

Efecto de diversos antiinflamatorios no esteroideos sobre la síntesis de tromboxano B₂, la excreción renal de sodio y el volumen de orina en el perro



Barbara Poulsen Nautrup y Claus Justus

Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH.

*Artículo publicado en Kleintierpraxis
Volumen 44, Edición nº 4/1999, páginas 281-290*

Efecto de diversos antiinflamatorios no esteroideos sobre la síntesis de tromboxano B₂, la excreción renal de sodio y el volumen de orina en el perro

Barbara Poulsen Nautrup y Claus Justus

RESUMEN

El mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) está basado en la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) y en consecuencia en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas. Desde el descubrimiento de las dos isoformas de la COX (COX-1 y COX-2), los efectos terapéuticos de los AINEs se han atribuido a la inhibición de la COX-2, mientras que los conocidos efectos secundarios son debidos a la inhibición de la COX-1.

Los presentes estudios se diseñaron para investigar los efectos sobre la COX-1 de tres AINEs, meloxicam, ketoprofeno y carprofeno, en plaquetas y riñones del perro. La inhibición de la COX-1 en las plaquetas se valoró indirectamente, en una experiencia *ex vivo*, midiendo la disminución de los niveles de tromboxano B₂. El efecto inhibitor sobre la COX-1 en el riñón se determinó por los cambios en el volumen de orina y en la excreción de sodio.

Meloxicam mostró un escaso efecto sobre la COX-1 en las plaquetas y riñones, carprofeno ejerció un efecto ligeramente más acusado sobre los niveles de TxB₂ y los parámetros renales investigados y ketoprofeno ocasionó una marcada inhibición de la COX-1.

INTRODUCCIÓN

La acción terapéutica y los efectos secundarios potenciales de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) se explican sobre todo por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX). En la actualidad se acepta la existencia de dos isoformas de esta enzima en los tejidos corporales. Se ha comprobado que los tejidos inflamados poseen su propia isoforma (COX-2) que difiere tanto estructuralmente como farmacológicamente de la COX-1, localizada normalmente en tejidos no inflamados (Vane y Botting, 1995). La COX-1 se forma en grandes cantidades en las plaquetas, riñones y mucosa gástrica, siendo responsable del funcionamiento fisiológico de las plaquetas sanguíneas, del caudal sanguíneo renal y de la excreción urinaria. Además tiene propiedades citoprotectoras de la mucosa gástrica, por lo que la COX-1 recibe también la denominación de enzima constitutiva.

La COX-2, por el contrario, se activa únicamente después de una lesión tisular y contribuye a la reacción inflamatoria a través de la formación de

COX-1	COX-2
Isoforma constitutiva	Isoforma inducible
Presente en condiciones fisiológicas normales	Presente en focos inflamatorios
Induce la síntesis de prostaglandinas protectoras	Responsable de la síntesis de prostaglandinas pro-inflamatorias
Su inhibición promueve la aparición de efectos secundarios adversos	Su inhibición determina las propiedades analgésicas y antiinflamatorias de los AINEs



prostaglandinas pro-inflamatorias (Vane y Botting, 1995). Por consiguiente, los deseados efectos terapéuticos de los AINEs se atribuyen a la inhibición de la COX-2, mientras que se considera que los efectos adversos son mediados por la COX-1 constitutiva.

Debido a estos hechos, en la actualidad existe una demanda creciente de clasificar los AINEs según su selectividad COX (Frölich, 1997; Fenner, 1998). En las tablas 1 y 2 se presentan los valores del ratio COX-2/COX-1 de diferentes AINEs.

AINE	Ratio COX-2/COX-1
Meloxicam	0,8
Carprofeno	1
Ácido tolfenámico	16,7
Indometacina	60
Piroxicam	250

Tabla 1: Vane y Botting, 1995.

AINE	Ratio COX-2/COX-1
Diclofenaco	2
Naproxeno	14
Indometacina	27
Ketoprofeno	82

Tabla 2: Cromlish y Kennedy, 1996

(Un ratio < 1 significa menos inhibición de COX-1 en comparación con COX-2; un ratio = 1 corresponde a efectos inhibidores idénticos sobre COX-1 y COX-2, y un valor > 1 corresponde a una inhibición más pronunciada de COX-1 en comparación con COX-2.)

