

Inhibidores de la COX ¿hacia dónde vamos?

A principios de los años 70, Vane (1) describió el mecanismo principal por el que el ácido acetilsalicílico y otros AINE ejercen su acción antiinflamatoria. Este autor observó que el ácido acetilsalicílico inhibía la producción de prostaglandinas en diversas preparaciones experimentales. Algunos años más tarde se consiguió aislar la enzima COX como responsable del punto concreto de actuación de estos compuestos. Según este esquema, la inhibición de la actividad de la COX bloquea por tanto el proceso inflamatorio, pero al mismo tiempo produce una alteración en estas funciones fisiológicas que puede conducir a la aparición de efectos no deseables, como úlcus gastroduodenal o lesión renal entre otros. Estos trabajos tuvieron tanta repercusión que permitieron que en 1982 Sir John R. Vane y sus colegas Sune K. Bergström y Bengt I. Samuelsson recibieran el premio Nobel de Medicina.

Dos décadas más tarde, dos grupos investigadores independientes comandados por Simmons y Herschman (2,3) comunicaron la existencia de una nueva isoforma de COX a la que denominaron COX-2 para distinguirla de la enzima inicialmente descrita (COX-1). A pesar de su similitud estructural, COX-1 y COX-2 son dos proteínas diferentes, codificadas por genes con distinta localización cromosómica: COX-1 en el cromosoma humano 9 y COX-2 en el cromosoma 1. Además, el gen de COX-2 contiene sitios de unión para muchos factores de transcripción, unos inductores como lipopolisacáridos, citoquinas inflamatorias (IL-1 β , FNT) o factores de crecimiento y otros inhibidores como glucocorticoides, IL-4, IL-13 e IL-10, que no se encuentran en COX-1 (4). Estas dos características del gen de COX-2, su pequeño tamaño y múltiples sitios de unión, hacen que se incluya en el grupo de los genes precoces, mientras que el gen de COX-1 se conoce como un gen de mantenimiento que codifica una proteína constitutiva. También son diferentes los ARNm generados por ambos genes ya que el responsable de la síntesis de COX-2 tiene una vida media de 30-60 minutos, lo cual corrobora su clasificación como gen precoz (5).

Sin embargo, a pesar de estas diferencias, es llamativo que las proteínas que codifican sean muy similares, especialmente en las regiones activas. Las diferencias estructurales entre los centros catalíticos de COX-1 y COX-2 son muy pequeñas y básicamente consisten en que dos residuos de isoleucina en las posiciones 434 y 523 de COX-1 están cambiados por valina en COX-2, lo que determina que en COX-2 exista un espacio volumétrico mayor y que se origine un bolsillo lateral. Es en ese lugar donde se encuentra el sitio de unión para los inhibidores selectivos de COX-2. El conocimiento de estas diferencias estructurales ha permitido el desarrollo de la nueva generación de AINE inhibidores selectivos de COX-2 (6).

En los últimos 25 años, la aplicación de modernas técnicas neurofarmacológicas (*Northern Blot*, inmunohistoquímica e *hibridación in situ*) han suministrado amplia

información sobre la localización y funciones de ambas isoenzimas. En resumen, la COX-1 es la enzima constitutiva que se expresa de forma estable y continua en la mayoría de las células del organismo. Es la encargada de la síntesis de prostaglandinas e eicosanoides implicados en la homeostasis general y en muchas funciones (protección de la mucosa gástrica, activación plaquetaria, función renal o diferenciación de macrófagos entre otros). Su grado de expresión varía en función del metabolismo de las diferentes prostaglandinas de los distintos tipos celulares. Entre los tejidos con niveles de COX-1 más elevados destacan el endotelio vascular y las plaquetas. Sus valores se mantienen constantes dentro de una misma población celular, con pequeños incrementos (2x- 4x) debidos a estímulos hormonales o factores de crecimiento (7).

