

# Inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2: Usos potenciales en perros

## Cyclooxygenase-2 selective inhibitors: Potential usage in dogs

Ignacio Lizárraga Madrigal\*

Héctor Sumano López\*

Fernanda Castillo Alcalá\*

---

### Abstract

Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in dogs is limited because of the adverse effects they produce. All NSAIDs inhibit, by different degrees, the cyclooxygenases (COX), enzymes that exist in at least two isoforms: COX-1 and COX-2. Inhibition of COX-1 is believed to be responsible for the adverse effects of NSAIDs, whereas inhibition of COX-2 is thought to be related to the therapeutic effects of this class of drugs. This theory, to some extent, seems to be true for humans suffering from osteoarthritis who receive COX-2 selective inhibitors. If this hypothesis also applies to dogs, COX-2 selective inhibitors should play an important role in canine therapeutics. This review highlights relevant physiopathologic aspects of COX-2 within the organism (e.g., gastrointestinal tract, kidneys, central nervous system), based on this information, the possible uses and adverse effects of selective COX-2 inhibitors (e.g., celecoxib, nimesulide, NS-398) in dogs are discussed. Clinical-pharmacological information on the use of selective COX-2 inhibitors (e.g., carprofen, celecoxib, nimesulide) specifically obtained from dogs is also presented.

**Key words:** CYCLOOXYGENASES, COX-2SELECTIVE INHIBITORS, DOGS, NSAIDs.

### Resumen

La gran variedad y frecuencia de efectos adversos que producen los antiinflamatorios no esteroidales (AINE) limitan su uso en perros. Estos fármacos, en mayor o menor medida, inhiben a las ciclooxigenasas (COX), de las cuales existen al menos dos isoformas: COX-1 y COX-2. Se cree que la inhibición de la COX-1 ocasiona los efectos adversos de los AINE y que el bloqueo de la COX-2 se relaciona con sus efectos terapéuticos. Hasta cierto punto esta teoría parece ser cierta en humanos que sufren de osteoartritis y reciben inhibidores selectivos de la COX-2. Si esta hipótesis también se cumple en perros, el uso de los inhibidores selectivos de la COX-2 tendría un lugar importante dentro de la terapéutica canina. Este ensayo destaca aspectos relevantes de la fisiopatología de la COX-2 en diversos órganos y sistemas (por ejemplo, tubo gastrointestinal, riñón, sistema nervioso central) y, a partir de esta información, se discuten los posibles usos y efectos adversos de los inhibidores selectivos de la COX-2 (por ejemplo, celecoxib, nimesulida, NS-398) en perros. También se presenta información clínico-farmacológica del uso de inhibidores selectivos de la COX-2 (por ejemplo, carprofeno, nimesulida y celecoxib) derivada específicamente de perros.

**Palabras clave:** CICLOOXIGENASAS, INHIBIDORES SELECTIVOS DE LA COX-2, PERROS, ANTIINFLAMATORIOSNOESTEROIDALES.

---

Recibido el 27 de noviembre de 2001 y aceptado el 10 de abril de 2002.

\* Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

## Introduction

For many years it was thought that cyclooxygenase (COX) was a single enzyme present constitutively in most tissues and that inhibition of this enzyme led to decreased production of pro-inflammatory as well as physiological prostaglandins (PGs), like those participating in gastric epithelial regeneration and renal perfusion. However, it is now known that at least two COX isoenzymes exist: COX-1 and COX-2.<sup>1</sup> Both COX isoforms use the same endogenous substrate, arachidonic acid (AA), though from different pools, and form the same products resulting from the same catalytic reaction. Their major difference lies in their pathophysiological functions: COX-1 is constitutively expressed in most tissues at a constant though different level, depending on the tissue. It is believed to be responsible for formation of PGs with physiological functions such as gastric cytoprotection and vascular homeostasis.<sup>1,2</sup> COX-2 is normally undetectable in most tissues, but its synthesis can be induced at high levels, in a matter of hours, after a single pro-inflammatory stimulus.<sup>1,3</sup> Table 1<sup>4,5</sup> shows comparisons of some properties belonging to both isoenzymes.

Although COX-1 and COX-2 genes are different and independent from each other, the enzymatic reaction they catalyze, as mentioned above, is identical, due to homology between the two isoenzymes in a given species, and approximates 60% in the whole structure and 90% in the enzymatic regulatory site.<sup>5</sup> Nonetheless, there are important structure differences, which account for the drug COX-inhibition selectivity. For example, there is a glucocorticoid regulatory region on the COX-2 gene, which accounts for cytokine or endotoxin induction of COX-2 being inhibited *in vitro* and *in vivo*.<sup>3,6</sup> Glucocorticoids do not affect COX-1. Each isoenzyme has different intracellular localization. COX-1 is mainly found attached to the membrane of the endoplasmic reticulum and sometimes around the nucleus. COX-2, in contrast, is predominantly located on the nuclear membrane with trace amounts in the cytoplasm.<sup>2,5</sup> These differences suggest that the two isoenzymes can act independently, even within the same tissue.

Most knowledge on the functions of both COX isoenzymes comes from studies of pharmacological inhibition with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and COX-2 selective inhibitors. Recently, the research group leadered by Mahler<sup>3,7,8</sup> investigated some functions of the isoenzymes through development of *Ptgs 1* and *Ptgs 2* gene knockout mice, responsible of COX-1 and COX-2 expression, respectively. Their results show interesting findings. COX-1, to some degree, contributed

## Introducción

Durante muchos años se pensó que las ciclooxigenasas (COX) eran una sola enzima ubicua en la mayoría de los tejidos y que su inhibición disminuía la síntesis de prostaglandinas (PG) participantes en el proceso inflamatorio, pero también afectaba funciones fisiológicas como la regeneración del epitelio gástrico y la perfusión renal. Sin embargo, ahora se conocen al menos dos isoenzimas de la COX: COX-1 y COX-2.<sup>1</sup> Ambas isoformas utilizan el mismo sustrato, el ácido araquidónico (AA), de diferentes fuentes y a través de la misma reacción catalítica forman los mismos productos. La principal diferencia entre estas isoenzimas se encuentra en las funciones fisiológicas y fisiopatológicas que modulan. La COX-1 se encuentra de manera constitutiva en la mayoría de los tejidos en un nivel constante, aunque difiere según el tejido. Se cree que es la enzima responsable de la formación de las PG, que tienen como funciones fisiológicas la citoprotección gástrica y la homeostasis vascular, entre otras.<sup>1,2</sup> La COX-2 no se detecta en la mayoría de los tejidos, pero se puede inducir su síntesis en altos niveles después de algunas horas de haber sido estimulado el tejido con sustancias proinflamatorias.<sup>1,3</sup> En el Cuadro 1<sup>4,5</sup> se comparan algunas propiedades de ambas isoenzimas.

Aunque los genes que codifican la síntesis de la COX-1 y la COX-2 son distintos e independientes, la reacción enzimática que catalizan, como ya se mencionó, es idéntica, debido a la similitud que existe entre ambas isoenzimas en una misma especie, y que alcanzan 60%, aproximadamente, en lo estructural y 90% en el sitio de regulación enzimática.<sup>5</sup> Sin embargo, existen importantes diferencias estructurales que determinan la inhibición selectiva de las COX por algunos fármacos. Por ejemplo, existe una región regulada por los glucocorticoides en el gen de la COX-2. Este efecto es el responsable de la inhibición *in vitro* e *in vivo* de la isoenzima COX-2 cuando se ha inducido por citocinas o endotoxinas.<sup>3,6</sup> Los glucocorticoides no afectan la COX-1. Cada isoenzima tiene una localización intracelular diferente. La COX-1 se encuentra principalmente sobre la membrana celular del retículo endoplásmico y en algunas ocasiones alrededor del núcleo. La COX-2, en cambio, se localiza predominantemente en la membrana nuclear y en muy pequeña proporción en el citoplasma.<sup>2,5</sup> Estas diferencias hacen pensar que las dos isoenzimas pueden actuar de manera independiente aun dentro de un mismo tejido.

La mayor parte del conocimiento sobre las funciones de ambas isoenzimas proviene de estudios en los que se les inhibe de manera farmacológica con antiinflamatorios no esteroideos (AINE) e inhibidores selectivos de las COX. Recientemente el grupo encabezado por Mahler<sup>3,7,8</sup> investigó algunas de las funciones de las isoenzimas en ratones que carecían de los genes *Ptgs 1* y *Ptgs 2*, responsables de la expresión de las isoenzimas COX-1 y COX-2,

**Cuadro 1**  
 DIFERENCIAS ENTRE LA COX-1 Y LA COX-2  
 DIFFERENCES BETWEEN COX-1 AND COX-2

<i>Properties</i>	<i>COX-1</i>	<i>COX-2</i>
Proposed role	Physiological housekeeping	Inflammatory response
Amino acid homology within the same species (human, mouse, avian)	60%	60%
Intracellular localization	Endoplasmic reticulum membrane (mainly), nuclear envelope (some)	Nuclear envelope (mainly), endoplasmic reticulum membrane (some)
Regulation	Constitutive	Inducible
Range of expression	2 to 4 fold	10 to 80 fold
Tissue expression	Platelets, endothelial cells, stomach, kidney, smooth muscle, most tissues	Most tissues, especially inflammatory cells. Requires stimulation by: growth factors, cytokines & hormones

Elaborated with data from Appleton *et al.*<sup>4</sup> and Cryer and Dubois.<sup>5</sup>

**Cuadro 2**  
 FUNCIONES DE LA COX-1 Y LA COX-2 DETERMINADAS A PARTIR DE RATONES CARENTES  
 DEL GEN *PTGS1* Y *PTGS2*, RESPECTIVAMENTE  
 FUNCTIONS OF COX-1 AND COX-2 DETERMINED BY *PTGS1* AND *PTGS2* GENE DEPLETION IN MICE, RESPECTIVELY

	<i>Ptgs 1 gene knockout mice</i>	<i>Ptgs 2 gene knockout mice</i>
Gastric ulceration	Absence of COX-1 alone was not sufficient to cause gastric ulceration. Its absence decreased rather than increased the incidence of indomethacin-induced gastric ulceration. PGE <sub>2</sub> levels were about 1% of wild type mice.	No gross or microscopic lesions of the stomach.
Platelet aggregation	Reduced.	Not determined.
Inflammation response	Decreased response to arachidonic acid (AA), but not to tetradecanoyl phorbol acetate (TPA).	No decreased response to AA, TPA or carrageenan. Normal response to bacterial invasion of the peritoneum.
Kidneys	No deleterious effects.	Development of nephropathy that becomes more severe and complex with age.
Fertility	Matings between <i>Ptgs1</i> deficient females and mutant males resulted in reduced fertility and prolonged gestation length (1-2 d). Matings between heterozygous or wild type females and mutant males increased fertility and number of live pups in comparison to matings between mutant mice.	Mutant males were fertile. Homozygous mutant females were infertile due to ovulatory failure.

Elaborated with information from Morham *et al.*,<sup>3</sup> Langenbach *et al.*<sup>7</sup> and Mahler *et al.*<sup>8</sup>

to inflammation, parturition and luteolysis. In addition, its absence alone was not sufficient to cause gastric ulceration. On the other hand, COX-2 was not essential for an inflammatory response and took part in cell differentiation, mitogenesis and specific reproductive functions (Table 2). These results should be taken cautiously, since genetic compensation may have occurred in mice.

The above information suggests that COX-2 selective inhibition could produce similar therapeutic effects to those obtained with non-selective NSAIDs, but without the adverse effects of the latter. This reasoning pushed the search and synthesis of COX-2 selective inhibitors (e.g., NS-398, celecoxib, DFU, SC-58125, L-745,337, nimesulide, nabumetone). Due to the adverse effects that limit the utilization of NSAIDs in dogs, it seems reasonable to look at the usage of COX-2 selective inhibitors in this species. This paper describes physiopathological functions of COX-2 in organs and systems where a role for this isoenzyme has been identified. Moreover, it explores the possible use of COX-2 selective inhibitors in some pathologies affecting dogs and the adverse effects these molecules could induce in this species.

## Physiopathological functions of COX-2

### *Gastrointestinal tract (GIT)*

COX-1, but not COX-2, protein has been identified in all normal GIT tissues of dogs,<sup>2</sup> suggesting that PGs required for normal physiological functioning of these tissues are derived from the COX-1 isoform. However, there was an over-expression of COX-2 protein in mice gastric mucosa during the acute phase of induced gastric lesions. Administration of N-(2-cyclohexyloxy-4-nitrophenyl)methane sulfonamide (NS-398), a COX-2 selective inhibitor, delayed the healing process of gastric ulcers. When administered 10 days after gastric ulcer induction, NS-398 did not affect ulcer healing,<sup>2,9</sup> implying the participation of COX-2 in the healing process of this kind of tissue. Furthermore, COX-2 mRNA expression increased three to sixfold after induction of colitis in rats and treatment with COX-2 selective inhibitors resulted in exacerbation of colitis.<sup>2</sup> Administration of NS-398 worsened ileon and liver damage induced by hemorrhagic shock in rats.<sup>10</sup> Up-regulation of COX-2 and consequent PG synthesis derived from this enzyme also produces physiological adaptation to *Salmonella* infection and coordination of a protective response in the GIT mucosa (acceleration in Cl protection).<sup>11</sup> Taken together, these results suggest that high levels of COX-2 during early stages of

respectivamente. Los resultados obtenidos fueron sorprendentes. La COX-1 contribuye en cierto grado al proceso inflamatorio, parto y luteolisis. Además, su ausencia no es causa suficiente para el desarrollo de úlceras gástricas. Por su parte, la COX-2 no es esencial para producir una respuesta inflamatoria y participa en la diferenciación celular, mitogénesis y funciones reproductivas específicas (Cuadro 2). Estos resultados deben tomarse con cierta cautela, ya que se podría haber presentado alguna compensación genética en los ratones.