En numerosas pruebas se comprobó que meloxicam es un inhibidor preferencial de la COX-2 (Vane y Botting, 1995; Churchill y cols., 1996; Patrignani y cols., 1996). Meloxicam también demostró inhibir la COX-2 de forma más acusada que la COX-1 *in vivo* en ratas y ratones (Engelhardt y cols., 1996). Hasta el momento y que conozcamos, no se han realizado estudios en perros con meloxicam.

Se comprobó que ketoprofeno inhibe preferentemente la COX-1 (Cromlish y Kennedy, 1996), pero sin embargo estos datos no se obtuvieron en el perro. Con carprofeno se han encontrado datos contradictorios. Mientras McKellar y cols. (1990) suponen, basándose en sus estudios en perros, que el mecanismo de acción de carprofeno no afecta la inhibición de la ciclooxigenasa, Vane y Botting (1995) describen el carprofeno como un inhibidor no selectivo de la COX con un efecto igualmente pronunciado sobre COX-1 y COX-2 en células humanas.

MATERIAL Y MÉTODOS

ESTUDIOS SOBRE LA FORMACIÓN DE TROMBOXANO B₂ (TxB₂)

Con el fin de determinar la acción de distintos AINEs sobre la formación de TxB₂, se realizaron dos estudios por separado en seis perros beagle (tres hembras y tres machos). En ambos estudios se midió la liberación de TxB₂ a partir de las plaquetas sanguíneas tomadas de muestras de sangre antes y después de la administración del correspondiente AINE.

En un primer estudio los animales recibieron una inyección intravenosa única de meloxicam (0,2 mg/kg de p.v.) y carprofeno (4 mg/kg de p.v.). Se obtuvo sangre venosa inmediatamente antes de la administración y 10 y 30 minutos después de la administración de los distintos AINEs. Los valores determinados se compararon con el valor control correspondiente antes del tratamiento.

En el segundo estudio con diseño similar, se administró a los mismos perros meloxicam a dosis de 0,05 y 0,1 mg/kg de p.v. y ketoprofeno (dosis de 0,5 mg/kg de p.v.), esta vez en un estudio cruzado triple. El correspondiente AINE se administró por vía oral, una vez al día durante cinco días consecutivos en cada caso. Las muestras de sangre se tomaron antes de la primera administración y 30 minutos después de la última administración del correspondiente AINE.

ESTUDIO DE LA FUNCIÓN RENAL

En 8 hembras sanas se estudió el efecto de los tres AINEs sobre la función renal normal (volumen de orina y excreción de sodio). Los animales permanecieron en ayunas desde la noche anterior al comienzo del estudio hasta el final del estudio al día siguiente.

Se determinó el efecto de una dosis oral única de meloxicam (0,1 mg/kg de p.v.), ketoprofeno (1 mg/kg de p.v.) y carprofeno (4 mg/kg de p.v.) sobre el volumen de orina y la excreción de sodio. El estudio consistió en tres investigaciones individuales en las que se midieron los parámetros renales en un estudio cruzado, en cada caso después de la administración de uno de los tres AINEs o el placebo correspondiente.

RESULTADOS

ESTUDIOS DE LA CONCENTRACIÓN DE TROMBOXANO B₂ (TxB₂)

En el primer estudio donde se valoró el efecto de distintos AINEs sobre la concentración de TxB₂, 10 minutos después de la administración de meloxicam se produjo una reducción de la formación de TxB₂ del 21,3% en comparación con el valor control. Carprofeno redujo la concentración de TxB₂

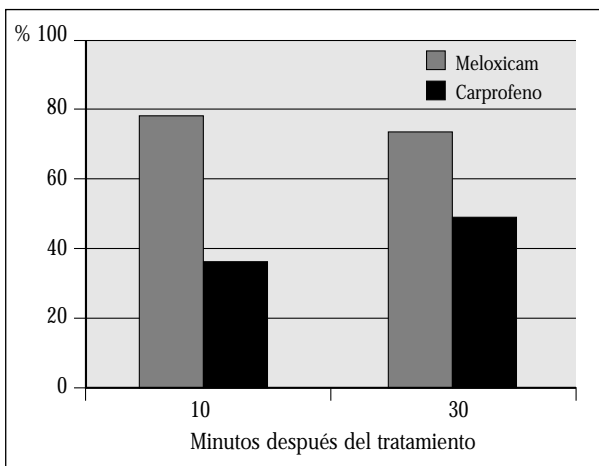


Fig. 1: Concentración de TxB₂ después de una dosis intravenosa única de meloxicam (0,2 mg/kg de p.v.) o carprofeno (4 mg/kg de p.v.) en relación con el valor control (100%) en el perro.

en un 63,2%. El porcentaje de inhibición de TxB₂ 30 minutos después de la administración de meloxicam fue de un 25,3% y de un 50,7% después de la administración de carprofeno. Los resultados se muestran en la gráfica de la figura 1.

