



ARCHIVOS DE BRONCONEUMOLOGIA

www.archbronconeumol.org



Perfil farmacológico del roflumilast

Julio Cortijo Gimeno* y Esteban Morcillo Sánchez

Unidad de Docencia e Investigación. Consorcio Hospital General Universitario de Valencia. España
Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad de Valencia. España

RESUMEN

Palabras clave:

Inhibidor de la isoenzima fosfodiesterasa-4 (IPDE₄)
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)
Antiinflamatorio
Antienfisematoso
Antirremodelado
Mucorregulación
Roflumilast

El roflumilast (3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxi-N-[3,5-di-cloro-4-piridil]-benzamida) ha sido el primer agente de una nueva clase farmacológica, los inhibidores selectivos de la fosfodiesterasa-4 (IPDE₄), aprobado para el tratamiento de los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). El mecanismo molecular de acción del roflumilast es la inhibición de la isoenzima de la PDE₄ y el consecuente incremento del monofosfato de adenosina cíclico. Es evidente que el roflumilast muestra varios efectos farmacológicos: antiinflamatorio, antienfisematoso, antifibrótico, inhibidor de la hipertensión pulmonar y mucorregulador. Las acciones farmacológicas responsables de sus efectos son: *a*) la inhibición de la formación de especies reactivas de oxígeno en las células del epitelio, los neutrófilos y las células del músculo liso; *b*) la inhibición de la proliferación de las células del músculo liso de la arteria pulmonar, las células endoteliales y, probablemente, algunas células inflamatorias responsables del remodelado vascular pulmonar; *c*) la inhibición de los fibroblastos, con la consiguiente disminución del remodelado pulmonar, y, finalmente, *d*) la inhibición de la producción de moco y la mejora del batido ciliar. En suma, el roflumilast es el primer antiinflamatorio no esteroideo que podrá utilizarse en el tratamiento de la EPOC.

© 2010 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Pharmacological profile of roflumilast

ABSTRACT

Keywords:

Phosphodiesterase 4 (PDE₄) inhibitor
Chronic obstructive pulmonary disease (COPD)
Antiinflammatory
Anti-emphysema drug
Anti-remodeling agents
Mucus regulation
Roflumilast

Roflumilast (3-cyclopropylmethoxy-4-difluoromethoxy-n-(3,5-dichloropyrid-4-yl)benzamide) was the first agent of a novel pharmacological class, *selective phosphodiesterase 4 (PDE₄) inhibitors*, approved for the use of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The molecular mechanism of action of roflumilast is inhibition of the PDE₄ isoenzyme with a consequent increase of cyclic adenosine monophosphate. Roflumilast evidently has several pharmacological effects: antiinflammatory, anti-emphysema, and antibiotic actions. This drug also inhibits pulmonary hypertension and reduces mucus hypersecretion. The pharmacological actions leading to these effects are: *a*) inhibition of reactive oxygen species formation in epithelial cells, neutrophils and smooth muscle cells; *b*) inhibition of smooth muscle cell proliferation in the pulmonary artery, endothelial cells and probably some inflammatory cells causing pulmonary vascular remodeling; *c*) inhibition of fibroblasts, with a consequent reduction in pulmonary remodeling and, finally, *d*) inhibition of mucus production and improved ciliary beat frequency. In summary, roflumilast is the first non-steroidal anti-inflammatory drug that can be used in the treatment of COPD.

© 2010 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cortijo_jul@gva.es (J. Cortijo Gimeno).

Farmacología del roflumilast

Un inhibidor selectivo de la isoenzima fosfodiesterasa-4

El roflumilast se descubrió en 1993 a partir del estudio de una serie de compuestos químicos derivados de la benzamida¹. Es uno de los más potentes inhibidores de la fosfodiesterasa-4 (PDE₄) (CI₅₀ = 0,2 nM). Su potencia y selectividad han sido comprobadas en distintos tipos de células². Estudios posteriores con PDE 1-11 recombinantes confirman que este fármaco y su metabolito activo no afectan a ninguna PDE que no sea la isoenzima 4 y que es igual de potente y selectivo que las isoformas y variantes por *splicing* de la PDE₄, con la excepción de la PDE_{4C}, que es inhibida a concentraciones superiores³ (tabla 1).

Farmacocinética

Se administra por vía oral con una biodisponibilidad del 79% y una vida media de 15,7 h, lo cual le permite ser administrado una vez al día. El roflumilast es rápidamente metabolizado por el citocromo P450 (CYP3A4 y CYP1A2) a su metabolito activo: N-óxido roflumilast (NOR). Este metabolito es de 2 a 3 veces menos potente en la inhibición de PDE₄ (CI₅₀ = 0,9 nM), siendo selectivo de esta isoenzima. En el hombre, se considera que el 90% del efecto del roflumilast es atribuible al metabolito y el 10% al fármaco original. La administración de 500 µg una vez al día en voluntarios sanos resulta en una concentra-

Tabla 1

Concentraciones inhibitorias al 50% de la actividad fosfodiesterásica del roflumilast y el N-óxido roflumilast (NOR), utilizando isoenzimas de la fosfodiesterasa (IPDE) recombinantes humanas