La información presentada sugiere que la inhibición selectiva de la COX-2 podría producir efectos terapéuticos similares a los obtenidos con AINE no selectivos, pero sin producir los efectos adversos asociados con estos últimos. Este razonamiento motivó la búsqueda y síntesis de inhibidores selectivos de la COX-2 (por ejemplo, NS-398, celecoxib, DFU, SC-58125, L-745,337, nimesulida, nabumetona). Debido a que los efectos adversos limitan el uso de los AINE en perros, parecería congruente explorar el uso de inhibidores selectivos de la COX-2 en esta especie. Este ensayo describe las funciones fisiopatológicas en diferentes órganos y sistemas en los que se ha identificado la participación de la COX-2. Asimismo, postula el posible uso de inhibidores selectivos de la COX-2 en diversas patologías en perros y se destacan los probables efectos adversos que estas moléculas podrían ocasionar en esta especie.

## Funciones fisiopatológicas de la COX-2

### *Tubo gastrointestinal (TGI)*

Se ha identificado la proteína de la COX-1, pero no la de la COX-2, en todos los tejidos normales del TGI de perros.<sup>2</sup> Esto sugiere que las PG necesarias para un funcionamiento fisiológico normal en estos tejidos provienen de la isoforma COX-1. Sin embargo, hubo una sobreexpresión de la proteína COX-2 en la mucosa gástrica de ratones durante la fase aguda de la inducción de lesiones gástricas. La administración de N-(2-ciclohexiloxy-4-nitrofenil)metano sulfonamida (NS-398), un inhibidor selectivo de la COX-2, retardó el proceso de curación de las úlceras durante esta etapa. Cuando se administró el NS-398, diez días después de la inducción de úlceras gástricas, no se modificó el proceso de reparación;<sup>2,9</sup> lo que explica la posible participación de la COX-2 en el proceso de reparación en este tipo de lesiones. Además, la expresión del ARNm de la COX-2 se incrementó de tres a seis veces después de la inducción experimental de colitis en ratas, y la administración de inhibidores selectivos de la COX-2 produjo exacerbación de la colitis.<sup>2</sup> Con la administración de NS-398 se acrecentó el daño en íleon terminal e hígado inducido por choque hemorrágico en ratas.<sup>10</sup> La "activación" de la COX-2 y la consecuente síntesis de PG dependientes de esta enzima también produce una adaptación fisiológica a la infección

some GIT pathological conditions (e.g., gastric ulcers, inflammatory bowel disease) may be involved in the repair process of the disease and that inhibition of this isoenzyme at this time may delay healing.

### **Kidneys**

Under physiological conditions, PGs do not maintain normal renal blood flow, but they do when kidneys are compromised. COX-2 is constitutively and sparsely expressed in some areas of normal dog kidneys, specifically in the macula densa,<sup>12,13</sup> responsible for Na<sup>+</sup> balance and fluid volume by interacting among glomerular filtration, proximal reabsorption and regulation of renin release. However, isoenzyme expression is up-regulated when renal arterial pressure falls to less than 65 mmHg, suggesting a possible role in the maintenance of normal renal function in volume depleted animals.<sup>13</sup> Participation of COX-1 cannot be ruled out either, since indomethacin (non-selective inhibitor of COX) diminished renal blood flow in volume depleted dogs<sup>14</sup> and geriatric men,<sup>15</sup> but 3-(3,4-difluorophenyl)-4-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-2-(5H)-furanone or MK-966 (COX-2 selective inhibitors) did not. Thus, it seems that coordinated action of both isoenzymes maintains renal blood flow in volume depleted patients and confirms that our current knowledge on these isoenzymes in the kidney is still incomplete.

It is worth mentioning that COX-2 knockout mice showed progressive deterioration survival attributed to renal lesions which included hypoplastic nephropathy, reduced numbers of glomeruli, tubular degeneration, proteic and cellular deposition in tubular lumen, interstitial fibrosis, papilar mineralization, glomerular sclerosis and pyelonephritis.<sup>3,8</sup> These results suggest that COX-2 has a role in nephrogenesis and that inhibition of this enzyme during embryonic or neonatal periods may cause the above mentioned alterations. Lack of COX-1 during those early stages of life seems not to affect renal function, at least in mice.<sup>7</sup>

### **Central nervous system (CNS)**

Other organs where COX-2 is expressed constitutively are the brain and the spinal cord. Interestingly, COX-2 is up-regulated in the CNS by normal or abnormal (e.g., convulsive) neural synaptic activity.<sup>1,16</sup> Furthermore, COX-2 protein or mRNA is present in neurons as well as in non-neuronal cells of CNS. Thus, PGs may have a role in CNS transmission and raise the possibility that COX-2 selective inhibitors may modulate some

por *Salmonella* y coordina respuestas protectoras de la mucosa gastrointestinal (aceleración en la protección por iones Cl<sup>-</sup>).<sup>11</sup> En conjunto, estos estudios sugieren que las elevadas concentraciones de la COX-2 durante la fase inicial de algunos padecimientos del TGI (por ejemplo, úlceras gástricas, enfermedad intestinal inflamatoria) podrían participar en el proceso de reparación de la enfermedad y que la inhibición de esta isoenzima en la etapa temprana del padecimiento podría retardar su curación.

### **Riñones**

En condiciones fisiológicas las PG no intervienen en el mantenimiento del flujo sanguíneo renal normal, pero sí intervienen cuando los riñones están comprometidos. La COX-2 se encuentra de manera constitutiva y escasa en ciertas áreas renales de perros sanos, específicamente en la mácula densa,<sup>12,13</sup> responsable del balance de Na<sup>+</sup> y el volumen de líquidos al interactuar entre filtración glomerular, reabsorción proximal y regulación de la liberación de renina. Sin embargo, esta enzima puede sobreexpresarse cuando la presión en la arteria renal es menor a 65 mmHg, lo que sugiere que participa en el mantenimiento de una función renal normal en animales que padecen de volumen sanguíneo disminuido.<sup>13</sup> Aunque tampoco se puede descartar la participación de la COX-1, ya que la indometacina (inhibidor no selectivo de las COX) redujo el flujo sanguíneo renal en perros con volumen sanguíneo reducido<sup>14</sup> y en humanos geriátricos,<sup>15</sup> que no ocurre con la 3-(3,4-difluorofenilo)-4-(4-(metilsulfonilo)fenilo)-2-(5H)-furanonani el MK-966 (inhibidores selectivos de la COX-2). Así, parece ser que la acción coordinada de ambas isoenzimas mantiene el flujo renal en pacientes con volumen circulante disminuido y confirma que el conocimiento que tenemos sobre estas isoenzimas en el riñón es incompleto.

Vale la pena destacar que se observó disminución progresiva de la sobrevivencia de ratones genéticamente modificados que no expresaban la COX-2, atribuida a lesiones renales que incluían hipoplasia de la nefrona, disminución en el número de glomérulos, degeneración tubular, deposición proteínica y celular en el lumen tubular, fibrosis intersticial, mineralización papilar, esclerosis glomerular y pielonefritis.<sup>3,8</sup> Estos resultados sugieren que la COX-2 participa en la nefrogénesis y que la inhibición de esta enzima durante el periodo embrionario o neonatal podría ocasionar las consecuencias señaladas. La falta de COX-1 en estas etapas de la vida parece no afectar el funcionamiento renal, al menos en ratones.<sup>7</sup>

### **Sistema nervioso central (SNC)**

Otros órganos en los que se encuentra la COX-2 de manera constitutiva son el cerebro y la médula espinal. Cabe mencionar que la expresión de la COX-2 en el SNC se incrementa con la actividad sináptica normal y anormal (por ejemplo, convulsiones) de las neuronas.<sup>1,16</sup> Ade-

CNS function.<sup>1,16</sup> For example, some products derived from COX-2 are thought to be involved in nerve transmission related to fever and pain. In the former, brain endothelial cells and microglia COX-2-derived PGs generate neural signals that activate the thermoregulatory center in the preoptic area of the hypothalamus.<sup>1,16</sup> The nociceptive process is most influenced by COX-2 in the spinal cord, but COX-1 plays an important role too.<sup>17</sup>

Apparently, COX-2 also plays a central role in neural development and adaptation. The association between COX-2 induction and neural degeneration suggests that COX-2 may play more of a role in the selective loss of neural connections than in their formation.<sup>1</sup>

While known as a source of PGs during inflammatory states, the microglial cells did not show induction of COX-2 in response to cytokines, but did with lipopolysaccharides (LPS),<sup>18</sup> an event that would only occur *in vivo* by direct bacterial infection of the brain.

## Reproduction

COX-2 is expressed constitutively in the ovary and the uterus and has a role in female reproductive function. During ovulation COX-2 contributes to the rupture of the follicle and after fertilization plays a role during implantation of the embryo in the endometrium.<sup>11</sup> COX-2 may also play a role during the peripartum, since COX-2 mRNA in the amnion and placenta increases substantially immediately before and after the start of labour.<sup>1</sup> Thus, female mice lacking COX-2 are not fertile, while males seem to have normal reproductive functions.<sup>3,8</sup>

## Cardiovascular system

Platelets only express COX-1, therefore COX-2 selective inhibitors have no effect on platelet aggregation, bleeding time and thromboxane (TX) A<sub>2</sub> synthesis.<sup>1,15,19,20</sup> This can be considered as a clinical advantage or disadvantage, depending on the therapeutic goal.

PGI<sub>2</sub> is a vasodilator and an inhibitor of platelet aggregation. COX-2 up-regulation in cells of the smooth muscular vasculature has protective functions by rectifying the loss of PG production after endothelial damage.<sup>21</sup> However, it has also been shown that some COX-2 selective inhibitors (e.g., nimesulide, celecoxib, MK-966) reduced 2,3-dinor-6-keto PGF<sub>1α</sub> circulating concentrations, the main metabolite of PGI<sub>2</sub>, in healthy volunteers,<sup>15,19,20</sup> making mandatory the evaluation of such effects in patients

más, la proteína o el ARNm de la COX-2 está presente en neuronas, así como en células no neuronales del SNC. De tal suerte, es posible que las PG tengan una función en el proceso de neurotransmisión y que los inhibidores selectivos de la COX-2 puedan modular ciertas funciones en el SNC.<sup>1,16</sup> Por ejemplo, se cree que ciertos productos derivados de la COX-2 participan en procesos de neurotransmisión relacionados con la fiebre y el dolor. En el caso de la fiebre, las PG derivadas de la COX-2 de las células endoteliales del cerebro y de la microglia producen señales neuronales que activan el centro termorregulador en el área preóptica del hipotálamo.<sup>1,16</sup> El proceso nociceptivo parece estar principalmente influido por la COX-2 a nivel de la médula espinal, pero la COX-1 también juega un papel importante.<sup>17</sup>

Al parecer, la COX-2 también tiene relevancia en el desarrollo neuronal y la adaptación. La asociación entre la inducción de la COX-2 y la degeneración neuronal sugiere que la COX-2 interviene de manera más selectiva en la pérdida de conexiones neuronales que en su formación.<sup>1</sup>

Las células de la microglia son fuente de PG durante procesos inflamatorios; empero, no se detectó inducción de la COX-2 al estimularlas con citocinas, pero sí con lipopolisacáridos (LPS),<sup>18</sup> un hecho que *in vivo* sólo podría ocurrir por una infección bacteriana directa del cerebro.

## Reproducción

La COX-2 se encuentra de manera constitutiva en el ovario y el útero e interviene en varios procesos reproductivos de la hembra. Durante la ovulación contribuye a la ruptura del folículo y después de la fertilización participa en la implantación embrionaria en el endometrio.<sup>11</sup> En el parto, el ARNm de la COX-2 incrementa sustancialmente en el amnion y en la placenta, la COX-2 aumenta inmediatamente antes y después de comenzado el proceso de parto.<sup>1</sup> Así, los ratones hembra carentes de COX-2 no son fértiles, mientras que los machos parecen tener un funcionamiento reproductivo normal.<sup>3,8</sup>

## Sistema cardiovascular

Las plaquetas únicamente expresan la COX-1, por lo que los inhibidores selectivos de la COX-2 no tienen influencia sobre la agregación plaquetaria, el tiempo de sangrado y la síntesis de tromboxano (TX) A<sub>2</sub>.<sup>1,15,19,20</sup> Esto puede considerarse como una ventaja o desventaja clínica, dependiendo del fin terapéutico que se busque.

La PGI<sub>2</sub> es un vasodilatador e inhibidor de la agregación plaquetaria. La inducción de la COX-2 en células de la musculatura vascular lisa posee funciones protectoras al rectificar la pérdida de producción de PG que se da después del daño endotelial.<sup>21</sup> Sin embargo, también se ha observado que algunos inhibidores selectivos de la COX-2 (por ejemplo, nimesulida, celecoxib, MK-966) son capaces de reducir en voluntarios sanos,

at cardiovascular risk. COX-2 inhibition has also been related with sodium retention in geriatric men.<sup>15</sup>

## **Respiratory system**

COX-2 is expressed constitutively in rat lungs, mainly in smooth muscle cells of partially muscular veins, where it aids in the regulation of pulmonary vascular tone.<sup>22</sup> In asthma and related diseases, there is an excessive proliferation of smooth muscle cells from human airways,<sup>21</sup> and proliferation of these cells is inhibited by COX-2 up-regulation.<sup>23</sup>

## **Bone**

In humans, PGs regulate bone cell function. Mainly PGE<sub>2</sub>, which stimulates bone resorption by osteoclasts and bone formation by osteoblasts. PG produced by osteoblasts are derived mainly from COX-2.<sup>24</sup> PG-mediated bone resorption is associated with inflammation and immobilization, whereas PG-dependent heteropathic ossification, a process of new bone formation, is observed in humans submitted to hip replacement.<sup>24</sup>

## **Pancreas**

COX-2 is predominantly expressed in pancreatic islets of hamsters and humans, and is responsible of PG production in these cells;<sup>21</sup> therefore inhibition of this isoenzyme may have effects on glucose regulation in some patients.