En la segunda serie de estudios sobre la síntesis de TxB₂, después de la administración oral durante cinco días de 0,05 mg/kg de p.v. de meloxicam, la secreción de TxB₂ disminuyó en un 9,7% y, después de una dosis de 0,1 mg/kg de p.v., la reducción fue del 20,1%. Ketoprofeno, a dosis de 0,5 mg/kg de p.v., ocasionó una inhibición del 97,2% de la secreción de TxB₂. Los resultados se presentan en la figura 2.

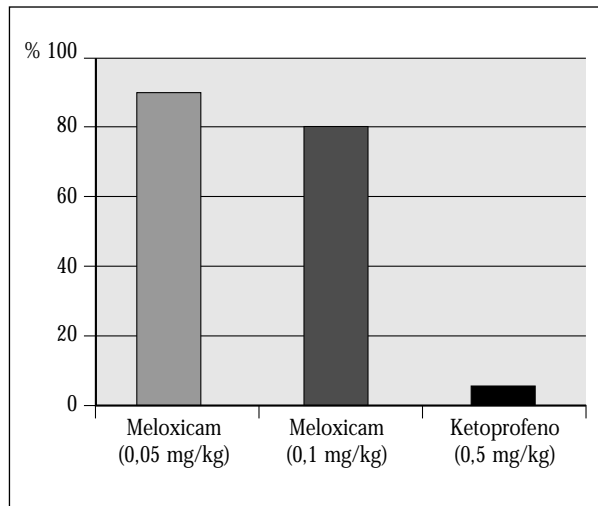


Fig. 2: Concentración de TxB₂ después de cinco días de administración oral de meloxicam (0,05 y 0,1 mg/kg de p.v.) o ketoprofeno (0,5 mg/kg de p.v.) en comparación con el valor control (100%) en el perro.

ESTUDIOS SOBRE LA FUNCIÓN RENAL

En comparación con el grupo placebo, meloxicam y carprofeno redujeron el volumen de orina un 20,9% y 19,0% respectivamente, mientras que el volumen de orina disminuyó un 40,5% después de la administración de ketoprofeno. Con meloxicam la excreción de sodio disminuyó un 39,2% en comparación con placebo. Carprofeno y ketoprofeno redujeron la excreción de sodio un 61,6% y 55,5% respectivamente. Los resultados se muestran en la figura 3.

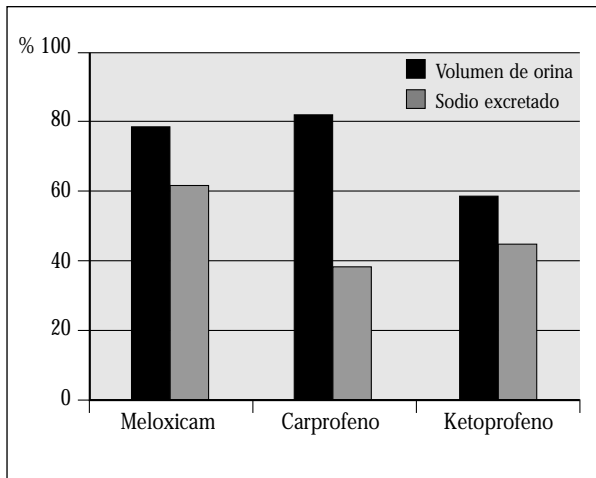


Fig. 3: Volumen de orina y excreción de sodio después de una dosis oral única de meloxicam (0,1 mg/kg de p.v.), carprofeno (4 mg/kg de p.v.) o ketoprofeno (1 mg/kg de p.v.) en comparación con el valor control (100%) en el perro.

DISCUSIÓN

En los estudios descritos se valoraron los efectos de meloxicam, ketoprofeno y carprofeno sobre la función renal y la activación de las plaquetas sanguíneas mediada por COX-1 en perros.

Se investigó el efecto de la administración intravenosa de la dosis inicial recomendada de meloxicam (0,2 mg/kg de p.v.) y de la dosis recomendada de carprofeno (4 mg/kg de p.v.) sobre la secreción de TxB₂ de plaquetas activadas. A fin de investigar la influencia del tratamiento oral de meloxicam y ketoprofeno, se compararon tanto la dosis de mantenimiento recomendada como la mitad de la dosis recomendada. El efecto de los AINEs sobre los parámetros renales, volumen de orina y excreción de sodio renal, se midió administrando las dosis de mantenimiento recomendadas.