IPDE	Roflumilast (nM)	NOR (nM)	IPDE ₄	Roflumilast (nM)	NOR (nM)
1A3	> 10.000	> 10.000	4A1	0,7	1,4
1B1	> 10.000	> 10.000	4A4	0,9	2,3
1C1	> 10.000	> 10.000	4B1	0,7	0,95
2A3	> 10.000	> 10.000	4B2	0,2	1,1
3A1	> 10.000	> 10.000	4C1	3	5,9
5A1	4.500	> 10.000	4C2	4,3	7,8
6	4.200	6.300	4C corta	3,5	3,9
7A1	> 10.000	> 10.000	4D2	0,3	0,4
8B	> 10.000	> 10.000	4D3	0,4	0,8
9A3	> 10.000	> 10.000	4D4	0,2	0,5
10 ^a	> 10.000	> 10.000	4D5	0,4	0,8
11A4	> 10.000	> 10.000			

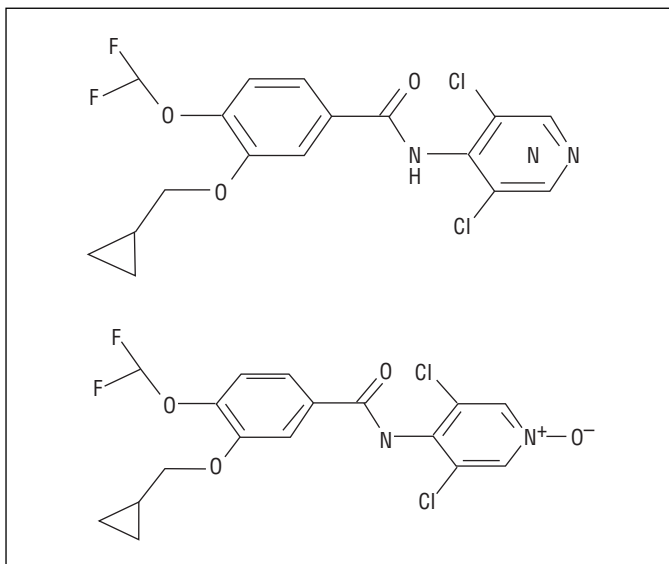


Figura 1. Estructura química del roflumilast y su metabolito activo, el N-óxido roflumilast.

ción plasmática de NOR libre de 1-2 nM, durante 24 h, y con una unión a proteínas plasmáticas del 97%⁴. Aunque es conocido que el hábito tabáquico aumenta la CYP1A2, se ha encontrado que dicho hábito no modifica sustancialmente la farmacocinética del roflumilast⁵.

Estudios en modelos in vivo de enfermedad pulmonar obstructiva crónica

Estos modelos consisten en la exposición de los animales de investigación a humo del tabaco u otras causas de estrés oxidativo⁶⁻¹⁰. Presentan características similares a la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC): acumulación de neutrófilos en las vías aéreas, respuestas heterogéneas al tabaco, incrementos en la población de linfocitos CD8⁺ y persistencia de la inflamación aunque cese la exposición al humo del tabaco. Alcanza en estos modelos una similitud con la EPOC en estadios GOLD I y II. Sin embargo, la disponibilidad de modelos que reflejen la situación en los estadios GOLD III y IV, en los cuales los pacientes están sintomáticos, es prácticamente mínima, por lo que es necesario continuar desarrollando modelos que repliquen la situación de estos estadios:

- *Modelos de corta exposición al humo del tabaco.* Diferentes laboratorios de investigación independientes han demostrado que el roflumilast —protocolo preventivo o curativo— reduce la acumulación de neutrófilos y la extravasación de proteínas en el lavado broncoalveolar (LAB) producida por la exposición al humo del tabaco. La mayoría de ellos confirman la ineffectividad de los corticoides en estos modelos (tabla 2)¹¹⁻¹⁵.
- *Modelos de larga exposición al humo del tabaco.* La exposición diaria de ratones al humo del tabaco, durante 7 meses, aumenta la infiltración de neutrófilos y macrófagos, pero también de células dendríticas, linfocitos CD4⁺ y CD8⁺. Esta observación confirma que este modelo experimental produce una respuesta inmunológica adaptativa. El roflumilast a 5 mg/kg/día inhibe el flujo de células al parénquima pulmonar (tabla 2)⁸.
- *Modelos de inflamación inducida por agentes oxidantes (p. ej., bleomicina).* La instilación intratraqueal de bleomicina produce un estrés oxidativo que origina una inflamación pulmonar parecida a la del humo del tabaco, aunque produce una fibrosis pulmonar que no se observa con él. La bleomicina incrementa la cantidad de neutrófilos, linfocitos y macrófagos. El roflumilast —de forma dependiente de la dosis— reduce el contenido en neutrófilos y macrófagos del LAB y su contenido en factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α). Los glucocorticoides disminuyen la inflamación producida por la bleomicina¹⁶.
- *Mecanismo antiinflamatorio pulmonar del roflumilast.* La acumulación de neutrófilos en las vías aéreas se produce por un proceso que incluye su adhesión a las células endoteliales, la migración transendotelial, el paso por las células intersticiales y, finalmente, el paso de la barrera epitelial. El roflumilast o su metabolito podría modificar alguno de estos pasos y, por lo tanto, inhibir la migración de leucocitos y la consecuente inflamación pulmonar.