## **Possible therapeutic indications of COX-2 selective inhibitors in dogs**

### **Inflammation**

Increased expression of COX-2 induces a rapid production of PGs in inflamed tissues.<sup>1,5,11,21,25,26</sup> Pharmacologically, the sole inhibition of COX-2 is enough to achieve the same antiinflammatory effects achieved with non selective NSAIDs, which also inhibit COX-1.<sup>27-30</sup> Selective inhibition of COX-2 has minor effects on PG production in non-inflamed tissues. For example, in a canine model of inflammation, COX-2 selective inhibitors nimesulide, nabumetone and 1-[(4-methylsulfonyl)phenyl]-3-tri-fluoro-methyl-5-[(4-fluoro)phenyl]prazol (SC-58125), attenuated the production of COX metabolites in the inflammatory exudate, but not in peripheral blood.<sup>6</sup> However, there are some studies that attribute an anti-inflammatory effect

las concentraciones circulantes de 2,3-dinor-6-keto PGF<sub>1α</sub>, el principal metabolito de la PGI<sub>2</sub>,<sup>15,19,20</sup> por lo que será necesario evaluar estos efectos en pacientes con riesgo de daño cardiovascular. También se ha relacionado la retención de sodio en humanos geriátricos con la inhibición de la COX-2.<sup>15</sup>

## **Aparato respiratorio**

La COX-2 se encuentra de manera constitutiva en pulmones de ratas, predominantemente en células musculares lisas de venas parcialmente musculares, donde participa en la regulación del tono vascular pulmonar.<sup>22</sup> En casos de asma y enfermedades relacionadas, existe una excesiva proliferación de células musculares lisas de las vías aéreas humanas,<sup>21</sup> y la inducción de la COX-2 inhibe la proliferación de dichas células.<sup>23</sup>

## **Hueso**

En humanos, las PG regulan el funcionamiento de las células óseas. Principalmente la PGE<sub>2</sub>, que estimula la resorción ósea por los osteoclastos y la formación ósea por los osteoblastos. Las PG producidas por los osteoblastos derivan principalmente de la COX-2.<sup>24</sup> Los procesos inflamatorios y de inmovilización se asocian con resorción ósea mediada por PG, mientras que la osificación heterotópica en humanos sometidos a remplazo de cadera es un proceso de formación de hueso nuevo, dependiente también de las PG.<sup>24</sup>

## **Páncreas**

En los islotes pancreáticos de hámsters y humanos predomina la COX-2 y es responsable de la producción de PG en estas células,<sup>21</sup> por lo que la inhibición de esta isoenzima podría tener cierto efecto sobre la regulación de glucosa de algunos pacientes.

## **Posibles usos terapéuticos de los inhibidores selectivos de la COX-2 en perros**

### **Inflamación**

La producción acelerada de PG en los tejidos inflamados se debe a una sobreexpresión de la COX-2.<sup>1,5,11,21,25,26</sup> Farmacológicamente se ha observado que la sola inhibición de la COX-2 es suficiente para lograr los mismos efectos antiinflamatorios que con los AINE no selectivos, que también inhiben la COX-1.<sup>27-30</sup> La inhibición selectiva de la COX-2 afecta sólo sutilmente la producción de PG en los tejidos no inflamados. Esto se observó en un modelo de inflamación en perros, en los que los inhibidores selectivos de la COX-2 nimesulida, nabumetona y 1-[(4-metilsulfonylo)fenilo]-3-tri-fluoro-metilo-5-[(4-fluoro)fenilo]prazol (SC-58125), disminuyeron la producción de metabolitos derivados de la COX en el exudado inflamatorio, pero no en la sangre periférica.<sup>6</sup> Sin embar-

for COX-2 selective inhibitors only at doses that block both COX isoenzymes,<sup>31,32</sup> an issue also brought out in dogs treated with nimesulide.<sup>33</sup>

Arthritis is one of the most important inflammatory diseases associated with COX-2. In fact, several COX-2 selective inhibitors have proven to be very efficient in controlling this problem in humans.<sup>28-30</sup> Dogs are also prone to develop arthritis and carprofen, a COX-2 selective inhibitor in this species,<sup>34</sup> seems to be as therapeutically efficient as several NSAIDs, but with a minor incidence of adverse effects. Therefore, it seems reasonable to assert that COX-2 selective inhibitors more potent than carprofen in dogs, may find a place in the therapeutics of this disease, since it has been shown that, at least in humans, these drugs are capable of blocking osteoclast formation or diminishing osteoclastogenic response to parathyroid hormone, 1,25 dihydroxyvitamin D and other stimulators of bone resorption.<sup>24</sup> Paradoxically, inhibition of bone formation by COX-2 selective inhibitors may be beneficial in cases of osteoarthritis if damage to the articular cartilage is associated with increased density of subchondral bone and articular rigidity.<sup>24</sup>

### **Total hip replacement**

Patients submitted to hip replacement suffer a PG-dependent process of new bone formation, known as heterotopic ossification. NSAIDs diminish this effect, but increase the risk of bleeding.<sup>24</sup> COX-2 selective inhibitors may produce a similar effect, but without affecting coagulation.

### **Spinal cord acute trauma**

It is known that COX-2 plays a role in cerebrospinal trauma. Increased expression of COX-2 was shown in basilar arteries of dogs submitted to experimentally-induced subarachnoid hemorrhage. COX-2 activity was enough to increase eicosanoid production and modify hemodynamics after subarachnoid hemorrhage.<sup>35</sup> COX-2 selective inhibition by SC-58125 improves general functioning of rats with experimentally-induced spinal trauma.<sup>36</sup> Therefore, COX-2 selective inhibitors may be included as part of the treatment of some spinal cord disorders of dogs, specially those of traumatic origin.

### **Pain**

By acting locally or centrally, COX-2 can mediate pain responses. It has been extensively shown that COX-2 selective inhibitors diminish pain responses in rodents

go, existen estudios que ponderan que los efectos antiinflamatorios de los inhibidores selectivos de la COX-2 se logran únicamente a dosis que inhiben ambas isoenzimas de la COX,<sup>31,32</sup> caso que también se ha documentado en perros tratados con nimesulida.<sup>33</sup>

Una de las enfermedades inflamatorias más importantes asociada con la COX-2 es la artritis. De hecho, se ha demostrado que varios inhibidores selectivos de la COX-2 son muy eficaces para controlar este padecimiento en humanos.<sup>28-30</sup> Los perros también son propensos a presentar artritis y el carprofeno, un inhibidor selectivo de la COX-2 en esta especie,<sup>34</sup> parece ser igualmente eficaz que varios AINE pero con menor incidencia de efectos adversos. De ahí que sea congruente postular que algunos fármacos más selectivos que el carprofeno para inhibir la COX-2 en perros, podrían lograr un lugar importante en la terapéutica de este padecimiento, ya que se ha visto que, al menos en humanos, son capaces de bloquear la formación de osteoclastos o disminuir la respuesta osteoclastogénica a la hormona paratiroidea, la 1,25 dihidroxivitamina D y otros estimuladores de la resorción ósea.<sup>24</sup> Paradójicamente, si el incremento en la densidad de hueso subcondral y la rigidez articular son factores importantes en el daño al cartilago, será benéfica la inhibición de la formación ósea por medio de inhibidores selectivos de la COX-2 en la osteoartritis.<sup>24</sup>

### **Remplazo total de cadera**

Los pacientes sometidos a remplazo de cadera sufren un proceso de formación de hueso nuevo dependiente de las PG, denominado osificación heterotópica. Este proceso se reduce con la administración de AINE, pero se incrementa el sangrado.<sup>24</sup> Es posible que el uso de inhibidores selectivos de la COX-2 tenga un efecto similar, pero sin afectar la coagulación.

### **Daño agudo de la médula espinal**

Se sabe que la COX-2 participa en procesos de daño cerebroespinal. Al inducir una hemorragia subaracnoidea de manera experimental, se observó una sobreexpresión de la COX-2 en las arterias basilares de perros. Esta actividad de la COX-2 fue suficiente para incrementar la producción de eicosanoides y alterar la hemodinamia después de la hemorragia subaracnoidea.<sup>35</sup> Se ha demostrado que la inhibición selectiva de la COX-2 con SC-58125 mejora el funcionamiento general de ratas con daño espinal inducido en forma experimental.<sup>36</sup> Por tanto, los inhibidores selectivos de la COX-2 podrían formar parte del tratamiento de algunas afecciones de la médula espinal en perros, sobre todo aquellas de origen traumático.

### **Dolor**

La COX-2 puede mediar la respuesta al dolor a través de una acción local y también a nivel central. Varios estudios



using different nociceptive models.<sup>17,25,27,37</sup> In humans, in fact, celecoxib and rofecoxib efficiently suppress dental, osteoarthritic and rheumatoid pain.<sup>28-30,38</sup> COX-2 selective inhibitors may be quite useful analgesics for dogs, since traditional analgesics (e.g., opioids,  $\alpha_2$  agonists, NSAIDs) produce several undesirable side effects.

### **Fever**

COX-2 selective inhibitors (DFU and L-745,337) have proven to be efficient antipyretics in piglets and chimpanzees inoculated with bacterial LPS.<sup>39,40</sup> Similarly, an antipyretic effect of nimesulide was reported in dogs with Freund adjuvant-induced arthritis. However, participation of COX-1 was not ruled out by the authors.<sup>33</sup>

### **Cancer**

Piroxicam and some other NSAIDs have antitumoral activity in dogs.<sup>41</sup> COX-2 enzyme is highly expressed in colorectal, gastric and mammary gland tumors of human beings and animals, in comparison to adjacent normal tissues that express null or low levels of the enzyme.<sup>1,2,5,11,21</sup> Likewise, COX-2 was found to be expressed in transitional cell carcinoma in the urinary bladder of dogs, while normal bladder cells expressed COX-1 only.<sup>42</sup> This results suggest that COX-2 may be involved in cancer growth and progression and, therefore, COX-2 selective inhibitors may be part of the treatment of certain kinds of tumors.

Antitumoral effects of NSAIDs are not mediated by a direct cytotoxic effect or by PG synthesis inhibition. Increased levels of ceramide, an apoptosis mediator within the cell, was recently pointed out to be responsible for the antitumoral effect.<sup>43</sup> Thus, NSAIDs, by inhibiting COX enzymes, increase AA cellular concentrations, which stimulate the neutral sphingomyelinase enzyme, which in turn catalyzes the conversion of sphingomyeline to ceramide.

### **Asthma**

Since favorable clinical responses in asthmatic patients were observed after inhibition of nuclear factor  $\kappa$ B, which regulates COX-2 gene and other inflammatory genes,<sup>44</sup> the use of COX-2 selective inhibitors for the treatment of some types of asthma was proposed.<sup>45</sup> However, no clinical reports of their use in asthmatic patients are available and, furthermore some people speculate that their use may produce or worsen an asthma attack,<sup>21</sup> due to the lack of knowledge about the precise function of each PG on the

en roedores y con diferentes modelos nociceptivos, han demostrado que los inhibidores selectivos de la COX-2 reducen la respuesta al dolor.<sup>17,25,27,37</sup> En humanos, de hecho, se ha demostrado que el celecoxib y el rofecoxib suprimen de manera eficiente el dolor dental, osteoartítico o por artritis reumatoide.<sup>28-30,38</sup> Los inhibidores selectivos de la COX-2 podrían ser muy útiles en perros para brindar analgesia, ya que los analgésicos tradicionales (por ejemplo, opioides, agonistas  $\alpha_2$ , adrenérgicos, AINE) ocasionan muchos efectos colaterales indeseables.

### **Fiebre**

Algunos estudios en lechones y chimpancés inoculados con LPS bacterianos demuestran que los inhibidores selectivos de la COX-2 (DFU y L-745,337) son agentes antipiréticos muy eficaces.<sup>39,40</sup> De forma similar, se observó un efecto antipirético con nimesulida en perros con artritis inducida por adyuvante de Freund. Sin embargo, los autores no descartaron una probable participación de la COX-1.<sup>33</sup>

### **Cáncer**

El piroxicam y algunos otros AINE poseen actividad antitumoral en perros.<sup>41</sup> Los tumores colorrectales, gástricos y de glándula mamaria en humanos y animales expresan altos niveles de la enzima COX-2, en comparación con los tejidos adyacentes normales, que la expresan en niveles bajos o nulos.<sup>1,2,5,11,21</sup> De igual manera, se demostró que las células del carcinoma de células transicionales en la vejiga urinaria de perros expresan la COX-2, mientras que las células normales de la vejiga sólo expresan la COX-1.<sup>42</sup> Esto sugiere que la COX-2 podría estar involucrada en procesos de crecimiento y desarrollo del cáncer, por lo que los inhibidores selectivos de la COX-2 podrían ser parte del tratamiento de cierto tipo de tumores.

Los efectos anticancerígenos de los AINE no están mediados por un efecto citotóxico directo y tampoco se piensa que la inhibición de la síntesis de PG sea directamente responsable del efecto antitumoral. Recientemente se postuló que el efecto antitumoral de los AINE se debe al incremento de ceramida en la célula, un mediador de la apoptosis.<sup>43</sup> Así, los AINE, al inhibir las acciones de las COX, elevan la concentración celular de AA, el cual estimula a la enzima esfingomielinasa neutral, que cataliza la conversión de esfingomielina a ceramida.

### **Asma**

Se sabe que la inhibición del factor nuclear  $\kappa$ B, responsable de la regulación del gen de la COX-2 y de otros genes involucrados en procesos inflamatorios, genera respuestas clínicas favorables en pacientes asmáticos,<sup>44</sup> por lo que se propuso a los inhibidores de la COX-2 como una alternativa para el tratamiento de ciertas formas de asma.<sup>45</sup> Sin embargo, no existen informes clínicos disponibles de

airways. Nonetheless, it would be worth evaluating the therapeutic potential of COX-2 selective inhibitors in dogs suffering from obstructive respiratory diseases similar to asthma in humans. There is evidence that this approach may be beneficial in veterinary medicine. Their use has been suggested for cases of respiratory diseases that involve pulmonary edema. Administration of COX-2 selective inhibitors (NS-398, DUP697, SC-236) prevented AA-induced hypertension and concomitant edema formation in isolated rat lungs.<sup>22</sup>

## Endotoxemia

Endotoxemia is associated with the expression of COX-2 and an overproduction of AA metabolites due to cellular destruction.<sup>46</sup> However, the role of these metabolites in circulatory failure and multiple organ dysfunction caused by endotoxins is unclear. COX-2 selective inhibitors (celecoxib and NS-398) did not attenuate circulatory failure (hypotension) or multiple organ failure caused by administration of *Escherichia coli* LPS in rats.<sup>47</sup> However, experimental administration of SC-236 did avoid retribution during pulmonary reperfusion experimental induced in dogs by acute pulmonary damage using a bacterial endotoxin.<sup>48</sup> Although regarded as useful, it is not known if these molecules and NSAIDs in general, improve the clinical outcome of a patient with endotoxemia.