Para los estudios del tromboxano, se midió la concentración de TxB₂ en un modelo *ex vivo* durante la activación plaquetaria. La isoenzima COX-1 es responsable de la formación de tromboxano A₂ (TxA₂), que ocasiona la agregación plaquetaria y por tanto es importante para la hemostasia *in vivo*. TxA₂ es muy inestable y se convierte rápidamente en TxB₂, de forma que la concentración de TxB₂ se define como el método de determinación indirecta de la formación de TxA₂ (Engelhardt, 1996).

Los resultados demuestran que meloxicam ejerce solamente un ligero efecto sobre la secreción de TxB₂ en los 30 minutos siguientes a la administración intravenosa. Con carprofeno se encontró un efecto inhibitor ligeramente más acusado. Ketoprofeno inhibió casi completamente la secreción de TxB₂, incluso a dosis subterapéuticas (0,5 mg/kg de p.v., equivalente a la mitad de la dosis de mantenimiento recomendada).

En el segundo estudio, se investigaron los distintos efectos de los tres AINEs sobre el volumen de orina y la excreción de sodio. Las prostaglandinas juegan un importante papel en el mantenimiento de la función renal fisiológica, por ello la inhibición de la síntesis de prostaglandinas por los AINEs puede tener como consecuencia efectos secundarios renales, llegando hasta la insuficiencia renal en casos individuales (Gabriels y Greven, 1998).

En condiciones fisiológicas, es fundamentalmente la COX-1 la responsable de la síntesis de prostaglandinas en el riñón. Por ejemplo, la inhibición de la COX-1 ocasiona, a través de la reducción de la síntesis de prostaglandinas, una disminución del caudal sanguíneo renal, del filtrado glomerular y de la excreción de sodio (Frölich y Stichtenoth, 1996). En estos estudios, meloxicam y carprofeno mostraron un escaso efecto sobre los parámetros renales investigados, mientras que ketoprofeno determinó una marcada disminución del volumen de orina.

En resumen, los resultados relativos al efecto de los tres AINEs sobre la COX-1 en el perro concuerdan entre sí tanto por lo que respecta a la concentración de TxB₂ como con respecto a los parámetros renales investigados en la prueba. En ambos métodos experimentales, meloxicam en particular, pero también carprofeno, demostraron efectos relativamente débiles sobre la COX-1, mientras que ketoprofeno ejerció efectos marcados sobre esta isoforma. Los datos obtenidos en estos estudios concuerdan plenamente con los resultados de estudios realizados en medicina humana, en los que meloxicam ha demostrado ser un inhibidor preferente de COX-2, carprofeno un inhibidor COX no selectivo y ketoprofeno un inhibidor COX-1 preferente (Vane y Botting, 1995; Cromlish y Kennedy, 1996).

Partiendo de la base de estos estudios, puede admitirse que meloxicam ejerce el mínimo efecto sobre la coagulación sanguínea y la función renal, seguido muy de cerca por carprofeno. De ketoprofeno cabe esperar un efecto más marcado sobre los parámetros medidos. No es posible determinar

con exactitud el grado de importancia práctica de los resultados presentados aquí, especialmente en perros sanos. En cualquier caso, los resultados deben tenerse en cuenta al seleccionar un AINE a fin de minimizar posibles efectos secundarios.