Este efecto se ha comprobado para el roflumilast, en un modelo de videomicroscopia intravital realizado en ratas in vivo, utilizando LPS como estímulo en las vénulas poscapilares mesentéricas. La adición del LPS produce un sustancial incremento en el rodamiento y adhesión de los leucocitos a las células endoteliales, para posteriormente generar el proceso de migración a través de la barrera endotelial. El pretratamiento con roflumilast por vía oral disminuye de forma dependiente de la dosis la adhesión y migración leucocitaria en un 85%. Igualmente, disminuye la expresión de E-selectina y P-selectina en las vénulas y el CD11b en neutrófilos periféricos, a dosis de 120 µg/kg. Por el contrario, el glucocorticoide budesonida fue ineffectivo sobre el incremento de adhesión, migración transendotelial y la expresión de CD11b¹⁷.

Tabla 2

Efectos inhibidores de roflumilast en modelos experimentales de inflamación de las vías aéreas in vivo

Modelo experimental	Estímulo	Roflumilast	Parámetro determinado: neutrófilos en el LAB	Referencia	
Roedores expuestos por un corto período a humo de tabaco	Cobaya	11 días de exposición (una vez al día, 50 min)	4,40 y 400 µg/kg/día durante 11 días, 1 h antes de la exposición	Reducciones del 35, 76 y 84%	11
	Cobaya	11 días de exposición (una vez al día, 50 min)	400 µg/kg/día a partir del día 6 del inicio de la exposición. Protocolo preventivo	Reducción	11
	Ratón	Exposición única	1 y 5 mg/kg/día, 1 h antes de la exposición	Reducción del 34%	12
	Ratón C57/Bl6/J	3 días de exposición	1, 2,5 y 5 mg/kg/día durante 3 días, 1 h antes de la exposición	Reducciones del 13, 43 y 57%	13
	Ratón C57/Bl6/J	3 días de exposición	6 mg/kg/ 2 veces al día, durante 3 días, 1 h antes de la exposición	Reducciones del 62%	14
	Rata	3 días de exposición + intranasal LPS 5 h antes de la última exposición	10 mg/kg/día, durante 3 días, 1 h antes de la exposición	Reducciones del 44%	15
Ratón expuesto por un largo período a humo de tabaco	6 meses de exposición Protocolo preventivo	1 y 5 mg/kg/ día, durante 6 meses, 1 h antes de la exposición	Reducciones neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos CD4 ⁺ y CD8 ⁺	8	
Inflamación pulmonar en ratón inducida por bleomicina	14 días después de la instilación intratraqueal de bleomicina	0,5, 1 y 5 mg/kg/día durante 14 días	Reducciones del 30, 42 y 67%	16	

El roflumilast y el NOR tienen un efecto antiinflamatorio de amplio espectro. En la tabla 3 se detallan los distintos efectos inhibidores de este fármaco sobre la actividad proinflamatoria de múltiples células in vitro^{2,5,17-22}. Así, los neutrófilos son unas excelentes dianas para los inhibidores de la PDE₄ (IPDE₄), como consecuencia de su contenido exclusivo de PDE₄; de hecho, el roflumilast y su metabolito activo inhiben la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS), leucotrieno B₄, elastasa y metaloproteasa-9. Estas funciones son de desarrollo rápido y no necesitan la síntesis de ninguna proteína, por lo que, en general, no se ven afectadas por los glucocorticoides^{2,17}.

El roflumilast y el NOR disminuyen la proliferación y la liberación de citocinas como la interleucina-2 y el interferón gamma de los linfocitos CD4⁺ y CD8⁺. Las células CD8⁺ obtenidas de los pulmones de pacientes con EPOC muestran un aumento de la expresión del receptor a la citocina CXCR3, que es paralelo a la gravedad de la enfermedad. Este aumento de expresión confiere a los CD8⁺ una mayor capacidad para ser atraídos por las quimiocinas CXCL9-10, las cuales están aumentadas en el esputo inducido de pacientes de EPOC. El roflumilast y el NOR inhiben la liberación de CXCL9 en explantes humanos. Estos hechos experimentales explicarían la inhibición de la infiltración de CD8⁺, en el pulmón, observada en los modelos experimentales in vivo¹⁸.

El roflumilast y el NOR reducen la liberación de TNF-α, inducida por LPS, de los monocitos circulantes². Los efectos potenciales del ro-

flumilast sobre los macrófagos alveolares de pacientes con EPOC son desconocidos y deben ser estudiados.

Estudios en modelos in vivo de enfisema

El enfisema es un agrandamiento permanente del espacio aéreo distal en los bronquiolos terminales, asociado con la destrucción de paredes alveolares y pérdida de las fijaciones de la pared de la vía aérea, todo ello sin la aparición obvia de fibrosis. Los modelos animales de enfisema reflejan estos hechos; así, la exposición a humo del tabaco en animales de investigación durante largos períodos de tiempo produce un agrandamiento del espacio aéreo distal y un aumento del grosor de las paredes de las vías aéreas.

El roflumilast, por vía oral a 5 mg/kg/día, ha demostrado su efectividad reduciendo el enfisema pulmonar en ratones expuestos al humo del tabaco durante 7 meses. La dosis más alta del IPDE₄ abolió casi totalmente el agrandamiento alveolar secundario a la exposición crónica de humo, e inhibió la pérdida de desmosina pulmonar total (un aminoácido específico de elastina) y del área de la superficie interior pulmonar¹². El potencial del roflumilast para proteger la formación del enfisema inducido por tabaco es similar a los efectos observados con otros IPDE₄: GPD-1116 y Bay 19-8004²².