## COX-2 selective inhibitors in dogs

Selectivity of NSAIDs and COX-2 selective inhibitors to *in vitro* or *ex vivo* inhibit COX isoenzymes is quite variable, even for the same drug. In part, this is due to differences in the experimental models used. COX-1:COX-2 inhibition ratios for many drugs differ from one model to another.<sup>5,49</sup> This is why the same methodology must always be followed and enzymes from the target species have to be used, since differences exist from one species to another. Always using the same methodology, Ricketts *et al.*<sup>34</sup> evaluated *in vitro* dog COX-1 and COX-2 selective inhibition capability of several NSAIDs, finding that carprofen, specially its S(+) enantiomer, was highly selective for inhibition of COX-2 (COX-1:COX-2 = 129 y 181, respectively). Nimesulide, meclofenamic acid and tolfenamic acid also showed selectivity, though to a lesser degree, for inhibition of COX-2 (COX-1:COX-2 = 38, 15.4 y 15, respectively). Meloxicam and, surprisingly, phenylbutazone showed relative preference in the inhibition of COX-2 over COX-1 (COX-1:COX-2 = 2.9 y 2.6, respectively). Etodolac, flunixin, ketoprofen

su uso e incluso hay quienes especulan que podrían llegar a desencadenar o agravar un cuadro asmático,<sup>21</sup> debido a que se desconoce con exactitud la función de cada PG sobre las vías respiratorias. No obstante, valdría la pena evaluar el potencial clínico de los inhibidores selectivos de la COX-2 en perros que sufren de enfermedades respiratorias obstructivas, similares al asma en humanos. Existen indicios de que este enfoque puede ser de utilidad en veterinaria. Se ha postulado ya su uso en algunas enfermedades respiratorias que involucran la formación de edema pulmonar. En pulmones aislados de rata, la hipertensión inducida por AA y la formación concomitante de edema se evitaron al administrar inhibidores selectivos de la COX-2 (NS-398, DUP697, SC-236).<sup>22</sup>

## Endotoxemia

La endotoxemia se asocia con la expresión de la COX-2 y una sobreproducción de metabolitos del AA por la destrucción celular.<sup>46</sup> Empero, aún no es claro el papel de estos metabolitos en la falla circulatoria y la denominada falla orgánica múltiple causada por las endotoxinas. Los inhibidores de la COX-2 (celecoxib y NS-398) no disminuyeron la falla circulatoria (hipotensión) ni la falla orgánica múltiple en ratas inoculadas con el LPS de *Escherichia coli*.<sup>47</sup> Sin embargo, sí se evitó con SC-236 la pérdida de la redistribución en la reperfusion pulmonar, inducida experimentalmente en perros por daño pulmonar agudo con una endotoxina bacteriana.<sup>48</sup> Aunque se han postulado como útiles, se desconoce si estos compuestos y en general los AINE, mejoran el cuadro clínico del paciente con endotoxemia.

## Inhibidores selectivos de la COX-2 en perros

La selectividad de los AINE y de los inhibidores selectivos de la COX-2 para inhibir *in vitro* o *ex vivo* las isoenzimas de la COX es muy variable, aun para el mismo fármaco. En parte, esto se debe a diferencias en los modelos experimentales utilizados. La secuencia de las proporciones de inhibición COX-1:COX-2 de varios fármacos cambian de un modelo a otro.<sup>5,49</sup> Es por esto que siempre se debe seguir la misma metodología y utilizar enzimas procedentes de la especie a tratar, ya que también existen diferencias de una especie a otra. Utilizando siempre la misma metodología, Ricketts *et al.*<sup>34</sup> evaluaron la capacidad selectiva de diferentes AINE para inhibir *in vitro* a la COX-1 y la COX-2 de perros, y encontraron que el carprofeno, en especial su enantiomero S(+), fue muy selectivo para inhibir a la COX-2 (COX-1:COX-2 = 129 y 181, respectivamente). La nimesulida, el ácido meclofenámico y el ácido tolfenámico también mostraron un comportamiento selectivo, aunque menor, hacia la COX-2 (COX-1:COX-2 = 38, 15.4 y 15, respectivamente). El meloxicam y, de manera sorprendente, la fenilbutazona mostraron una preferencia relativa

**Cuadro 3**

VALORES FARMACOCINÉTICOS DEL CARPROFENO (4MG/KG IV) EN PERROS CON Y SIN FLUJO BILIAR ALTERADO DE MANERA EXPERIMENTAL (IMPLANTACIÓN DE CATHÉTER EN EL DUCTO BILIAR COMÚN)  
 PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF CARPROFEN (4MG/KG IV) IN DOGS WITH AND WITHOUT EXPERIMENTALLY ALTERED BILE FLOW (CATHETER IMPLANTATION WITHIN THE COMMON BILIAR DUCT)

Type of dog	Enantiomer	Cl* (ml/h/kg)	Vd <sub>ss</sub> ** (l/kg)	MRT*** (h)
Normal bile flow	R(-)	17.1	0.12	6.7
	S(+)	28.2	0.19	7.1
Altered bile flow	R(-)	16.1	0.11	7.4
	S(+)	37.8	0.17	5.2

Modified from Priymenko *et al.*<sup>35</sup>

\* Cl = clearance.

\*\* Vd<sub>ss</sub> = volume of distribution at steady state.

\*\*\* MRT = mean residence time.

and acetylsalicylic acid inhibited COX-1 more selectively. In an *ex vivo* study, Kirchner *et al.*<sup>6</sup> found that acetylsalicylic acid inhibited COX enzymes in a non-selective fashion; indomethacin and tenidap behaved ambivalently with relative preference for inhibition of COX-1 during the first five hours and COX-2 at 24 hours (COX-1:COX-2 = >0.23 and >6.7 for indomethacin and >0.89 and >5 for tenidap, respectively). Nabumetone showed a marked selectivity for inhibition of COX-2 (COX-1:COX-2 = >100) and nimesulide did so in a similar way, though it was not as evident at the beginning (COX-1:COX-2 = 6.47 at five hours and >100 at 24 hours). SC-58125 showed a relative preference for inhibition of COX-2 (COX-1:COX-2 = >1.73 and >10 at five and 24 hours, respectively).

## Carprofen

Carprofen is a drug developed to be used in veterinary medicine. Its use began approximately ten years ago in some European countries, but it was not until 1996 that the United States of America Food and Drug Administration (FDA) approved its use in dogs. Its main indication is to provide analgesia and relieve inflammation in osteoarthritis.<sup>50</sup> However, its analgesic effect is so good that preemptive analgesia (administration of analgesics before surgery) stu-

para inhibir la COX-2 sobre la COX-1 (COX-1:COX-2 = 2.9 y 2.6, respectivamente). El etodolaco, la flunixinina, el ketoprofeno y el ácido acetilsalicílico fueron más selectivos para inhibir la COX-1. En su estudio *ex vivo*, Kirchner *et al.*<sup>6</sup> encontraron que el ácido acetilsalicílico fue un inhibidor no selectivo de las COX; la indometacina y el tenidap mostraron un comportamiento ambivalente con preferencia relativa por la inhibición de la COX-1 durante las primeras cinco horas y por la COX-2 a las 24 horas (COX-1:COX-2 = >0.23 y >6.7 para la indometacina y >0.89 y >5 para el tenidap, respectivamente). La nabumetona mostró una marcada selectividad por la COX-2 (COX-1:COX-2 = >100) y de manera similar la nimesulida, aunque no fue tan evidente al principio (COX-1:COX-2 = 6.47 a las cinco horas y >100 a las 24 horas). El SC-58125 mostró una preferencia relativa para inhibir la COX-2 (COX-1:COX-2 = >1.73 y >10 a las cinco y 24 horas, respectivamente).

## Carprofeno

El carprofeno es un fármaco desarrollado para uso en medicina veterinaria. Desde hace unos diez años se utiliza en países europeos, pero no fue sino hasta finales de 1996 que la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos de América aprobó su uso en perros. Su principal indicación es como analgésico y antiinflamatorio en casos de osteoartritis.<sup>50</sup> Sin embargo, su efecto analgésico es tan bueno que se ha estudiado su capacidad para proveer analgesia preventiva (administración del analgésico

dies have been conducted in dogs, showing that it is as efficient as some opioids as well as having the advantage of longer effect with no signs of sedation.<sup>51-53</sup> Furthermore, in contrast to other NSAIDs, it does not increase bleeding time<sup>54</sup> nor does it affect renal function during or after anesthesia.<sup>55</sup> More studies are necessary before a recommendation of the use of carprofen in preemptive analgesia is made. In addition, monitoring of arterial pressure under any circumstance should be carried out to minimize, as much as possible, the chance of inducing renal failure.

Carprofen, being a 2-arylpropionic acid, possesses an asymmetric carbon atom and has two enantiomers: R(-) and S(+). Commercial products are sold as a racemic mixture (50:50) of both enantiomers, which do not suffer chiral bioinversion [transformation of R(-) enantiomer into S(+) enantiomer and viceversa] and present independent pharmacokinetics in the dog<sup>56</sup> (Table 3). Apparently, both enantiomers follow similar metabolism (glucuronid acid conjugation) in the dog,<sup>57</sup> but after elimination through the bile, only S(+)-carprofen suffers enterohepatic recirculation (34% of a 4 mg/kg intravenous dose), maybe due to the glucuronidase-resistant isoglucuronic epimers formed by R(-)-carprofen,<sup>56</sup> making residence of the S(+) isomer in the organism more lengthy and thus this isomer is probably responsible for most of the biological activity of the drug, such as has been demonstrated with other 2-arylpropionic acid compounds.<sup>58</sup>

The beneficial effect of carprofen is partially due to its action on chondrocytes. Glycosaminoglycan synthesis rate was increased with carprofen at concentrations of 1 and 10 µg/ml, no change in total protein synthesis, pattern of new protein synthesis and cellular viability was observed; but at concentrations ≥ 20 µg/ml, proteoglycan and total protein synthesis was inhibited.<sup>59</sup> Thus, optimum therapeutic dose of carprofen for arthritic conditions in dogs will depend upon its action on chondrocytes and its anti-inflammatory effect.

Carprofen seems to produce no major gastrointestinal upsets in dogs, since chronic administration during 28 days at a dose of 2.2 mg/kg orally (po) every 12 hours produced the same gastroduodenal lesions as did saline solution administration.<sup>60</sup> Furthermore, no clinical signs of GIT upset were observed when administered at a dose of 9 mg/kg/day during 14 days.<sup>61</sup> Unpublished clinical information from the authors indicate that chronic administration of carprofen [2.2 mg/kg po twice a day (bid) with food] for up to two months, produced no major clinical upsets in arthritic dogs. Nonetheless, discontinued dosifications with alternated periods of no medication as long-lasting as the clinician judges pertinent are rec-

sico antes de un procedimiento quirúrgico) en perros, en los cuales se ha observado que es tan eficaz como algunos opioides, pero con la ventaja de que su efecto es más duradero y sin signos de sedación.<sup>51-53</sup> Además, a diferencia de otros AINE, no incrementa el tiempo de sangrado<sup>54</sup> ni afecta de manera significativa el funcionamiento renal durante o después de la anestesia.<sup>55</sup> Es necesario señalar que aún se requieren más estudios para poder recomendar el uso del carprofeno en la analgesia preventiva. Además, bajo cualquier circunstancia se requerirá hacer un seguimiento constante de la presión arterial para minimizar, en lo posible, un probable daño renal.

Por ser un miembro del grupo de los ácidos 2-arylpropiónicos, el carprofeno posee un átomo de carbono asimétrico y se presenta como dos enantiómeros: R(-) y S(+). El producto comercial se vende como una mezcla (50:50) de ambos enantiómeros, los cuales no sufren bioinversión [transformación del enantiómero R(-) al S(+) o viceversa] y presentan una farmacocinética independiente en el perro<sup>56</sup> (Cuadro 3). Al parecer, el metabolismo hepático que sufren ambos enantiómeros en el perro (conjugación con ácido glucurónico) es muy similar,<sup>57</sup> pero al ser eliminados con la bilis, el S(+)-carprofeno es el único que sufre recirculación enterohepática (34% de una dosis de 4 mg/kg por vía endovenosa), tal vez porque el R(-)-carprofeno forma epímeros isoglucurónidos resistentes a la glucuronidasa,<sup>56</sup> lo que hace que el isómero S(+) permanezca más tiempo en el organismo y posiblemente sea el responsable de la mayor acción biológica del fármaco, como se ha demostrado con otros compuestos del grupo de los ácidos 2-arylpropiónicos.<sup>58</sup>

Parte del efecto benéfico del carprofeno se debe a su acción sobre los condrocitos. En concentraciones de 1 y 10 µg/ml se incrementó la velocidad de síntesis de glicosaminoglicanos sin producir cambios en la síntesis total de proteínas, en el patrón de síntesis de nuevas proteínas y en la viabilidad celular, pero concentraciones ≥ 20 µg/ml inhibieron la síntesis de proteoglicanos y de proteínas totales.<sup>59</sup> Así, la acción del carprofeno sobre condrocitos y su efecto antiinflamatorio determinarán su dosis terapéutica óptima para condiciones artríticas en perros.

