessation* [Internet]. 2012 [cited 13 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3622954/>
- 18) **Hoogsteder P.** *The efficacy and safety of a nicotine conjugate vaccine (NicVAX®) or placebo co-administered with varenicline (Champix®) for smoking cessation: study protocol of a phase IIb, double blind, randomized, placebo controlled trial* [Internet]. 2012. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3547752/>
- 19) **Hu C.** *RH10 provides superior transgene expression in mice when compared with natural AAV serotypes for neonatal gene therapy* [Internet]. 2010 [cited 13 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2948027/>
- 20) **Hu Y, Zheng H, Zhang C.** *A novel and efficient nicotine vaccine using nano-lipoplex as a delivery vehicle* [Internet]. 2014 [cited 6 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4181017/>
- 21) **Hu Y.** *The next-generation nicotine vaccine: a novel and potent hybrid nanoparticle-based nicotine vaccine.* *Biomaterials*. 2016;(106):228-239.

- 22) **Jain R, Majumder P, Gupta T.** *Pharmacological Intervention of Nicotine Dependence.* BioMed Research International. 2013.
- 23) **Jones L, McKnight A.** *Biotherapeutics.* Cambridge: RSC Publishing; 2013., Páginas 49–60.
- 24) **Leader A, Lerman C, Cappella J.** *Nicotine vaccines: Will smokers take a shot at quitting?* [Internet]. <http://ntr.oxfordjournals.org/>. 2010 [cited 10 March 2019]. Available from: <http://doi: 10.1093/ntr/ntq015>
- 25) **Lieber S.** *Preventing Sin: The Ethics of Vaccines against Smoking* [Internet]. 2013 [cited 17 March 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4706169/>
- 26) **Lockner J, et al.** *A Conjugate Vaccine Using Enantiopure Hapten Imparts Superior Nicotine-Binding Capacity* [Internet]. 2014 [cited 2 February 2019]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1021/jm501625j>
- 27) **Maurer P.** *A therapeutic vaccine for nicotine dependence: preclinical efficacy, and phase I safety and immunogenicity* [Internet]. 2005 [cited 8 April 2019]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/eji.200526285>
- 28) **McCluskie MJ, Thorn J, Mehelic PR, Kolhe P, Bhattacharya K, Finneman JI, Stead DR, Piatchek MB, Zhang N, Chikh G, Cartier J, Evans DM, Merson JR, Davis HL.** *Molecular attributes of conjugate antigen influence function of antibodies induced by anti-nicotine vaccine in mice and non-human primates.* *Int Immunopharmacol.* 2015 Apr;25(2):518-27.
- 29) **Mills EJ, Wu P., Lockhart I., Wilson K., and Ebbert JO,** *Adverse events associated with nicotine replacement therapy (NRT) for smoking cessation. A systematic review and metaanalysis of one hundred and twenty studies involving 177,390 individuals,* *Tobacco Induced Diseases,* vol. 8, no. 1, article 8, 2010.
- 30) **Mooney M.** *Cigarette Smoking Reduction and Changes in Nicotine Dependence* [Internet]. 2011 [cited 4 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3103717/>
- 31) **Moreno A.** *Probing the protective effects of a conformationally constrained nicotine vaccine* [Internet]. 2012 [cited 6 April 2019]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X12012820>
- 32) **Pentel P, LeSage M.** *New Directions in Nicotine Vaccine Design and Use* [Internet]. 2014 [cited 9 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047682/>
- 33) **Pravetoni M.** *Structurally distinct nicotine immunogens elicit antibodies with non-overlapping specificities* [Internet]. 2012 [cited 12 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3259188/>
- 34) **Pryde, D. C., Jones, L. H., Gervais, D. P., Stead, D. R., Blakemore, D. C., Selby, M. D., McCluskie, M. J.** (2013). *Selection of a Novel Anti-Nicotine Vaccine: Influence of Antigen Design on Antibody Function in Mice.* *PLoS ONE,* 8(10), e76557.doi:10.1371/journal.pone.0076557
- 35) **Shen X, Orson F, Kosten T.** *Vaccines for Drug Abuse* [Internet]. 2012 [cited 9 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3345810/>