Se han descrito numerosos mecanismos de la enfermedad enfisematosa: un desequilibrio de la proteasa/antiproteasa, un incremento en linfocitos CD8⁺, el estrés oxidativo y/o la inflamación pulmonar. El

Tabla 3

Efectos inhibidores de N-óxido roflumilast (NOR) en células inflamatorias y estructurales in vitro

Células	Estímulo	Parámetro	2 nM NOR	NOR	Referencia
			Inhibición (%)	EC ₅₀ (nM)	
Neutrófilos	fMLP	Producción anión superóxido	20	8	2
	fMLP	CD11b	23	6	17
	TNF (indirecto)	Adhesión células endoteliales	20	4,5	17
	fMLP	Migración transendotelial	18	7	17
Macrófagos	LPS	TNF	10	12	2
Linfocitos CD8	anti-CD3	Proliferación	18	4	18
	anti-CD3	Liberación Granzyme B	35	3,6	18
Epiteliales vías aéreas	TGF-β	Especies reactivas de oxígeno	52	ND	19
	TNF	GM-CSF	39	1	5
Fibroblastos pulmonares	bFGF	Proliferación	39	0,7	20
	TGF-β	?SMA	20	ND	5
	TGF-β	CTGF	35	ND	21
	TGF-β	Colágeno I	58	ND	20
	TGF-β	Fibronectina	42	ND	20
Músculo liso vías aéreas	FBS	Proliferación	40	1,4	19
Endoteliales	Trombina	Permeabilidad	40	1,7	17
		PDE ₄	50	2	2

roflumilast y su metabolito activo inhiben la desgranulación del neutrófilo humano *in vitro*, lo cual conlleva la liberación de elastasa²³. Por otro lado, el roflumilast y su metabolito activo reducen la generación de ROS en numerosas células, como los neutrófilos, las células del músculo liso de la arteria pulmonar y las del epitelio de la vía aérea²⁴. Otro de los mecanismos postulado para el enfisema es la muerte de las células endoteliales y de las células epiteliales alveolares. El roflumilast y el NOR (con una eficacia máxima del 40%, $EC_{50} = 0,9$ nM) previnieron la muerte celular en el cultivo de células endoteliales de la vena umbilical humana²⁵.

Estudios en modelos *in vivo* de remodelado pulmonar

Vías aéreas

La hiperactividad de los fibroblastos pulmonares puede contribuir al engrosamiento de las vías aéreas que se produce en la EPOC; este hecho es responsable de la disminución del flujo aéreo que caracteriza a esta enfermedad²⁶.

La administración de bleomicina intratraqueal en animales de laboratorio genera un remodelado que se produce en un corto período (14 días). Aparecen depósitos de colágeno en las zonas fibróticas, acompañados de espacios alveolares agrandados y fragmentación del septo alveolar²⁸. En este modelo experimental se han estudiado 2 protocolos de tratamiento con roflumilast: el preventivo (el fármaco se administra a partir del mismo día que se administra la bleomicina) y el curativo (el fármaco se administra pasada la fase inflamatoria y antes de comenzar la fase fibrótica). En el protocolo preventivo, la administración oral de roflumilast (1 y 5 mg/kg/día durante 14 días en ratones y 21 días en ratas) disminuye la cantidad de hidroxiprolina en el pulmón en un 47%, con una diferencia clara en las preparaciones histológicas. La expresión del colágeno $\alpha 1$ también se reduce en un 83%. En el protocolo terapéutico también se inhibe un 80% la producción de colágeno $\alpha 1$ ¹⁶. En contraposición a lo dicho, la dexametasona que modificó la expresión del colágeno α en el protocolo preventivo se mostró inefectiva en el protocolo terapéutico.

Tomados todos estos resultados juntos, podemos afirmar que el roflumilast y el NOR reducen las respuestas fibróticas en el pulmón, inducidas por la administración intratraqueal de bleomicina, tanto en el protocolo terapéutico como en el preventivo^{16,28}.

Los diferentes efectos observados entre IPDE₄ y esteroides, en un modelo de fibrosis pulmonar inducida por bleomicina, pueden ser consecuencia de la acción directa de los IPDE₄ sobre los fibroblastos. Los fibroblastos *in vitro* expresan PDE₄ y los IPDE₄ (p. ej., NOR) reducen las funciones de los fibroblastos humanos, como contracción en geles de colágeno, quimiotaxis, proliferación y producción de proteínas de la matriz extracelular y de radicales libres^{29,30}.

Circulación pulmonar

La hipertensión pulmonar (HP) se desarrolla en la EPOC en estado avanzado³¹. La lesión del endotelio vascular pulmonar producido por el tabaco y la hipoxia alveolar crónica, secundaria a las obstrucciones de las vías aéreas pequeñas, son las causas posibles que generan el remodelado vascular de las arterias pulmonares en pacientes con EPOC.

El roflumilast inhibe, en protocolos preventivos, la HP inducida por hipoxia crónica (después de 15 días) y por la monocrotalina (después de 21 días) en ratas³², y por la bleomicina (después de 14 días) en los ratones¹⁶. Así, utilizando como estímulo la monocrotalina, el roflumilast (1,5 mg/kg/día) inhibe en un 70% el incremento de neomuscularización de las arteriolas pulmonares, la hipertrofia ventricular y la presión arterial pulmonar. En el caso de emplear la hipoxia crónica, el roflumilast (a dosis de 1,5 mg/kg/día) sólo inhibe un 38% la presión arterial pulmonar, aunque mantiene la capacidad para disminuir el incremento de neomuscularización (80% inhibición) y la hipertrofia ventricular (65%)³². En el modelo de HP inducida por la administración intratraqueal de bleomicina en ratones, el tratamiento con roflu-

milast (1 y 5 mg/kg/día) demuestra sus efectos inhibidores en el remodelado vascular pulmonar, la hipertrofia del ventrículo derecho¹⁶.