El carprofeno parece no producir mayores trastornos gastrointestinales en perros, ya que su administración crónica por 28 días a razón de 2.2 mg/kg por vía oral (po) cada 12 horas produjo el mismo grado de lesiones gastroduodenales que la administración de solución salina.<sup>60</sup> Además, no se observaron signos clínicos de afecciones del TGI cuando se administró a dosis de 9 mg/kg/día por 14 días.<sup>61</sup> En experiencias clínicas no publicadas, los autores han constatado que la administración crónica de carprofeno [2.2 mg/kg po dos veces al día (bid) junto con el alimento] hasta por dos meses, no ocasionó trastornos clínicos de importancia en perros con problemas artríticos. No obstante, siempre es recomendable programar dosificaciones discontinuas con periodos de no medica-

ommended. Currently, carprofen is considered as the safest NSAID in dogs,<sup>62</sup> but evidence of the gastrointestinal, renal and hepatic toxic potential exist for this drug; for example, a FDA webpage\* indicates that 39% of 3 626 records of adverse drug reactions received during 1998 by the FDA Veterinary Medicine Center involved carprofen. Gastrointestinal, renal, urinary, hematopoyetic, nervous and hepatic systems were the most prone to present side effects. Approximately 13% of the cases ended in death or euthanasia of the dog; this percentage is not considerably different from that obtained with other non-selective NSAIDs such as piroxicam.<sup>63</sup>

Another study in the United States of America informed of clinical signs such as anorexia, vomiting and icterus, clinicopathologic abnormalities such as hyperbilirubinemia, increased serum concentrations of the hepatic enzymes alanine transaminase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase, as well as histopathological findings of hepatic necro-

ción tan prolongados como el clínico juzgue. A la fecha, se considera al carprofeno como el AINE más seguro para utilizar en perros;<sup>62</sup> sin embargo, existen indicios que señalan el potencial tóxico de este fármaco a nivel gastrointestinal, renal y hepático; por ejemplo, en la página electrónica de la FDA\* se destaca que 39% de 3 626 informes de reacciones adversas que recibió el Centro de Medicina Veterinaria de la FDA durante 1998 involucraron al carprofeno. Los efectos adversos más frecuentes fueron a nivel gastrointestinal, renal y urinario, hemato-poyético, nervioso y hepático. Aproximadamente 13% de los casos terminaron en muerte o sacrificio del perro; este porcentaje no es sustancialmente diferente del obtenido con otros AINE no selectivos como el piroxicam.<sup>63</sup>

En otro estudio realizado en Estados Unidos de América se informó de signos clínicos como anorexia, vómito e ictericia, anormalidades clinicopatológicas como hiperbilirrubinemia, incremento en las concentraciones séricas de las enzimas hepáticas alaninotransaminasa, fosfatasa alcalina y aspartatotransaminasa y hallazgos histopatológicos

**Cuadro 4**  
PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS PARA LA NIMESULIDA EN PERROS  
PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF NIMESULIDE IN DOGS

Parameter (units)	Route of administration		
	Intravenous	Intramuscular	Oral
Dose (mg/kg)	5.05 (4.92-5.18)*	4.91 (ND)*	5.61 (3.85-6.67)*
$t_{1/2}^{**}$ (h)	8.5	14	6.2
MRT <sup>***</sup> (h)	12.6	29.1	12.8
$V_{ss}^{\dagger}$ (l/kg)	0.18		
$Cl^{\ddagger}$ (ml/kg/h)	15.3		
AUC <sup>°</sup> (µg/h/ml)	351	228	173
F <sup>°°</sup> (%)		69	47
$T_{max}^{\dagger}$ (h)		10.9	6.1
$C_{max}^{\dagger\dagger}$ (µg/ml)		6.1	10.1

Modified from Toutain *et al.*<sup>65</sup>

\* Mean and (range). ND=no data.

\*\*  $t_{1/2}^a$  = elimination half-life.

\*\*\* MRT = mean residence time.

$\dagger V_{ss}$  = volume of distribution at steady state.

$\ddagger Cl$  = clearance.

$^{\circ} AUC$  = area under the curve from the graph plasma concentration vs time.

$^{\circ\circ} F$  = bioavailability.

$\dagger T_{max}$  = time of maximum concentration.

$\dagger\dagger C_{max}$  = maximum concentration.

\* <http://www.fda.gov/cvm/fda/TOCs/adetoc.html>

sis in dogs having received carprofen.<sup>64</sup> In the United Kingdom, such adverse reactions had not been observed in dogs even though these drugs have been utilized for a long time. Apparently, in the United States of America carprofen was utilized at twice the dose used in the United Kingdom, suggesting a narrow therapeutic index for this drug. An idiosyncratic response between populations was also posited. At the recommended dose (2.2 mg/kg po

de necrosis hepática en perros que recibieron carprofeno.<sup>64</sup> Estas reacciones adversas no se habían observado en perros del Reino Unido, en donde este medicamento se utiliza desde hace mucho tiempo. Al parecer, en Estados Unidos de América se comenzó a utilizar el carprofeno al doble de la dosis que se usaba en el Reino Unido, por lo que su índice terapéutico parecería ser muy estrecho. Otra posibilidad que se manejó fue una respuesta de idiosincrasia entre las dos poblaciones. A la dosis recomendada (2.2



**Cuadro 5**

VALORES FARMACOCINÉTICOS DEL CELECOXIB (5 MG/KG)\* DESPUÉS DE UNA SOLA ADMINISTRACIÓN EN PERROS METABOLIZADORES EFICIENTES (ME) Y DEFICIENTES (MD)

PHARMACOKINETIC VALUES OF CELECOXIB (5 MG/KG)\* AFTER SINGLE ADMINISTRATION IN EXTENSIVE METABOLIZER (EM) AND POOR METABOLIZER (PM) DOGS

Dog phenotype	Route of administration and formulation	$t_{1/2}^{\dagger}$ (h)	$Vd_{ss}^{\ddagger}$ (l/kg)	$Cl^{\S}$ (ml/min/kg)	$AUC^{\P}$ (ng/ml)h	$C_{max}^{\#}$ (ng/ml)	$T_{max}^{\#}$ (h)	$F^{\S\S}$ (%)
EM	iv	1.3	1.9	21.8	4.04			
PM	iv	5.1	2.3	7.4	11.05			
EM	po, solution				2.63	0.82	0.67	63.7
	po, neat chemical capsule				0.95	0.23	1.5	21.7
	po, formulated capsule				0.97	0.28	1.3	24.0
PM	po, solution				10.5	1.32	0.5	88.2
	po, neat chemical capsule				4.4	0.58	3.3	39.4
	po, formulated capsule				3.0	0.32	1.3	27.2
EM	neat chemical capsule, fastened overnight				1.7	0.23	1.5	27.4
	neat chemical capsule, low-fat diet				4.1	0.67	3.0	59.9
	neat chemical capsule, medium-fat diet				4.1	0.58	5.3	60.4
	neat chemical capsule, high-fat diet				5.0	0.66	4.0	74.4
PM	neat chemical capsule, fastened overnight				3.9	0.49	2.3	42.2
	neat chemical capsule, low-fat diet				8.1	0.89	3.8	87.5
	neat chemical capsule, medium-fat diet				6.3	0.76	4.7	67.9
	neat chemical capsule, high-fat diet				8.8	0.89	7.3	93.7
EM, PM	Intragastric, solution (10 mg/kg)				11.3	1.62	0.69	
	Intraduodenal, solution (10 mg/kg)				10.1	1.46	1.13	
	Intrajejunal, solution (10 mg/kg)				12.1	1.06	2.25	
	Intracolonic, solution (10 mg/kg)				10.8	0.79	8.5	

\* Except where indicated.

<sup>†</sup>  $t_{1/2}^{\dagger}$  = elimination half-life.

<sup>‡</sup>  $Vd_{ss}^{\ddagger}$  = volume of distribution at steady state.

<sup>§</sup>  $Cl^{\S}$  = clearance.

<sup>¶</sup>  $AUC^{\P}$  = area under the curve of the graph plasma concentration vs time.

<sup>††</sup>  $C_{max}^{\#}$  = maximum concentration.

<sup>‡‡</sup>  $T_{max}^{\#}$  = time of maximum concentration.

<sup>§§</sup>  $F^{\S\S}$  = bioavailability.

Modified from Paulson *et al.*<sup>68</sup>



bid), carprofen is still regarded an efficient, safe drug for dogs.<sup>62</sup>

## Nimesulide

Nimesulide has been a marketed drug in several Latin American countries since a few years ago. Evaluation of COX-selective inhibition for this drug in two different studies showed some preference to inhibit COX-2 with a COX-1:COX-2 ratio of 38<sup>34</sup> and 13.<sup>65</sup> A recommended dose of 5 mg/kg for dogs achieves, according to Toutain *et al.*,<sup>65</sup> plasma drug concentrations high enough to, *in vitro*, inhibit COX-1 by 50%. Therefore, it was suggested that the recommended dose of nimesulide is either too high or that its therapeutic effect is observed only after an almost complete inhibition of COX-2, implying some degree of inhibition of COX-1.<sup>65</sup> Nonetheless, it should be considered that drug plasma concentration necessary to inhibit COX-1 does not necessarily correspond to where nimesulide's pharmacological action is taking place. Additionally, *in vitro:in vivo* correlation does not always occur.

Nimesulide produced antipyretic and analgesic/anti-inflammatory (force to put weight on an affected limb) effects in dogs suffering from Freund's adjuvant-induced arthritis. The concentration producing half-maximal effect was calculated in 2.7 µg/ml and 6 µg/ml, respectively.<sup>33</sup> It was also evident that administration of nimesulide at a dose of 2.5 mg/kg po bid was better than a once a day (sid) 5 mg/kg dose to diminish fever in these dogs. However, the 5 mg/kg po sid dose is better in the treatment of severe inflammatory processes.<sup>33</sup> With a 5 mg/kg po sid dose, nimesulide reaches 76% of the theoretical maximal drug efficacy to diminish pyresis and 43% to produce analgesia/control inflammation.<sup>33</sup>

The pharmacokinetic parameters of nimesulide in dogs were published recently<sup>65</sup> (Table 4). Although absorption of nimesulide through the GIT is incomplete, the oral route is the preferred route of administration. No accumulation kinetic profile was observed with an oral administration of 5 mg/kg/day during five days.<sup>65</sup> Alternatively, a single intramuscular injection of nimesulide might be used as therapy of acute inflammation, since half-life elimination of the drug after intramuscular administration is very slow due to the fact that elimination depends more on the rate of absorption than that of elimination.<sup>65</sup>

Biochemically, by reducing PGE<sub>2</sub> and LTB<sub>4</sub> production and leukocyte migration in the inflammatory exudate, nimesulide (10 mg/kg po) diminished the carragennan-induced inflammatory response in dogs without affecting COX-1 (*ex vivo* production of PGE<sub>2</sub>) in peripheral blood.<sup>6</sup> This contrasts with Toutain *et*

mg/kg po bid), el carprofeno sigue siendo calificado aún como un fármaco eficaz y seguro en perros.<sup>62</sup>

## Nimesulida

La nimesulida es un fármaco que se comercializa desde hace varios años en diversos países de América Latina. Al evaluar la selectividad de este fármaco para inhibir las COX de perros, dos estudios encontraron cierta preferencia para inhibir la COX-2 con una relación COX-1:COX-2 de 38<sup>34</sup> y 13.<sup>65</sup> En perros, se recomienda una dosis de 5 mg/kg con la que, según Toutain *et al.*,<sup>65</sup> se obtienen concentraciones plasmáticas del fármaco capaces de inhibir *in vitro* a la COX-1 en 50%. Por tanto, estos autores sugieren que la dosis recomendada de nimesulida es muy alta, o que su efecto terapéutico sólo se observa si se inhibe a la COX-2 casi de manera completa, lo que también implicaría cierto grado de inhibición de la COX-1.<sup>65</sup> A pesar de ello, debe ponderarse que la concentración capaz de inhibir a la COX-1 en el plasma no necesariamente corresponde a la que se tiene en el sitio donde realmente se lleva a cabo la acción farmacológica de la nimesulida. Adicionalmente, no siempre se relaciona lo observado *in vitro* con lo que sucede *in vivo*.