La COX-2 es la isoforma indetectable en condiciones basales en la mayoría de los tejidos y es responsable de producir prostanoides en los lugares inflamados o alterados de alguna forma, de aquí su carácter inducible. Sin embargo, en algunas estructuras pueden tener un carácter estructural, por ejemplo en ovario, próstata, riñón y SNC. La expresión de la COX-2 es rápidamente inducida (3-6 h), como se mencionó anteriormente, por diversos mediadores asociados con la inflamación y el crecimiento celular, y desempeña un papel esencial en la inflamación, el dolor, la fiebre y la proliferación celular normal y patológica. Sin embargo, limitar a este prostanoides toda la responsabilidad del proceso inflamatorio relegando la COX-1 a un papel meramente constitutivo es una idea bastante simplista y alejada de la realidad. La experimentación ha demostrado lo erróneo de esta postura ya que diversas líneas de investigación sugieren un papel importante de COX-1 en los procesos inflamatorios, constituyendo la evidencia más concluyente la observación de una respuesta inflamatoria similar al control en ratones transgénicos que carecen del gen de COX-2 (8).

Desde el descubrimiento de COX-2, muchos equipos de investigación se lanzaron hacia la búsqueda de nuevos agentes antiinflamatorios inhibidores selectivos COX-2, basándose en una hipótesis que posteriormente casi se ha convertido en dogma: la inhibición selectiva de COX-2 produce el efecto antiinflamatorio y analgésico de los AINE clásicos sin afectar a las PG producidas por COX-1, por lo que se mantienen sus efectos beneficiosos sobre la función plaquetaria y renal y la mucosa gástrica (9).

Para ello se desarrollaron diversos modelos experimentales que han permitido cuantificar la potencia inhibitoria COX-2/COX-1 de los AINE tradicionales y de nueva generación. Estos modelos han utilizado metodología diferente en muchos casos usando células intactas (células animales, plaquetas humanas, monocitos humanos estimulados por liposacáridos) o fraccionamientos celulares, lo que ha generado que los ratio COX-2/COX-1 obtenidos para cada AINE estudiado sean diferentes dependiendo del modelo utilizado. Actualmente el método más aceptado para la estimación de la selectividad COX-2 en humanos consiste en el ensayo con sangre completa. Este método proporciona una estimación directa de la capacidad de un compuesto para inhibir la actividad enzimática de la COX-1 (por ejemplo, la formación de TXAs a partir de las plaquetas durante la formación del coágulo sanguíneo) y COX-2 (por ejemplo, la síntesis de PGE₂ en monocitos estimulados por polisacáridos). Utilizando esta metodología conjuntamente con la determinación de PGE₂ procedente de biopsia de mucosa gástrica realizadas a los mismos pacientes, Creer and Feldman (10) en 1988 analizaron el ratio COX-2/COX-1 de 25 AINE encontrando diferencias entre los compuestos. Algunos (flurbiprofeno o ketoprofeno) fueron COX-1 selectivos (ratio > 8), otros (ibuprofeno, naproxeno) fueron esencialmente no selectivos, mientras que otros (diclofenaco, ácido mefenámico)

fueron COX-2 selectivos (ratio aproximado 0,05). En este estudio se observó que existía una correlación significativa entre potencia inhibidora de los AINE estudiados de la síntesis de PGE₂ gástrica y potencia inhibidora COX-1 ($p < 0,001$) y selectividad COX-1 ($p < 0,01$), pero no con la potencia inhibidora COX-2. Además, se observó que incluso los compuestos “más selectivos” COX-2 alcanzaban, a las dosis utilizadas habitualmente en clínica, suficientes niveles para producir una inhibición de la síntesis de PGE₂ gástrica.

Esta falta de selectividad de los AINE disponibles en el momento del descubrimiento de la COX-2, sumado a la posibilidad de diseñar compuestos capaces de unirse de forma más específica al “bolsillo” lateral de la molécula de la COX-2, estimuló el desarrollo de nuevos compuestos originando los inhibidores COX-2 específicos. Estos fármacos no causan supresión clínicamente apreciable de la forma constitutiva de COX a las dosis terapéuticas máximas, presentando por término medio una selectividad 100 veces mayor por inhibir la COX-2 frente a COX-1 *in vitro* (11). Aunque las estrategias utilizadas en el desarrollo de nuevos fármacos han diferido, los inhibidores selectivos de COX-2 tienen estructuras que facilitan la unión a la cavidad lateral de la enzima: todos poseen una extensión lateral rígida que puede acceder al hueco lateral de COX-2 como son grupos sulfonilo, sulfona o sulfonamida.