En conjunto, estos resultados sugieren que el roflumilast disminuye el remodelado de la arteria pulmonar y HP en diferentes modelos *in vivo*, efectos que pueden atribuirse a sus numerosas acciones en casi todas las células implicadas en la HP, tales como el músculo liso de la arteria pulmonar, células endoteliales, células inflamatorias como los linfocitos CD8⁺, y fibroblastos.

Estudios en modelos de estrés oxidativo

El estrés oxidativo resulta de la pérdida del equilibrio entre los radicales libres generados y la maquinaria antioxidante, y contribuye en gran medida a la fisiopatología de la EPOC.

En la EPOC, numerosas células, como neutrófilos, macrófagos, células epiteliales, fibroblastos y células del músculo liso vascular, son fuentes potenciales de radicales libres tras la exposición al humo del tabaco. El estrés oxidativo es el responsable de la liberación de mediadores inflamatorios, aumento de producción de moco, proliferación de músculo liso bronquial y vascular, así como reducción del efecto de los glucocorticoides.

Un efecto clásico de los IPDE₄ es la reducción de radicales del anión superóxido de neutrófilos humanos estimulados con el fMLP³³. El roflumilast y el NOR inhiben (máximo 70%) la producción del anión superóxido de neutrófilos de sangre periférica humana, estimulados por fMLP; la inhibición del 50% se logra con 4 y 8 nM, respectivamente². En células A549 (línea celular de epitelio de la vía aérea humana), el NOR (1 μ M) abolió la formación de ROS por factor de crecimiento tumoral beta beta-1, y a 2 nM ejerció un efecto mitad del máximo¹⁹. En protocolos *in vivo*, el roflumilast (5 mg/kg/día) reduce (aproximadamente un 30%) el contenido de hidróperóxido en el BAL, 14 días después de la administración de bleomicina intratraqueal en ratones¹⁶.

Estudios en modelos de función mucociliar

La obstrucción de la vía aérea pequeña en la EPOC está asociada con un funcionamiento defectuoso del aclaramiento mucociliar³⁴. El sistema mucociliar es una defensa innata del organismo y, por consiguiente, la inefectividad de este sistema en la vía aérea pequeña favorece la colonización bacteriana, con la consecuente inflamación adicional y daño ciliar, produciéndose una perpetuación del mal funcionamiento del aparato mucociliar. El funcionamiento defectuoso del aclaramiento mucociliar puede ser secundario al proceso inflamatorio de las vías aéreas pequeñas, producido por el humo del tabaco, ya que éste puede promover un aumento de las células caliciformes y disminuir las células ciliadas del epitelio bronquial³⁵.

El roflumilast produjo un aumento dependiente de la concentración en el batido ciliar de las células del epitelio bronquial, en anillos intactos del bronquio principal y los bronquiólos periféricos de la rata. En este estudio, 10 nM y 1 μ M de roflumilast aumentaron el batido ciliar en un 20-25 y un 68%, respectivamente³⁶.

En otro estudio, el roflumilast (1 μ M) aumentó el batido ciliar, en un 40%, de las células epiteliales nasales cultivadas. El IPDE₄ revertió la pérdida de actividad de las células ciliadas, secundaria a la exposición al extracto de humo de tabaco³⁷.

El roflumilast y otros IPDE₄ aumentan la actividad del CFTR Cl. Así lo demuestra una serie de experimentos con células del epitelio bronquial humano, cultivadas en forma polarizada, en una membrana porosa para evaluar el efecto de NOR³⁸. En este caso, el PDE₄ aumentó la conductancia del Cl⁻, efecto que se abolió por el inhibidor selectivo (CFTR-172) de la conductancia del Cl⁻.

La mucina producida en las células epiteliales de las vías aéreas cultivadas (A549) o el tejido bronquial humano fragmentado, por estímulo con el factor de crecimiento epitelial (EGF), es consecuencia de la expresión del gen *MUC5AC*. Así, en células A549 cultivadas, el roflumilast produce una reducción dependiente de la concentración en el

aumento de la transcripción del MUC5AC y de la mucina producida por EGF. Así, la cantidad de mucina producida tras el estímulo por EGF estaba reducida aproximadamente un 30 y un 60% con 10 nM y 1 μ M de roflumilast, respectivamente³⁹.

En experimentos *in vivo*, el roflumilast a 1 y 5 mg/kg/día disminuyó el aumento de la transcripción del MUC5AC pulmonar y la producción de proteína en los ratones sometidos a un estímulo con bleomicina intratraqueal¹⁶. Así, el aumento obtenido (2,7 veces) en la proteína del MUC5AC pulmonar estaba reducido un 30 y un 55%, respectivamente. En otra serie de experimentos, el roflumilast (1,2 mg/kg/día) redujo un 90% el incremento en el número de células caliciformes del epitelio bronquial, provocado por una exposición intratraqueal única del LPS en ratas⁴⁰.