- 36) **Sliwinska-Mosson M.** *New Trends In The Treatment Of Nicotine Addiction* [Internet]. 2014 [cited 3 April 2019]. Available from: [http://ptfarm.pl/pub/File/Acta\\_Poloniae/2014/4/525.pdf](http://ptfarm.pl/pub/File/Acta_Poloniae/2014/4/525.pdf)
- 37) **Storni, T., Kundig, T., Senti, G., & Johansen, P.** (2005). *Immunity in response to particulate antigen-delivery systems*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(3), 333–355. doi:10.1016/j.addr.2004.09.008
- 38) **Thomas R. Kosten, Daryl Shorter & David Heekin** (2017): *Current status and future prospects for the development of substance abuse vaccines*, *Expert Review of Vaccines*, DOI: 10.1080/14760584.2017.1378577
- 39) **Tonstad, S., Heggen, E., Giljam, H., Lagerback, P.-A., Tonnesen, P., Wikingsson, LD., Fagerstrom, K.-O.** (2013). *Niccine(R), a Nicotine Vaccine, for Relapse Prevention: A Phase II, Randomized, Placebo-Controlled, Multicenter Clinical Trial*. *Nicotine & Tobacco Research*, 15(9), 1492–1501. doi:10.1093/ntr/ntt003
- 40) **Wadgave U, Nagesh L.** *Nicotine Replacement Therapy: An Overview*. 2016.
- 41) **World Health Organization.** [Internet]. Apps.who.int. 2017 [cited 10 April 2019]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255874/9789241512824-eng.pdf?sequence=1>
- 42) **Zalewska-Kaszubska J.** *Is immunotherapy an opportunity for effective treatment of drug addiction?* *Vaccine* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.09.079>
- 43) **Zeigler, D. F., Roque, R., & Clegg, C. H.** (2017). *Construction of an enantiopure bivalent nicotine vaccine using synthetic peptides*. *PLOS ONE*, 12(6), e0178835. doi:10.1371/journal.pone.0178835
- 44) **Zeigler, D. F., Roque, R., & Clegg, C. H.** (2019). *Optimization of a multivalent peptide vaccine for nicotine addiction*. *Vaccine*. doi:10.1016/j.vaccine.2019.02.003
- 45) **Zhao Z.** *A nanoparticle-based nicotine vaccine and the influence of particle size on its immunogenicity and efficacy* [Internet]. 2017 [cited 13 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5298946/>
- 46) **Zhao Z.** *Rationalization of a nanoparticle-based nicotine nanovaccine as an effective next-generation nicotine vaccine: a focus on hapten localization* [Internet]. 2017 [cited 12 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5544940/>
- 47) **Zheng H.** *Negatively Charged Carbon Nanohorn Supported Cationic Liposome Nanoparticles: A Novel Delivery Vehicle for Anti-Nicotine Vaccine* [Internet]. 2015 [cited 8 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5344192/>

**IMAGEN 1: Molécula de nicotina:** Molécula de Nicotina [Internet]. Química Orgánica. [cited 19 April 2019].

**IMAGEN 2: : Mecanismo de acción de una vacuna contra la nicotina:** **Goniewicz M, et al.** *Nicotine vaccines to treat tobacco dependence* [Internet]. 2013 [cited 6 April 2019].

**IMAGEN 3: Esquema de nanopartículas utilizadas por Zhao et al, 2017:** **Zhao Z.** *Rationalization of a nanoparticle-based nicotine nanovaccine as an effective next-generation nicotine vaccine: a focus on hapten localization* [Internet]. 2017 [cited 12 April 2019].

**IMAGEN 4: Esquema del vector AAVantiNic:** **Hicks M.** *AAV-directed Persistent Expression of an Anti-nicotine Antibody Gene for Smoking Cessation* [Internet]. 2012 [cited 13 April 2019]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3622954/>