Los primeros compuestos utilizados fueron celecoxib y rofecoxib aprobados por la FDA a finales de la década de los años 90 para el tratamiento de la artritis reumatoide, osteoartritis y para el alivio del dolor asociado cirugía dental y dismenorrea primaria. En el estudio clínico VIGOR (12), rofecoxib produjo un efecto analgésico similar a naproxeno con una significativa reducción en la incidencia de perforación gástrica, hemorragia gastrointestinal o síntomas de úlcus péptico. A estos compuestos le han seguido en años posteriores otros similares (valdecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib) con un perfil farmacológico similar.

En un ensayo clínico prospectivo publicado en este número, García-Harel y cols. analizan el efecto analgésico de parecoxib 40 mg i.v./12 h vs. ketorolaco 30 mg i.v./8 h en el control del dolor postoperatorio confirmando que el efecto analgésico de ambos compuestos es similar.

El dolor postoperatorio constituye un notable modelo experimental para el estudio de los iCOX-2. En la actualidad parece plenamente aceptado que la inflamación causa un incremento en la síntesis de PG dependientes de la COX-2 que sensibiliza los nociceptores periféricos y produce hipersensibilidad local al dolor. Conjuntamente con este efecto, nuevos datos sugieren la presencia de una COX-2 constitutiva a nivel de la zona dorsal de la médula que es expresada de forma transitoria tras una lesión o traumatismo en los correspondientes segmentos sensoriales de la médula. Este efecto facilitador es bloqueado por inhibidores COX-2 mientras que los inhibidores COX-1 son ineficaces (13), lo que parece apuntar hacia un doble mecanismo de acción analgésica de los iCOX-2: periférica y central.

Sin embargo, nuevas investigaciones apuntan hacia otras aplicaciones de los iCOX-2 no relacionadas con su efecto analgésico, como por ejemplo en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Se ha observado una correlación significativa entre expresión de COX-2 en determinadas áreas cerebrales relacionadas con la memoria (hipocampo, cortex) y depósito de proteína B-amiloide en las placas neuríticas, lo que podría sugerir una base inflamatoria en el proceso neurodegenerativo (14). Este hecho podría justificar la disminución del riesgo de contraer la enfermedad en ancianos usuarios habituales de AINE durante periodos prolongados (15). De la misma manera, al igual que la administración de AAS y sulindac reduce la mortalidad del cáncer colorrectal, estudios experimentales realizados en modelos animales de cáncer de colon (16) han observado una sobreexpresión de COX-2 en células tumorales, por lo que posiblemente su bloqueo con iCOX-2 desarrolle un efecto beneficioso.

Lamentablemente, el descubrimiento de nuevas aplicaciones también se ha acompañado de nuevas limitaciones: estudios clínicos han demostrado la capacidad de los inhibidores específicos COX-2 de disminuir la producción de prostaciclina en voluntarios sanos (17). Teniendo en cuenta la ausencia de efectos de estos compuestos sobre la COX-1 (productora de TXA), teóricamente su administración conduce a una alteración del balance PGI/TXA con un predominio de este último, lo que podría justificar la asociación que se ha establecido entre algunos inhibidores COX-2 y complicación isquémica coronaria que ha conducido a una alerta farmacológica en nuestro país. En su artículo, García-Harel y cols. revisan las limitaciones terapéuticas de los coxibs en este tipo de patología.

Finalmente, el panorama se ha visto con una nueva aportación de la investigación: la presencia de una tercera isoforma de la COX, la COX-3. Su existencia se planteó en la década de los 80 como un intento para explicar el mecanismo de acción del paracetamol (un analgésico que inhibe muy débilmente las isoformas COX-1 y COX-2), por lo que no posee efecto antiinflamatorio o antiagregante y no afecta a la síntesis de PG en la mucosa gástrica. Su efecto analgésico y antipirético se aparta del patrón generado por el resto de los AINE y en base a diversos estudios experimentales, parece relacionarse con una nueva isoforma (COX-3) que muestra similitudes estructurales con la COX-1. Al igual que esta, su maquinaria de síntesis se ubica en el cromosoma 9 y es una isoforma de tipo constitutiva. La mayor diferencia entre COX-1 y COX-3 es que el ARNm que codifica COX-3 presenta un intrón-1 capaz de codificar una secuencia de 30 aminoácidos. Esta secuencia de aminoácidos es insertada en el extremo N-terminal de la enzima y al parecer es la responsable de la mayor sensibilidad de COX-3 vs. COX-1, al tono oxidativo del medio celular, de forma que cuanto mayores sean los cambios redox ambientales y mayor la cantidad de sustrato (productos oxidativos) menos sensible es COX-3 a su inhibición y, cuanto menor es la cantidad de productos oxidativos, mayor será el efecto de los inhibidores COX-3. Esto explica la diferente susceptibilidad personal al efecto de estos fármacos y su diferente potencia en función de la intensidad y del origen del cuadro doloroso y febril (18).