Modificador de las manifestaciones sistémicas de la EPOC

La EPOC es una enfermedad que no se limita a los pulmones, sino que también comprende efectos extrapulmonares significativos. Una característica de estos efectos extrapulmonares es la inflamación sistémica. Las comorbilidades de la EPOC incluyen:

- **Osteoporosis.** El rolipram previene la pérdida del hueso en los roedores ovariectomizados⁴², lo cual sugiere que los fármacos de esta clase podrían prevenir la osteoporosis. Además, los IPDE₄ estimulan los osteoblastos e inhiben los osteoclastos *in vitro*⁴³.
- **Pérdida de músculo esquelético.** Los IPDE₄ pueden llevar a disminuir la pérdida del músculo esquelético en ratas ovariectomizadas⁴². Además, el rolipram se ha mostrado capaz de reducir la atrofia del músculo esquelético que se produce después de la desnervación en ratas y ratones⁴⁴.
- **Depresión.** Se han descrito efectos antidepressivos en animales⁴⁵, pero falta comprobar que estos efectos se puedan trasladar al hombre. La primera generación de IPDE₄ (rolipram) fue estudiada en ensayos clínicos por sus posibles efectos clínicos antidepressivos; sin embargo, los resultados fueron inconsistentes y no mejoraban los ya obtenidos con los clásicos antidepressivos.
- **Diabetes mellitus tipo 2 y el síndrome metabólico.** Una comorbilidad muy frecuente en la EPOC es la predisposición a presentar diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a la insulina, considerando a este último como un síntoma del síndrome metabólico⁴⁶. Esta resistencia a la insulina puede ser el resultado final de la existencia de una inflamación sistémica leve⁴⁷. Por consiguiente, intervenciones que disminuyan niveles sistémicos de citocinas pueden mejorar la sensibilidad a la insulina del hígado, el músculo esquelético o el tejido adiposo.

Los IPDE₄ aumentan la secreción de insulina en las células β de los islotes pancreáticos *in vitro* y aumentan la descarga de péptidos *glucagon-like* (GLP-1) de las células L intestinales *in vitro* e *in vivo*^{48,49}. Por ejemplo, el roflumilast aumenta la secreción de insulina dependiente de la glucosa de una línea celular de insulinoma de la rata, con un efecto del medio-máximo a 5 nM⁴⁸.

Igualmente, se ha descrito un protocolo experimental en ratones con dieta de alto contenido en grasa y deficiente expresión de PDE_{4B}, en los que existe una reducción del tejido adiposo. Además, en estos ratones el tamaño de los adipocitos es más pequeño, presentan una disminución de los niveles de suero de leptina y una reducción de la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo y la expresión de TNF⁵⁰.

- **Desórdenes cardiovasculares.** Hay evidencias experimentales de que los IPDE₄ orales tienen potencial para conferir un beneficio de las alteraciones cardiovasculares en los pacientes con EPOC⁵¹. Para ello presentan, por lo menos, 2 mecanismos: la disminución de la inflamación sistémica leve que acompaña a la arteriosclerosis y por actuación directa sobre las células (p. ej., las del músculo liso arterial, los monocitos, los macrófagos o las células endoteliales); en todas ellas, los IPDE₄ podrían actuar de forma positiva.

Diferencias en el perfil farmacodinámico del roflumilast, la teofilina y los esteroides

Se puede indicar que el roflumilast y su metabolito activo son unos inhibidores selectivos y muy potentes de la isoenzima PDE₄, de sus diferentes isoformas y de las variantes por *splicing*. A concentraciones terapéuticas (2 nM), la activación, la secreción y la proliferación de las células inflamatorias y/o estructurales están inhibidas, en un 30-60%, por NOR. Por tanto, los efectos antiinflamatorios del roflumilast pueden adscribirse a una interacción del fármaco con la PDE₄, previniendo la destrucción del monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) celular.

Por el contrario, la teofilina tiene otros mecanismos de acción: antagoniza la adenosina endógena (CI₅₀ = 2-10 μ M), activa la histona deacetilasa (HDAC) (CI₅₀ = 1 μ M) e inhibe de forma inespecífica las enzimas PDE (CI₅₀ = 100-500 μ M), mostrando una mayor potencia frente a la PDE₃ (CI₅₀ = 100 μ M). A dosis terapéuticas (10-40 μ M), la inhibición de la PDE₃ puede ser la responsable de los efectos broncodilatadores directos descritos *in vivo* e *in vitro*, mientras que la acción sobre la HDAC2 sería la causa del efecto antiinflamatorio⁵.

Las diferencias puestas de manifiesto en sus mecanismos moleculares de acción quizá sean las responsables de los diferentes efectos observados para el roflumilast (efectividad) y la teofilina (inefectividad), en los modelos *in vivo* de remodelado, tales como la fibrosis pulmonar por bleomicina y el enfisema por exposición al humo del tabaco.

En referencia a su comparación con los esteroides, el roflumilast y el NOR presentan un marcado perfil de actividad inhibitoria sobre distintas células inflamatorias (neutrófilos, linfocitos CD8⁺, macrófagos)². Este hecho es diferencial con los esteroides, que han mostrado su ineffectividad sobre los neutrófilos *in vitro*⁵, lo cual puede justificar la poca eficacia de los esteroides sobre la inflamación causante de la EPOC^{52,53}.