La nimesulida produjo un efecto antipirético y analgésico/antiinflamatorio (fuerza para apoyar el miembro afectado) en perros con artritis inducida por adyuvante de Freund. La concentración 50% eficaz para estos dos efectos se calculó en 2.7 µg/ml y 6 µg/ml, respectivamente.<sup>33</sup> También fue evidente que la administración de nimesulida a razón de 2.5 mg/kg po bid fue mejor que la de 5 mg/kg po una vez al día (sid) para disminuir la piresis en estos perros. Sin embargo, es más recomendable la dosis de 5 mg/kg po sid para el tratamiento de procesos inflamatorios severos.<sup>33</sup> Si se administra una dosis de 5 mg/kg po sid, la nimesulida alcanza 76% del efecto teórico máximo para disminuir la piresis, y 43% para producir analgesia/control de la inflamación.<sup>33</sup>

Recientemente se definió la farmacocinética de la nimesulida en perros<sup>65</sup> (Cuadro 4). A pesar de que la absorción de la nimesulida es parcial a través del TGI del perro, es la vía de administración preferida. No muestra cinética acumulativa por dicha vía a dosis de 5 mg/kg/día durante cinco días.<sup>65</sup> En forma alterna, se podría utilizar una sola administración intramuscular de nimesulida para terapias antiinflamatorias de curso agudo, ya que la vida media de eliminación del fármaco cuando se administra por esta vía es muy lenta, dado que su eliminación depende más de la velocidad de absorción que de la de eliminación.<sup>65</sup>

Desde un punto de vista bioquímico, la nimesulida (10 mg/kg po) disminuyó la respuesta inflamatoria al reducir la producción de PGE<sub>2</sub> y LTB<sub>4</sub> y la migración de leucocitos en el exudado inflamatorio inducido por la aplicación de carragenina en perros y no afectó a la COX-1 (producción *ex vivo* de PGE<sub>2</sub>) en sangre periféri-

*al.*<sup>65</sup> findings, which show that a 5 mg/kg po dose inhibits COX-1 activity by 50% in blood from dogs. These discrepancies might be due to methodological differences and to measured responses in determining COX-1 inhibition (TXA<sub>2</sub> by Toutain *et al.*<sup>65</sup> and PGE<sub>2</sub> by Kirchner *et al.*<sup>6</sup>); therefore, findings should be taken cautiously. To further complicate matters, nimesulide, just as other NSAIDs, seems to inhibit COX in a time-dependent fashion, since a PGE<sub>2</sub> inhibition ratio of 6.47 in inflammatory exudate:peripheral blood at five hours and more than 100 at 24 hours was observed in dogs suffering from carrageenan-induced inflammation.<sup>6</sup>

## Celecoxib

This is a drug marketed for treatment of rheumatoid arthritis in humans. After oral administration to dogs, celecoxib (1 y 100 mg/kg po) binds to plasma proteins in 98.5 ± 0.1%.<sup>66</sup> Intravenous administration of radiomarked celecoxib in dogs showed that more than 80% radioactivity was excreted as a carboxylic acid metabolite through the feces. Oxidation of the aromatic methyl group of celecoxib formed a hydroxy-methyl metabolite, which in turn endured oxidation to form the analogous carboxylic acid. Urine is the second most important elimination route for the metabolite.<sup>67</sup>

Metabolism of celecoxib in dogs, at least Beagle dogs, follows two identified phenotypes: extensive metabolizer (EM) and poor metabolizer (PM) dogs.<sup>67,68</sup> This produces pharmacokinetic differences between both populations. After a single 5 mg/kg intravenous dose, celecoxib showed a larger area under the curve (AUC), and a slower elimination half-life and clearance in PM dogs than in EM dogs (Table 5). Oral bioavailability of celecoxib (5 mg/kg) solution was 3- to 4-fold in comparison to capsulated celecoxib whether as neat chemical or formulated. A faster absorption rate of celecoxib solution was also evident (Table 5), reflecting that its bioavailability depends on the rate of dispersion and dissolution. AUC values and time to maximum serum drug concentration in dogs receiving celecoxib (7.5, 12.5 y 17.5 mg/kg po bid) for up to one year, were dose-dependent but constant throughout the experiment. Similarly, these values were greater for PM dogs than for EM dogs, due to greater first-pass metabolism in EM dogs.<sup>68</sup> In comparison to dogs with restricted access to food, oral bioavailability of celecoxib (5 mg/kg, capsulated as neat chemical) was increased 3- to 5-fold in dogs with free access to food, but absorption was slower. Drug's longer permanence in the stomach and larger dispersion and dissolution are likely to have

ca.<sup>6</sup> Esto último contrasta con lo propuesto por Toutain *et al.*,<sup>65</sup> quienes sugieren que una dosis de 5 mg/kg po inhibe en 50% la actividad de la COX-1 en sangre de perros. La discrepancia en resultados se puede deber a diferencias metodológicas y a la respuesta medida para determinar la inhibición de la COX-1 (TXA<sub>2</sub> por Toutain *et al.*<sup>65</sup> y PGE<sub>2</sub> por Kirchner *et al.*<sup>6</sup>), por lo que se deben tomar con cierta reserva estos hallazgos. Para complicar el cuadro, la nimesulida, al igual que varios AINE, parece inhibir a las COX en forma dependiente del tiempo, ya que en perros con inflamación local inducida con carragenina se observó una proporción de la inhibición de PGE<sub>2</sub> en el exudado inflamatorio: sangre periférica de 6.47 a las cinco horas y mayor a 100 a las 24 horas.<sup>6</sup>

## Celecoxib

El celecoxib es un fármaco que se comercializa para el tratamiento de la artritis reumatoide en humanos. Cuando se administra por vía oral a perros, el celecoxib (1 y 100 mg/kg po) se une a proteínas plasmáticas en 98.5 ± 0.1%.<sup>66</sup> La administración endovenosa de celecoxib radiomarcado a perros, demostró que más del 80% de la actividad radiactiva se excretó por heces en forma de metabolito ácido carboxílico. Este ácido se formó por oxidación del grupo metilo aromático del celecoxib, para formar un metabolito hidroximetilo, que sufrió oxidación subsecuente al formar el análogo ácido carboxílico. La orina es la segunda vía de excreción del metabolito.<sup>67</sup>

Los perros, al menos los de raza Beagle, metabolizan el celecoxib bajo dos fenotipos identificados: metabolizadores eficientes (ME) y metabolizadores deficientes (MD).<sup>67,68</sup> Esto hace que existan diferencias farmacocinéticas entre las dos poblaciones. Después de una sola administración endovenosa a razón de 5 mg/kg, el celecoxib tuvo un área bajo la curva (ABC) mayor, una vida media de eliminación más prolongada y una depuración más lenta en perros MD que en perros ME (Cuadro 5). La biodisponibilidad oral fue 3-4 veces mayor cuando se administró el celecoxib (5 mg/kg) en forma de solución que en encapsulado, ya sea puro o en fórmula. También la velocidad de absorción fue más rápida con la presentación en solución que en cápsulas (Cuadro 5), lo cual refleja que su biodisponibilidad depende de la velocidad de dispersión y disolución. En perros a los que se les administró celecoxib (7.5, 12.5 y 17.5 mg/kg po bid) hasta por un año, los valores de ABC y el tiempo en el que se presenta la concentración máxima del fármaco en plasma fueron dependientes de la dosis, pero permanecieron constantes durante todo el periodo. De igual forma, estos valores fueron mayores para perros MD que en perros ME, lo que se debe a un mayor metabolismo de primer paso en perros ME.<sup>68</sup> La presencia de alimento incrementó la biodisponibilidad oral del celecoxib (5 mg/kg, encapsulado en forma pura) 3-5 veces en comparación con perros con acceso restringido al alimento, pero el proceso de absorción fue más lento. Es factible que el fármaco haya permanecido



happened. Biliar salts and gastric juice secretion may have contributed to dissolution of the drug.<sup>68</sup> After direct administration in the stomach, duodenum, jejunum and colon, absorption of celecoxib (10 mg/kg) solution was similar but slower at the colon, suggesting that celecoxib is highly permeable throughout the GIT.<sup>68</sup> Currently, this drug is patent-protected and is expensive. Yet, its evaluation in veterinary medicine looks promising and even more so for the control of arthritis in dogs.

## Others

Similarly to nimesulide, it seems that SC-58125 inhibits COX enzymes in a time-dependent manner in dogs with carragenan-induced local inflammation. PGE<sub>2</sub> inhibitory ratio in inflammatory exudates: peripheral blood was 1.73 and higher than 10 at five and 24 hours, respectively. Nabumetone does not seem to behave this way, since ratio of inhibition was higher than 100 at five and 24 hours.<sup>6</sup>

Biochemically, SC-58125, nabumetone and RWJ 63556 [COX-2/5-lipooxygenase (5-LOX) dual inhibitor] reduced carragenan-induced PGE<sub>2</sub> and LTB<sub>4</sub> production and leukocyte migration to inflammatory exudate in dogs, but they did not inhibit *ex vivo* production of PGE<sub>2</sub> in blood. Furthermore, RWJ 63556 inhibited LTB<sub>4</sub> production in blood,<sup>6</sup> suggesting that sole inhibition of COX-2 is not enough to produce an antiinflammatory effect and that COX-2 selective inhibitors, in the same way as conventional NSAIDs,<sup>69</sup> have additional mechanisms to control inflammation.

Synthesis of COX-2/5-LOX dual inhibitors have been done in the hope of achieving similar antiinflammatory effects to that of glucocorticoids, but without the side effects of the latter. However, the clinical relevance of these compounds in inflammation is not characterized yet, thus opening an important area of applied clinical research.

## Side effects of COX-2 selective inhibitors

Although it seems that no alterations in coagulation time and only "minor" gastrointestinal and renal problems have been observed, COX-2 selective inhibitors have been used in a relatively small number of healthy and carefully selected patients to whom high levels of monitoring have been provided. However, these selective inhibitors are aimed at a mass market and side effects will take time and much patient exposure to emerge, and pharmacovigilance will be necessary during the following years. Nonetheless, possible side effects have been identified already. One of these is wound healing expressed as delay in

más tiempo en estómago y haya habido mayor dispersión y disolución del fármaco. La secreción de sales biliares y de jugo gástrico también pudieron contribuir a la disolución del fármaco.<sup>68</sup> Cuando se administró en forma de solución y de manera directa en el estómago, el duodeno, el yeyuno y el colon, la proporción de celecoxib (10 mg/kg) que se absorbió fue similar en todos los sitios pero la absorción fue más lenta a partir del colon. Esto sugiere que el celecoxib es un fármaco altamente permeable a través del TGI.<sup>68</sup> Este fármaco tiene protección de patente en la actualidad, por lo que resulta costoso. Empero, es factible que pronto pueda evaluarse en medicina veterinaria, sobre todo en perros para el control de la artritis.

## Otros

Al igual que la nimesulida, al parecer el SC-58125 inhibe la COX en forma dependiente del tiempo en perros con inflamación local inducida de manera experimental con carragenina. La proporción de la inhibición de PGE<sub>2</sub> en el exudado inflamatorio: sangre periférica fue de 1.73 y mayor a 10 a las cinco y 24 horas, respectivamente. La nabumetona no parece comportarse de esta manera, pues la proporción de la inhibición fue mayor a 100 a las cinco y 24 horas.<sup>6</sup>

Desde un punto de vista bioquímico, el SC-58125, la nabumetona y el RWJ 63556 [inhibidor dual de la COX-2/5-lipooxygenase (5-LOX)] redujeron la producción de PGE<sub>2</sub> y LTB<sub>4</sub> y la migración de leucocitos en el exudado inflamatorio inducido por la aplicación de carragenina en perros, pero no inhibieron la producción *ex vivo* de PGE<sub>2</sub> en sangre. Además, el RWJ 63556 inhibió la producción de LTB<sub>4</sub> en sangre,<sup>6</sup> lo que sugiere que la sola inhibición de la COX-2 no es suficiente para producir un efecto antiinflamatorio y que los inhibidores selectivos de la COX-2, al igual que algunos AINE convencionales,<sup>69</sup> tienen mecanismos adicionales para controlar la inflamación.

Se han sintetizado inhibidores duales de la COX-2/5-LOX con la esperanza de lograr efectos antiinflamatorios similares a los glucocorticoides, pero sin los efectos colaterales de estos últimos. Sin embargo, aún no se caracteriza la relevancia clínica de estos compuestos en procesos inflamatorios, lo que brinda una importante área de investigación clínica aplicada.

## Efectos colaterales de los inhibidores selectivos de la COX-2

Aunque al parecer no modifican el tiempo de coagulación y tan sólo se han observado problemas "menores" a nivel gastrointestinal y renal, los inhibidores selectivos de la COX-2 se han utilizado en un número relativamente bajo de individuos sanos y de pacientes cuidadosamente seleccionados a los cuales se les ha dado un seguimiento riguroso de su condición. Sin embargo, estos inhibidores

the healing of gastric ulcers.<sup>2,9</sup> Because of the regular use of NSAIDs to control postoperative pain, it is very likely that COX-2 selective inhibitors may be used for this. Any indication that surgical wound healing might be hindered with COX-2 selective inhibitors will discourage their use. Another possible side effect is based on the results from *Ptgs 2* gene knockout mice, which developed fatal nephropathy.<sup>3,8</sup> In fact, there are reports describing the development of acute renal insufficiency in newborn children from mothers who received nimesulide for several weeks before parturition.<sup>70-73</sup> Direct pharmacological damage or that mediated through inhibition of the rennin-angiotensin axis and modulated by genetic factors have been proposed as a possible explanation. Nimesulide has also been associated with hepatic damage in humans and can even progress to fulminant hepatic failure.<sup>74</sup> Carprofen, as mentioned above, has some hepatotoxic potential in dogs.<sup>64</sup>

Although COX-2 selective inhibitors seem to not affect bleeding times, selective inhibition of COX-2 may induce unbalance between the production of the anti-thrombotic PGI<sub>2</sub>, derived from COX-2, and the pro-thrombotic TXA<sub>2</sub>, derived from COX-1, generating cardiovascular problems of thrombotic origin.<sup>75</sup> Documented evidence of high systolic and diastolic pressure in patients that received rofecoxib also exists.<sup>75</sup>

Bone remodeling is highly likely to be affected by COX-2 selective inhibitors. However, it is difficult to predict whether these effects will be either beneficial or adverse; yet it is likely to depend on individual cases. It may be beneficial to patients with high bone formation, but hinderance of this formation might occur resulting in the weakening of bone structure in other patients;<sup>24</sup> it is therefore imperative to determine for each COX-2 selective inhibitor what it affects more, bone resorption or bone formation.

Chronic administration of flosulide and L-745,337 to rats, at the same dose that inhibited articular inflammation induced by a *Mycobacterium butyricum* adjuvant, produced immunosuppression by diminishing IgG antibodies against *M. butyricum*.<sup>76</sup> If this is also true for other bacterial infections, the risk should be pondered validating them with the expected benefits of COX-2 selective inhibitors.