Una nueva isoforma de COX-3 plantea interesantes posibilidades terapéuticas y puede arrojar explicaciones sobre el efecto sinérgico observado al asociar determinados AINE. En este sentido, en el mencionado artículo de García-Harel y cols. se observa cómo el analgésico de rescate utilizado en el diseño experimental es paracetamol (un iCOX-3). Lamentablemente, el artículo no muestra la evolución de EVA tras su administración lo que sería de indudable interés para poder cuantificar este efecto. Otros compuestos que han demostrado también actividad inhibidora selectiva COX-3 son fenacetina, dipirona y diclofenaco (este último con gran afinidad también por COX-1). Estudios futuros deberán validar a nivel clínico el valor de estas prometedoras observaciones experimentales.

A. Gómez-Luque

Anestesiólogo, Profesor Titular de Anestesiología.
Facultad de Medicina. Universidad de Málaga

BIBLIOGRAFÍA

1. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Bio* 1971; 231: 232-5.

2. Simmonds DL. Variant of cyclooxygenase-1 and their roles in medicine. *Thomb Res* 2003; 110: 265-8.
3. Hershmann HR. Prostaglandin synthase-2. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1299: 125-40.
4. Bahkle YS. Structure of COX-1 and COX-2 enzymes and their interaction with inhibitors. *Drugs today* 1999; 35: 237-50.
5. Otto CJ, Smith WL. Prostaglandin endoperoxide synthetase-1 and -2. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1995; 12: 139-56.
6. Cannon GW. Cyclooxygenase-2 selective inhibitors. *Drugs Today* 1999; 35: 487-96.
7. Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, et al. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 12013-7.
8. Wallace JL, Bak A, McKnight W, Asfaha S, Sharvey KA, McNaughton WK. Cyclooxygenase 1 contributes to inflammatory responses in rats and mice: implications for gastrointestinal toxicity. *Gastroenterology* 1998; 115: 101-9.
9. Hawkey CJ. Cox-2 inhibitors. *Lancet* 1999; 353: 307-14.
10. Cryer B, Feldman M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med* 1998; 104: 413-21.
11. Lipsky LPE, Abrahamson SB, Crofford L, DuBois RN, Simon LS, van de Putte LBA. Classification of cyclooxygenase inhibitors. *J Rheumatol* 1998; 25: 2298-303.
12. Bombardier C, Laine L, Reicin A, Shapiro D, Burgos-Vargas R, Davis B, et al. VIGOR study group a double-blind comparison of rofecoxib and naproxen on the incidence of clinically important upper gastrointestinal events: the VIGOR trial. *N Engl J Med* 2000; 343: 1520-8.
13. Beiche F, Brune K, Geisslinger G, Goppelt-Struebe M. Expression of cyclooxygenase isoforms in the rat spinal cord and their regulation during adjuvant-induced arthritis. *Inflamm Res* 1998; 47: 482-7.
14. Pasinetti GM. Cyclooxygenase as a target for the antiamyloidogenic activities of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Alzheimer's disease. *Neurosignals* 2002; 11: 293-7.
15. Bradbury J. How NSAIDs might prevent Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 2004; 3: 638.
16. Kawamori T, Uchiya N, Kitamura T, Ohuchida S, Yamamoto H, Maruyama T, et al. Evaluation of a selective prostaglandin E receptor EP1 antagonist for potential properties in colon carcinogenesis. *Anticancer Res* 2001; 21: 3865-9.
17. Catella-Lawson F, Crofford LJ. Cyclooxygenase inhibition and thrombogenicity. *Am J Med* 2001; 110 (Supl. 3A): 28S-32S.
18. Botting RM. Mechanism of action of acetaminophen: Is there a cyclooxygenase 3? *Clin Infect Dis* 2000; 31: s202-210.