BIBLIOGRAFÍA

- CHURCHILL, L., A. G. GRAHAM, C.K. SHIH, D. PAULETTI, P. R. FARINA und P. M. GROB (1996): Selective inhibition of human cyclo-oxygenase-2 by meloxicam. *Inflammopharmacol.* 4, 125-135.
- CROMLISH, W. A. und B. P. KENNEDY (1996): Selective inhibition of cyclooxygenase-1 and η 2 using intact insect cell assays. *Biochem. Pharmacol.* 52, 1777-1785.
- ENGELHARDT, G. (1996): Pharmacology of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory drug with an improved safety profile through preferential inhibition of COX-2. *Br. J. Rheumatol.* 35 (Suppl. 1), 4-12.
- ENGELHARDT, G., R. BÖGEL, C. SCHNITZLER und R. UTZMANN (1996): Meloxicam: Influence on Arachidonic Acid Metabolism. Part II: In vivo Findings. *Biochem. Pharmacol.* 51, 29-38.
- FENNER, H. (1998): New classification of aspirin-like drugs. In: VANE, J. und J. BOTTING (Ed.): *Selective COX-2 Inhibitors. Pharmacology, Clinical Effects and Therapeutic Potential.* Kluwer Academic Publishers and William Harvey Press, Lancaster und London; pages 109-125.
- FRÖLICH, J. C. (1997): A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes. *Trends in Pharmacol. Science* 18, 30-34.
- FRÖLICH J. C. und D. O. STICHTENOTH (1996): NSAIDs: can renal side effects be avoided?
- VANE, J. R., J. H. BOTTING und R. M. BOTTING (Ed.): *Improved Non-steroid Anti-inflammatory Drugs. COX-2 Enzyme Inhibitors.* Kluwer Academic Publishers und William Harvey Press, Lancaster und London, S. 203-228.
- GABRIELS, G. und J. GREVEN (1998): Renale Wirkungen nicht-steroidaler Antiphlogistika (Nephrotoxic effects of non-steroidal anti-inflammatories). *Dtsch. med. Wschr.* 123, 88-92.
- GUTH, B., D. O. STICHTENOTH, J. C. FRÖLICH, M. PAIRET und G. ENGELHARDT (1996): Therapeutic doses of Meloxicam do not inhibit Platelet Aggregation in Man. Poster presented at the EULAR 1996, IX Symposium, Madrid.
- McKELLAR, Q. A., T. PEARSON, J. A. BOGAN, E. A. GALBRAITH, P. LEES, B. LUDWIG und M. P. TIBERGHEN (1990): Pharmacokinetics, tolerance and serum thromboxane inhibition of carprofen in the dog. *J. Small Anim. Pract.* 31, 443-448.
- PAIRET, M., J. VAN RYN, A. MAUZ, H. SCHIEROK, W. DIEDEREN, D. TÜRCK und G. ENGELHARDT (1998): Differential inhibition of COX-1 and COX-2 by NSAIDs: a summary of results obtained using various test systems. In: VANE, J. und J. BOTTING (Hrsg.): *Selective COX-2 Inhibitors. Pharmacology, Clinical Effects and Therapeutic Potential.* Kluwer Academic Publishers and William Harvey Press, Lancaster und London; pages 27-46.
- PATRIGNANI, P., M. R. PANARA, G. SANTINI, M. G. SCIULLI, R. PADOVANO, F. CIPOLLONE und C. PATRONO (1996): Differential Inhibition of Cyclooxygenase Activity of Prostaglandin Endoperoxide Synthase Isozymes in vitro and ex vivo in Man. *Prostaglandins, Leukot. Essent. Fatty Acids* 55, p. 115.
- SEPPÄLÄ, E., M. NISSILÄ, H. ISOMÄKI, P. NUOTIO, E. NYKÄNEN, O. LAITINEN und H. VAPAATALO (1985): Comparison of the effects of different anti-inflammatory drugs on synovial fluid prostanoic concentrations in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 3, 315-320.
- SIMMONS, D. L., X. LU, W. S. BRADSHAW und W. XIE (1996): The dilemma of two cyclooxygenases: identifying the roles of COX-1 and COX-2 in inflammation and apoptosis. In: VANE, J. R., J. H. BOTTING und R. M. BOTTING (Hrsg.): *Improved Non-steroid Anti-inflammatory Drugs. COX-2 Enzyme Inhibitors.* Kluwer Academic Publishers und William Harvey Press, Lancaster und London, pages 45-65.
- SMITH, W. L. und D.L. DeWITT (1994): Differential interactions of prostaglandin endoperoxide synthases with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Curr. Opin. Invest. Drugs.* 3, 1-11.
- STICHTENOTH, D. O., B. WAGNER und J. C. FRÖLICH (1997): Effects of meloxicam and indomethacin on cyclooxygenase pathways in healthy volunteers. *J. Invest. Med.* 45, 44-49.
- UNGEMACH, F.R. (1997) *Pharmaka zur Beeinflussung von Entzündungen (Anti-inflammatory drugs).* LÖSCHER, W., F.R. UNGEMACH und R. KROKER (Ed.): *Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren (Pharmacotherapy in domestic and food-producing animals).* Parey Buchverlag, Berlin, pages 319-349.
- VANE, J. R. (1994): Towards a better aspirin. *Nature* 367, 215-216.
- VANE, J. R. und R. M. BOTTING (1995): New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm. Res.* 44, 1-10.