Despite the fact that COX-2 is important for female reproductive processes,<sup>1,11</sup> illustrated by sterility of female mice lacking the gene that expresses this isoenzyme,<sup>3,8</sup> no available information exist on the effects of COX-2 selective inhibitors on female fertility of either laboratory animals or human beings. However, arterious ductus constriction was observed in fetal lambs after administration of celecoxib and NS-398, though in a minor proportion to that observed with indometha-

selectivos están enfocados para un mercado masivo y la aparición e identificación de efectos adversos tomará tiempo y una mayor exposición de los individuos a los medicamentos, por lo que será necesario llevar a cabo un seguimiento cercano del desempeño de estos fármacos en los próximos años. Sin embargo, ya se han identificado posibles efectos colaterales. Uno de ellos es la cicatrización, expresada principalmente por retardo en la reparación de úlceras gástricas.<sup>2,9</sup> Como se tiene como rutinario el uso de AINE para controlar el dolor posoperatorio, es muy factible que se evalúe la utilización de inhibidores selectivos de la COX-2 para este fin. Cualquier indicación de que la cicatrización de heridas quirúrgicas se altera con inhibidores selectivos de la COX-2, desalentará su uso. El otro posible efecto adverso se basa en resultados de ratones carentes del gen *Ptgs 2*, los cuales desarrollaron nefropatía incompatible con la vida.<sup>3,8</sup> De hecho, hay casos que describen el desarrollo de insuficiencia renal en niños recién nacidos de madres que recibieron nimesulida por varias semanas antes del parto.<sup>70-73</sup> Se sospecha de un daño farmacológico directo o mediado por inhibición de la renina-angiotensina y modulado por posibles factores genéticos. También se ha asociado la nimesulida con daño hepático en humanos, el cual puede progresar a falla hepática fulminante.<sup>74</sup> El carprofeno, como ya se mencionó, tiene cierto potencial hepatotóxico en perros.<sup>64</sup>

Aunque al parecer los inhibidores selectivos de la COX-2 no afectan el tiempo de sangrado, la inhibición selectiva de la COX-2 podría inducir un desbalance entre la producción del antitrombótico PGI<sub>2</sub>, derivado de la COX-2, y el protrombótico TXA<sub>2</sub>, derivado de la COX-1, lo que desencadenaría problemas cardiovasculares de tipo trombotico.<sup>75</sup> También se han documentado incrementos en la presión sistólica y diastólica de pacientes que recibieron rofecoxib.<sup>75</sup>

Es muy probable que los inhibidores selectivos de la COX-2 afecten la remodelación ósea. Sin embargo, resulta difícil predecir si estos efectos serán benéficos o adversos, y muy probablemente dependerán de cada caso. Es factible que sea benéfica en pacientes en los cuales hay una alta formación ósea, pero en otros pacientes bloquearán dicha formación y debilitarán la consolidación ósea,<sup>24</sup> por lo que es necesario determinar para cada inhibidor selectivo de la COX-2, si produce mayor efecto sobre la resorción o la formación ósea.

La administración crónica de flosulida y L-745,337 en ratas, a las mismas dosis que inhibieron el proceso articular inflamatorio inducido por un adyuvante de *Mycobacterium butyricum*, produjeron inmunosupresión al disminuir los niveles plasmáticos de anticuerpos IgG contra *M. butyricum*.<sup>76</sup> Si esto también es cierto para otro tipo de infecciones bacterianas, se deberá ponderar este riesgo con los beneficios que se esperarían obtener con la administración del inhibidor selectivo de la COX-2.

cin.<sup>77</sup> Many studies focused on evaluating the effects of COX-2 selective inhibitors in the lactating or pregnant female as well as the fetus and neonate are still to be carried out; sheep seem to be a good experimental model.

It is worth mentioning that Paulson *et al.*<sup>68</sup> did not record any adverse effect with the use of celecoxib (7.5, 12.5 y 17.5 mg/kg po bid) administered for up to one year in dogs.

## Conclusions

From 1991, when COX-2 was first identified, many resources have been invested in the development of drugs that inhibit the inducible isoform of COX in a selective way, hoping to achieve similar therapeutic effects to that of the NSAIDs but without their adverse effects. If in dogs, a particularly susceptible species to present adverse reactions to NSAIDs, COX-2 selective inhibitors follow this behavior, these drugs may be quite important for the treatment of different entities in this species. For example, carprofen in dogs, a drug 129 times more potent in the inhibition of COX-2 over COX-1 in this species,<sup>34</sup> is reasonably well tolerated and efficient in controlling pain and inflammation related to osteoarthritic problems.<sup>62</sup> However, it should be noted that COX-2 selective inhibitors may not be more potent than NSAIDs, but may have a safer gastrointestinal profile. Many NSAIDs do not fulfill this in dogs and are not used.<sup>60,78</sup>

In contrast to most drugs, the massive gathering of information on some of the COX-2 selective inhibitors (e.g. nimesulide, celecoxib) granted them approval for commercial use and distribution in European countries and the United States of America in less than eight years after having been synthesized. These facts, as well as the progress in molecular genetics, have allowed identification of several physiopathological functions of both COX-1 and COX-2, which are valuable to make the use of NSAIDs and COX-2 selective inhibitors more rational. Based on this review, it is logical to consider that both NSAIDs and COX-2 selective inhibitors have wanted and unwanted biological effects. COX-2 selective inhibitors are safer to the GIT but have a major prothrombotic effect, whereas the gastrointestinal toxic potential for some NSAIDs is significant but these do possess a cardioprotective effect. Also, there are NSAIDs that fit between these two extremes. The clinician must consider the risks and benefits of selecting the most appropriate drug for a particular patient. He or she must also remember that smaller doses than the recommended ones are efficient in some patients and,

A pesar de la importancia que tiene la COX-2 en procesos reproductivos femeninos,<sup>1,11</sup> destacada por la esterilidad de ratones hembra carentes del gen que expresa esta isoenzima,<sup>3,8</sup> no existen registros en animales de laboratorio ni en seres humanos sobre el efecto de los inhibidores selectivos de la COX-2 en la fertilidad de la hembra. Sin embargo, en fetos de corderos se observó constricción del ducto arterioso al administrar celecoxib y NS-398, aunque de menor proporción que lo observado con indometacina.<sup>77</sup> Aún resta realizar muchos ensayos destinados a evaluar los efectos de los inhibidores selectivos de la COX-2, tanto en la hembra gestante o lactante como en el feto y el neonato, al parecer el borrego se ofrece como un modelo ideal.

Resulta importante mencionar que Paulson *et al.*<sup>68</sup> no registraron efectos adversos en perros a los que se les administró celecoxib (7.5, 12.5 y 17.5 mg/kg po bid) hasta por un año.

## Conclusiones

A partir de 1991, año en el que se identificó la COX-2, se han invertido grandes recursos para desarrollar compuestos que inhiban de manera selectiva la isoforma inducible de la COX, con la hipótesis de lograr efectos terapéuticos similares a los logrados con los AINE, pero sin sus efectos adversos. Si en perros, una de las especies domésticas más susceptibles a presentar reacciones adversas a los AINE, los inhibidores selectivos de la COX-2 se comportan de acuerdo con esta premisa, estos fármacos serían muy importantes dentro de los procedimientos terapéuticos en esta especie. Un ejemplo es el carprofeno en perros, en los cuales es 129 veces más selectivo para inhibir a la COX-2 que a la COX-1;<sup>34</sup> es razonablemente bien tolerado y al mismo tiempo eficaz para disminuir el dolor y la inflamación en problemas osteoarthríticos.<sup>62</sup> Sin embargo, cabe mencionar que los inhibidores selectivos de la COX-2 podrían no ser más potentes que los AINE, pero sí tener un perfil gastrointestinal más seguro. Muchos AINE no cumplen esta característica en perros y no se les utiliza.<sup>60,78</sup>

A diferencia de la mayoría de los medicamentos, el gran acopio de información sobre algunos inhibidores selectivos de la COX-2 (por ejemplo, nimesulida, celecoxib) permitió que se aprobara su uso y distribución comercial para humanos en países europeos y en Estados Unidos de América en menos de ocho años, después de haberse sintetizado. Estos acontecimientos, así como el avance en genética molecular, han permitido identificar diversas funciones fisiopatológicas tanto de la COX-1 como de la COX-2, lo cual servirá para utilizar de forma más racional los AINE y los inhibidores selectivos de la COX-2. Con base en esta revisión, resulta obvio considerar que tanto los AINE como los inhibidores selectivos de la COX-2 poseen efectos biológicos favorables y desfavorables. Los inhibidores selectivos de la COX-2 son más

therefore, the risk of inducing adverse effects are diminished.

Just as the NSAIDs,<sup>79</sup> preemptive analgesia may be one of the most promising uses for COX-2 selective inhibitors. However, it should be considered that COX-2 plays a major role in maintenance of renal blood flow and, hence, the clinician should monitor arterial blood pressure during anesthesia and rectify any alteration to minimize the possibility of presenting renal failure. If no way of monitoring and rectifying blood pressure is available, use of COX-2 selective inhibitors before surgery is not recommended.

The precise physiopathological role of COX enzymes in the dog and other species is incompletely understood. There is no doubt that availability of drugs that selectively inhibit these enzymes and genetic modification of animals will help to better understand the role of COX enzymes. The functioning of COX enzymes is a fertile research area that will contribute to determine the value of COX-2 selective inhibitors in dogs. It is noteworthy that speculation about the existence of a COX-3 was voiced a few years ago,<sup>80</sup> but it was until recently that existence of a COX-2 variant was demonstrated. This COX-2 variant was induced with high concentrations of NSAIDs and was highly sensible to acetaminophen inhibition.<sup>81</sup> The authors proposed that COX-3 might derive from the very same gene as COX-2, but that the isoenzymes might possess different molecular characteristics.

The inclusion of COX-2 selective inhibitors into the small animal clinic awaits their assessment in controlled experimental and clinical trials. Except for carprofen, there are very few reports on the use of COX-2 selective inhibitors in dogs. Information is lacking concerning the effects of these drugs on the healing of surgical wounds, bone remodeling, female fertility and parturition, on the fetus and neonates, on patients suffering from diabetes or cardiovascular problems, as well as their efficacy for the treatment of several diseases (e.g. respiratory problems, cancer). Experiments that evaluate these and other therapeutic and toxic effects of COX-2 selective inhibitors will have to include a positive control group receiving a NSAID, so as to determine the real clinical value of inhibiting COX-2 only or both isoenzymes.

seguros para el TGI, pero tienen un mayor efecto pro-trombótico, mientras que algunos AINE tienen un potencial tóxico mayor a nivel del TGI, pero tienen un efecto cardioprotector. También encontramos AINE entre estos dos extremos del espectro. El clínico deberá considerar los riesgos y beneficios al momento de seleccionar el fármaco más apropiado para cada paciente. También deberá recordar que dosis menores a las recomendadas son clínicamente eficaces en algunos pacientes y, por lo tanto, el riesgo de presentar efectos adversos disminuye.

Al igual que los AINE,<sup>79</sup> uno de los usos más evidentes que tendrían los inhibidores selectivos de la COX-2 sería proveer analgesia preventiva. Empero, se debe considerar que la COX-2 juega un papel importante en el mantenimiento del flujo sanguíneo renal y, por tanto, es responsabilidad del clínico hacer un seguimiento de la presión arterial durante el procedimiento anestésico y corregir cualquier alteración para minimizar la probabilidad de que se presente falla renal. Si no se tienen los medios necesarios para evaluar y corregir la presión sanguínea, no se recomienda el uso de inhibidores selectivos de la COX-2 antes de una cirugía.

Aún hace falta saber con mayor precisión el papel fisiopatológico que juegan las COX en el perro y muchas otras especies. La disponibilidad de fármacos que inhiben de manera selectiva estas enzimas y la capacidad de modificar animales de manera genética, sin duda alguna ayudarán a comprender mejor la importancia de las COX. El estudio del funcionamiento de las COX representa una fértil área de investigación que contribuirá a determinar la importancia de los inhibidores selectivos de la COX-2 en perros. Cabe mencionar que desde hace años se especuló sobre la existencia de una COX-3<sup>80</sup> y fue hasta hace poco que se demostró la existencia de una variante de la COX-2, la cual se indujo con altas concentraciones de AINE y fue altamente sensible a la inhibición por el acetaminofeno.<sup>81</sup> Los autores propusieron que posiblemente la COX-3 podría derivar del mismo gen que la COX-2, pero las isoenzimas poseen características moleculares diferentes.

La inclusión de inhibidores selectivos de la COX-2 en la clínica de pequeñas especies aún aguarda la evaluación de estos fármacos en animales experimentales y casos clínicos controlados. Con excepción del carprofeno, son pocos los informes del uso de inhibidores selectivos de la COX-2 en perros y la información aún es incompleta. Hace falta evaluar el efecto de estos agentes sobre la cicatrización de heridas quirúrgicas, la remodelación ósea, la fertilidad y el proceso de parto en las hembras, los fetos y los neonatos, los pacientes diabéticos o con problemas cardiovasculares, así como su eficacia en el tratamiento de varias afecciones (por ejemplo, problemas respiratorios, cáncer). Los estudios que evalúen éstos y otros potenciales efectos terapéuticos y tóxicos de los inhibidores selectivos de la COX-2, deberán incluir un grupo testigo positivo al que se le administre un AINE, para así determinar el verdadero valor clínico de sólo inhibir la COX-2 o ambas isoenzimas.