De igual forma, los estudios *in vivo* han demostrado que el roflumilast es eficaz sobre la inflamación inducida por el humo del tabaco. Así, en estudios crónicos de exposición al tabaco en ratones, el roflumilast disminuyó la extravasación de neutrófilos⁸. Los mismos resultados se han obtenido en el modelo de exposición al humo del tabaco en ratones, con la determinación del número de neutrófilos en el LBA; así, el roflumilast redujo un 50% la presencia de neutrófilos a dosis de 3 mg/kg/día, mientras que la budesonida (1 mg/kg/día) y la dexametasona (3 mg/kg/día) eran ineficaces^{13,40}.

Una hipótesis que justificaría la ineficacia de los corticoides para inhibir el flujo de neutrófilos al parénquima pulmonar por la exposición al humo del tabaco es que éste produce un estrés oxidativo que provoca una modificación postraslacional de la HDAC2, lo cual resulta en una destrucción de esta enzima^{54,55}. Los corticoides utilizan la vía de la HDAC2 para ejercer sus efectos antiinflamatorios, por eso la destrucción de esta vía implicaría la desaparición de sus efectos antiinflamatorios. Por el contrario, los IPDE pueden no actuar directamente sobre la HDAC2, sino que reducen los radicales libres y aumentan el AMPC que inhibiría la liberación de mediadores inflamatorios.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Amschler H. Fluoroalkoxy-substituted benzamides and their use as cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibitors. PCT Patent WO95/01338; 1995.
2. Hatzelmann A, Schudt C. Anti-inflammatory and immunomodulatory potential of the novel PDE4 inhibitor roflumilast *in vitro*. J Pharmacol Exp Ther. 2001;297:267-79.
3. Claveau D, Chen SL, O'Keefe S, Zaller DM, Styhler A, Liu S. Preferential inhibition of T helper1, but not T helper2, cytokines *in vitro* by L-826,141 [4-{2-(3,4-Bisdi-fluoromethyl)phenoxy}butyl]amine.