## Referencias

1. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1998;38:97-120.
2. Sakamoto C. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. *J Gastroenterol* 1998;33:618-624.
3. Morham SG, Langenbach R, Loftin CD, Tiano HF, Voloumanos N, Jennette JC, *et al*. Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse. *Cell* 1995;83:473-482.
4. Appleton I, Tomlinson A, Willoughby DA. Induction of cyclo-oxygenase and nitric oxide synthase in inflammation. *Adv Pharmacol* 1996;35:27-78.
5. Cryer B, Dubois A. The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase - a review. *Prostaglandins Lipid Mediat* 1999;56:341-361.
6. Kirchner T, Argentieri DC, Barbone AG, Singer M, Steber M, Ansell J, *et al*. Evaluation of the antiinflammatory activity of a dual cyclooxygenase-2 selective/5-lipoxygenase inhibitor, RWJ 63556, in a canine model of inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;282:1094-1101.
7. Langenbach R, Morham SG, Tiano HF, Loftin CD, Ghanayem BI, Chulada PC, *et al*. Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration. *Cell* 1995;83:483-492.
8. Mahler JF, Davis BJ, Morham SG, Langenbach R. Disruption of cyclooxygenase genes in mice. *Toxicol Pathol* 1996;24:717-719.
9. Shigeta J, Takahashi S, Okabe S. Role of cyclooxygenase-2 in the healing of gastric ulcers in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;286:1383-1390.
10. Tsukada K, Hasegawa T, Tsutsumi S, Kuwano H. Roles of cyclooxygenase-2 in tissue injury during hemorrhagic shock. *Shock* 2000;13:392-396.
11. Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, van de Putte LBA, Lipsky PE. Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB J* 1998;12:1063-1073.
12. Venturini CM, Isakson P, Needleman P. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced renal failure: a brief review of the role of cyclo-oxygenase isoforms. *Curr Opin Nephrol Hypertension* 1998;7:79-82.
13. Khan KNM, Venturini CM, Bunch RT, Brassard JA, Koki AT, Morris DL, *et al*. Interspecies differences in renal localization of cyclooxygenase isoforms: implications in nonsteroidal antiinflammatory drug-related nephrotoxicity. *Toxicol Pathol* 1998;26:612-620.
14. Black SC, Brideau C, Cirino M, Belley M, Bosquet J, Chan C, Rodger IW. Differential effect of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor versus indomethacin on renal blood flow in conscious volume-depleted dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998;32:686-694.
15. Catella-Lawson F, McAdam B, Morrison BW, Kapoor S, Kujubu D, Antes L, *et al*. Effects of specific inhibition of cyclooxygenase-2 on sodium balance, hemodynamics, and vasoactive eicosanoids. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;289:735-741.
16. Kaufmann WE, Andersson KI, Isakson PC, Worley PF. Cyclooxygenases and the central nervous system. *Prostaglandins* 1997;54:601-624.
17. Willingale HL, Gardiner NJ, McLymont N, Giblett S, Grubb BD. Prostanoids synthesized by cyclo-oxygenase isoforms in rat spinal cord and their contribution to the development of neuronal hyperexcitability. *Br J Pharmacol* 1997;122:1593-1604.
18. Minghetti L, Nicolini A, Polazzi E, Greco A, Perretti M, Parente L, Levi G. Down regulation of microglial cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by lipocortin 1. *Br J Pharmacol* 1999;126:1307-1314.
19. Cullen L, Kelly L, Connor SO, Fitzgerald DJ. Selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimesulide in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;287:578-582.
20. McAdam BF, Catella-Lawson F, Mardini IA, Kapoor S, Lawson JA, FitzGerald GA. Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:272-277.
21. Mitchell JA, Warner TD. Cyclo-oxygenase-2: pharmacology, physiology, biochemistry and relevance to NSAID therapy. *Br J Pharmacol* 1999;128:1121-1132.
22. Ermert L, Ermert M, Althoff A, Merkle M, Grimminger F, Seeger W. Vasoregulatory prostanoid generation proceed via cyclooxygenase-2 in noninflamed rat lungs. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;286:1309-1314.
23. Johnson SR, Knox AJ. Synthetic functions of airway smooth muscle in asthma. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18:288-292.
24. Raisz LG. Potential impact of selective cyclooxygenase-2 inhibitors on bone metabolism in health and disease. *Am J Med* 2001;110 (Suppl3A):43S-45S.
25. 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;91:12013-12017.
26. Smith CJ, Zhang Y, Koboldt CM, Muhammad J, Zweifel BS, Shaffer A, *et al*. Pharmacological analysis of cyclooxygenase-1 in inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:13313-13318.
27. Zhang Y, Shaffer A, Portanova J, Seibert K, Isakson PC. Inhibition of cyclooxygenase-2 rapidly reverses inflammatory hyperalgesia and prostaglandin E<sub>2</sub> production. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;283:1069-1075.
28. Simon LS, Weaver AL, Graham DY, Kivitz AJ, Lipsky PE, Hubbard RC, *et al*. Anti-inflammatory and upper gastrointestinal effects of celecoxib in rheumatoid arthritis. *J Am Med Assoc* 1999;282:1921-1928.
29. Bensen WG, Fiechtner JJ, McMillen JI, Zhao WW, Yu SS, Woods EM, *et al*. Treatment of osteoarthritis with celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor: a randomized controlled trial. *Mayo Clin Proc* 1999;74:1095-1105.
30. Emery P, Zeidler H, Kvien TK, Guslandi M, Naudin R, Stead H, *et al*. Celecoxib versus diclofenac in long-term management of rheumatoid arthritis: randomised double-blind comparison. *Lancet* 1999;354:2106-2111.
31. Wallace JL, Chapman K, McKnight W. Limited anti-inflammatory efficacy of cyclo-oxygenase-2 inhibition in carrageenan-airpouch inflammation. *Br J Pharmacol* 1999;126:1200-1204.
32. Wallace JL. Selective COX-2 inhibitors: is the water becoming muddy? *Trends Pharmacol Sci* 1999;20:4-6.
33. Toutain PL, Cester CC, Haak T, Laroute V. A pharmacokinetic/pharmacodynamic approach vs. a dose titration for the determination of a dosage regimen: the case of nimesulide, a Cox-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drug in the dog. *J Vet Pharmacol Ther* 2001;24:43-55.
34. Ricketts AP, Lundy KM, Seibel SB. Evaluation of selective inhibition of canine cyclooxygenase 1 and 2 by carprofen and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Vet Res* 1998;59:1441-1446.
35. Osuka K, Suzuki Y, Watanabe Y, Takayasu M, Yoshida J, Busija DW. Inducible cyclooxygenase expression in cani-

- nebasilar artery after experimental subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 1998;29:1219-1222.
36. Resnick DK, Graham SH, Dixon CE, Marion DW. Role of cyclooxygenase 2 in acute spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2001;15:1005-1013.
  37. Yamamoto T, Nozaki-Taguchi N. Analysis of the effects of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 in spinal nociceptive transmission using indomethacin, a non-selective COX inhibitor, and NS-398, a COX-2 selective inhibitor. *Brain Res* 1996;739:104-110.
  38. Ehrich EW, Dallob A, de Lepeleire I, van Hecken A, Riendeau D, Yuan W, *et al*. Characterization of rofecoxib as a cyclooxygenase-2 isoform inhibitor and demonstration of analgesia in the dental pain model. *Clin Pharmacol Ther* 1999;65:336-347.
  39. Chan CC, Panneton M, Taylor AM, Therien M, Rodger IW. A selective inhibitor of cyclooxygenase-2 reverses endotoxin-induced pyretic responses in non-human primates. *Eur J Pharmacol* 1997;237:221-225.
  40. Parrott RF, Vellucci SV. Comparison of the antipyretic actions of indomethacin and L-745,337, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, in endotoxin-treated prepubertal pigs. *Gen Pharmacol* 1998;30:65-69.
  41. Johnston SA, Budsberg SC. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids for the management of canine osteoarthritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1997;27:841-862.
  42. Khan KNM, Knapp DW, Denicola DB, Harris RK. Expression of cyclooxygenase-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder in dogs. *Am J Vet Res* 2000;61:478-481.
  43. Chan TA, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Mechanisms underlying nonsteroidal anti-inflammatory drug-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:681-686.
  44. Barnes PJ, Adcock IM. NF- $\kappa$ B: a pivotal role in asthma and a new target for therapy. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18:46-50.
  45. Rogers DF, Gienbycz MA. Asthma therapy for the 21st century. *Trends Pharmacol Sci* 1998;19:160-164.
  46. Moore JN, Barton MH. An update on endotoxaemia. Part 1: mechanisms and pathways. *Equine Vet Educ* 1998;10:300-306.
  47. Leach M, Hamilton LC, Olbrich A, Wray GM, Thiernemann C. Effects of inhibitors of the activity of cyclooxygenase-2 on the hypotension and multiple organ dysfunction caused by endotoxin: a comparison with dexamethasone. *Br J Pharmacol* 1998;124:586-592.
  48. Gust R, Kozlowski JK, Stephenson AH, Schuster DP. Role of cyclooxygenase-2 in oleic acid-induced acute lung injury. *Am J Resp Crit Care Med* 1999;160:1165-1170.
  49. Frölich JC. A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18:30-34.
  50. Vasseur PB, Johnson AL, Budsberg SC, Lincoln JD, Tomoms JP, *et al*. Randomized, controlled trial of the efficacy of carprofen, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, in the treatment of osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1995;206:807-811.
  51. Welsh EM, Nolan AM, Reid J. Beneficial effects of administering carprofen before surgery in dogs. *Vet Rec* 1997;141:251-253.
  52. Lascelles BD, Butterworth SJ, Waterman AE. Postoperative analgesic and sedative effects of carprofen and pethidine in dogs. *Vet Rec* 1994;134:187-191.
  53. Nolan A, Reid J. Comparison of the postoperative analgesic and sedative effects of carprofen and papaveretum in the dog. *Vet Rec* 1993;133:240-242.
  54. Grisneaux E, Pibarot P, Dupuis J, Blais D. Comparison of ketoprofen and carprofen administered prior to orthopedic surgery for control of postoperative pain in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1999;215:1105-1110.
  55. Ko JCH, Miyabiyashi T, Mandsager RE, Heaton-Jones TG, Mauragis DF. Renal effects of carprofen administered to healthy dogs anesthetized with propofol and isoflurane. *J Am Vet Med Assoc* 2000;217:346-349.
  56. Priymenko N, Garnier F, Ferre JP, Delatour P, Toutain P. Enantioselectivity of the enterohepatic recycling of carprofen in the dog. *Drug Metabol Disp* 1998;26:170-176.
  57. McKellar QA, Delatour P, Lees P. Stereospecific pharmacodynamics and pharmacokinetics of carprofen in the dog. *J Vet Pharmacol Ther* 1994;17:447-454.
  58. Buritova J, Besson JM. Peripheral and/or central effects of racemic-, S(+)- and R(-)-flurbiprofen on inflammatory nociceptive processes: a c-Fos protein study in the rat spinal cord. *Br J Pharmacol* 1998;125:87-101.
  59. Benton HP, Vasseur PB, Broderick-Villa GA, Koople M. Effects of carprofen on sulfated glycosaminoglycan metabolism, protein synthesis, and prostaglandin release by cultured osteoarthritic canine chondrocytes. *Am J Vet Res* 1997;58:286-292.
  60. Reimer ME, Johnston SA, Leib MS, Duncan RB, Reimer DC, Marini M, Gimbert K. The gastroduodenal effects of buffered aspirin, carprofen, and etodolac in healthy dogs. *J Vet Intern Med* 1999;13:472-477.
  61. McKellar QA, Pearson T, Bogan JA, Galbraith EA, Lees P, Ludwig B, Tiberghien MP. Pharmacokinetics, tolerance and serum thromboxane inhibition of carprofen in the dog. *J Small Anim Pract* 1990;31:443-448.
  62. Mama K. New options for managing chronic pain in small animals. *Vet Med* 1999;94:352-356.
  63. Sumano LH, De Vizcaya A, Brumbaugh GW. Tolerance and clinical evaluation of piroxicam in dogs. *Canine Pract* 1996;21:16-19.
  64. MacPhail CM, Lappin MR, Meyer DJ, Smith SG, Webster CR, Armstrong PJ. Hepatocellular toxicosis associated with administration of carprofen in 21 dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1998;212:1895-1901.
  65. Toutain PL, Cester CC, Haak T, Metge S. Pharmacokinetic profile and *in vitro* selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimesulide in the dog. *J Vet Pharmacol Ther* 2001;24:35-42.
  66. Paulson SK, Kaprak TA, Gresk CJ, Fast DM, Baratta MT, Burton EG, *et al*. Plasma protein binding of celecoxib in mice, rat, rabbit, dog and human. *Biopharm Drug Dispos* 1999;20:293-299.
  67. Findlay JW, Berge MA, Markos CS, Breau AP, Hribar JD, Yuan J. Comparison of celecoxib metabolism and excretion in mouse, rabbit, dog, Cynomolgus monkey and Rhesus monkey. *Xenobiotica* 2000;30:731-744.
  68. Paulson SK, Vaughn MB, Jessen SM, Lawal Y, Gresk CJ, Yan B, *et al*. Pharmacokinetics of celecoxib after oral administration in dogs and humans: effect of food and site of absorption. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297:638-645.
  69. Daun JM, Ball RW, Burger HR, Cannon JG. Aspirin-induced increases in soluble IL-1 receptor type II concentrations *in vitro* and *in vivo*. *J Leukoc Biol* 1999;65:863-866.
  70. Peruzzi L, Gianoglio B, Porcellini G, Conti G, Amore A, Coppo R. Neonatal chronic kidney failure associated to cyclo-oxygenase inhibitors administered during pregnancy. *Minerva Urol Nefrol* 2001;53:113-116.
  71. Peruzzi L, Gianoglio B, Porcellini MG, Coppo R. Neonatal end-stage renal failure associated with maternal ingestion of cyclo-oxygenase-type-2 selective inhibitor nimesulide as tocolytic. *Lancet* 1997;350:265-266.

72. Landau D, Shelef I, Polacheck H, Marks K, Holcberg G. Perinatal vasoconstrictive renal insufficiency associated with maternal nimesulide use. *Am J Perinatol* 1999;16:441-444.
73. Balasubramaniam J. Nimesulide and neonatal renal failure. *Lancet* 2000;355:575.
74. Figueras A, Estévez F, Laporte JR. New drugs, new adverse drug reactions, and bibliographic databases. *Lancet* 1999;353:1447.
75. Mukherjee D, Nissen SE, Topol EJ. Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors. *J Am Med Assoc* 2001;286:954-959.
76. Turull A, Queralt J. Selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors reduce anti-*Mycobacterium* antibodies in adjuvant arthritic rats. *Immunopharmacology* 2000;46:71-77.
77. Takahashi Y, Roman C, Chemtob S, Tse MM, Lin E, Heymann MA, Clyman RI. Cyclooxygenase-2 inhibitors constrict the fetal lamb ductus arteriosus both *in vitro* and *in vivo*. *Am J Physiol* 2000;278:R1496-R1505.
78. Isaacs JP. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the dog and cat. *Austr Vet Pract* 1996;26:180-186.
79. Mathews KA. Nonsteroidal anti-inflammatory analgesics in pain management in dogs and cats. *Can Vet J* 1996;37:539-543.
80. Vane J. Foreword. *Drugs* 1994;47(Suppl 5):S-P.
81. Simmons DL, Botting RM, Robertson PM, Madsen ML, Vane JR. Induction of an acetaminophen-sensitive cyclooxygenase with reduced sensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3275-3280.