- thoxyphenyl)-2-[4-(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-hydroxypropan-2-yl)-phenyl]-ethyl]3-methylpyridine-1-oxide], a potent and selective phosphodiesterase 4 inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther.* 2004;310:752-60.
4. Bethke TD, Bohmer GM, Hermann R, Hauns B, Fux R, Morike K, et al. Dose-proportional intraindividual single- and repeated-dose pharmacokinetics of roflumilast, an oral, once-daily phosphodiesterase 4 inhibitor. *J Clin Pharmacol.* 2007;47:26-36.
 5. Hatzelmann A, Morcillo EJ, Lungarella G, Adnot S, Sanjar S, Beume R, et al. The pre-clinical pharmacology of roflumilast: A selective, oral phosphodiesterase 4 inhibitor in development for chronic obstructive pulmonary disease. *Pulm Pharmacol Ther.* 2010;23:235-56.
 6. Churg A, Cosio M, Wright JL. Mechanisms of cigarette smoke-induced COPD: Insights from animal models. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008;294:L6 12-31.
 7. Fox JC, Fitzgerald MF. The role of animal models in the pharmacological evaluation of emerging anti-inflammatory agents for the treatment of COPD. *Curr Opin Pharmacol.* 2009;9:231-42.
 8. Martorana PA, Lunghi B, Lucattelli M, De CG, Beume R, Lungarella G. Effect of roflumilast on inflammatory cells in the lungs of cigarette smoke-exposed mice. *BMC Pulm Med.* 2008;8:17.
 9. Shore SA, Shapiro SD. Asthma and COPD: animal models. Asthma and COPD, basic mechanisms and clinical management. Amsterdam: AcademicPress; 2008. p. 99-109.
 10. Wright JL, Cosio M, Churg A. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2008;295:L1-15.
 11. Fitzgerald MF, Spicer D, McAulay AE, Wollin L, Beume R. Roflumilast but not methylprednisolone inhibited cigarette smoke-induced pulmonary inflammation in Guinea pigs. *Eur Respir J Suppl.* 2006;Suppl 663:P3850.
 12. Martorana PA, Beume R, Lucattelli M, Wollin L, Lungarella G. Roflumilast fully prevents emphysema in mice chronically exposed to cigarette smoke. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172:848-53.
 13. Weidenbach A, Braun C, Schwobel F, Beume R, Marx D. Therapeutic effects of various PDE4 inhibitors on cigarette smoke-induced pulmonary neutrophilia in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008b;178:A651.
 14. Le QC, Guenon I, Gillon JY, Valenca S, Cayron-Elizondo V, Lagente V, et al. The selective MMP-12 inhibitor, AS111793 reduces airway inflammation in mice exposed to cigarette smoke. *Br J Pharmacol.* 2008;154:1206-15.
 15. Hardaker EL, Freeman MS, Dale N, Raza F, Mok J, Banner KH, et al. Characterisation of a model that mimicks aspects of the hyper-inflammatory response observed during an acute exacerbation of COPD. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:A5351.
 16. Cortijo J, Iranzo A, Milara X, Mata M, Cerdá-Nicolás M, Ruiz-Saurí A, et al. Roflumilast, a phosphodiesterase 4 inhibitor, alleviates bleomycin-induced lung injury. *Br J Pharmacol.* 2009;156:534-44.
 17. Sanz MJ, Cortijo J, Taha MA, Cerdá-Nicolás M, Schatton E, Burgbacher B, et al. Roflumilast inhibits leukocyte-endothelial cell interactions, expression of adhesion molecules and microvascular permeability. *Br J Pharmacol.* 2007;152:481-92.
 18. Tenor H, Burgbacher B, Schudt C, Hatzelmann A. Effects of roflumilast and other PDE4 inhibitors on human CD8 p T-cell functions. *Eur Respir J Suppl.* 2005;26:S717.
 19. Milara J, Cortijo J, Mata M, Donet E, Mauricio M, Morcillo EJ. The PDE4 inhibitor roflumilast N-oxide partly reversed TGFβ1-induced changes in collagen I and E-cadherin expression in human airway epithelial cells. *Eur Respir J Suppl.* 2008a; Suppl 639:P3648.
 20. Sabatini F, Petecchia L, Boero S, Silvestri M, Klar J, Tenor H, et al. A phosphodiesterase 4 inhibitor, roflumilast N-oxide, inhibits human lung fibroblast functions in vitro. *Pulm Pharmacol Ther.* 2010;23:283-91.
 21. Burgess JK, Oliver BG, Poniris MH, Ge Q, Boustany S, Cox N, et al. A phosphodiesterase 4 inhibitor inhibits matrix protein deposition in airways in vitro. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118:649-57.
 22. Fox JC, Spicer D, Henning R, Meshi B, Shrad MT, Hogg JC. Efficacy of the PDE4 inhibitor, BAY 19-8004, in tobacco smoke models of COPD in the Guinea pig. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;167:A91.
 23. Jones NA, Boswell-Smith V, Lever R, Page CP. The effect of selective phosphodiesterase isoenzyme inhibition on neutrophil function in vitro. *Pulm Pharmacol Ther.* 2005;18:93-101.
 24. Muzaffar S, Shukla N, Angelini GD, Jeremy JY. Roflumilast N-oxide inhibits NADPH oxidase expression and activity in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Proc Br Pharmacol Soc.* 2008;6:027P.
 25. Namkoong S, Kim CK, Cho YL, Kim JH, Lee H, Ha KS, et al. Forskolin increases angiogenesis through the coordinated cross-talk of PKA-dependent VEGF expression and Epac-mediated PI3K/Akt/eNOS signaling. *Cell Signal.* 2009;21:906-15.
 26. Araya J, Cambier S, Markovics JA, Wolters P, Jablons D, Hill A. Squamous metaplasia amplifies pathologic epithelial-mesenchymal interactions in COPD patients. *J Clin Invest.* 2007;117:3551-62.
 27. Borzone G, Moreno R, Urrea R, Meneses M, Oyarzun M, Lisboa C. Bleomycin-induced chronic lung damage does not resemble human idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:1648-53.
 28. Chaudhary NI, Schnapp A, Park JE. Pharmacologic differentiation of inflammation and fibrosis in the rat bleomycin model. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173:769-76.
 29. Kohyama T, Liu X, Wen FQ, Zhu YK, Wang H, Kim HJ. PDE4 inhibitors attenuate fibroblast chemotaxis and contraction of native collagen gels. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002;26:694-701.
 30. Kohyama T, Liu X, Wen FQ, Kobayashi T, Fang Q, Abe S. Cytokines modulate chemotaxis response in lung fibroblasts. *Clin Immunol.* 2004;111:297-302.
 31. Chaouat A, Naeije R, Weitzenblum E. Pulmonary hypertension in COPD. *Eur Respir J.* 2008;32:1371-85.
 32. Izikki M, Raffestin B, Klar J, Hatzelmann A, Marx D, Tenor H, et al. Effects of roflumilast, a phosphodiesterase-4 inhibitor, on hypoxia- and monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009;330:54-62.
 33. Schudt C, Winder S, Forsterkunz S, Hatzelmann A, Ullrich V. Influence of selective phosphodiesterase inhibitors on human neutrophil functions and levels of cAMP and Cai. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 1991;344:682-90.
 34. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2004;350:2645-53.
 35. Agusti AG. COPD, a multicomponent disease: Implications for management. *Respir Med.* 2005;99:670-82.
 36. Wohlsen A, Wollin L, Marx D, Beume R. Effect of roflumilast and other cAMP elevating agents on airway beat ciliary frequency in proximal and distal airways in rat precision cut lung slices. Fifth International Multidisciplinary Conference on Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD5), June 28-30, Birmingham, UK, 2006: Poster P25.
 37. Milara J, Cortijo J, Armengot M, Banuls P, Gabarda E, Morcillo E. Effect of roflumilast, a PDE4 inhibitor on ciliary beat frequency in human nasal epithelial cells. *Eur Respir J Suppl.* 2008b;Suppl 639:P3651.
 38. Pedemonte N, Galletta L. Stimulation of CFTR-dependent chloride secretion by roflumilast. *Eur Respir J Suppl.* 2008;Suppl 644:P3672.
 39. Mata M, Sarria B, Buenestado A, Cortijo J, Cerdá M, Morcillo EJ. Phosphodiesterase 4 inhibition decreases MUC5AC expression induced by epidermal growth factor in human airway epithelial cells. *Thorax.* 2005;60:144-52.
 40. Weidenbach A, Braun C, Schwobel F, Beume R, Marx D. Steroid insensitivity in a short-term model of cigarette smoke induced pulmonary inflammation in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008a;177:A651.
 41. Graat-Verboom L, Wouters EF, Smeenk FW, Van den Borne BE, Lunde R, Spruit MA. Current status of research on osteoporosis in COPD: A systematic review. *Eur Respir J.* 2009;34:209-18.
 42. Yao W, Tian XY, Chen J, Setterberg RB, Lundy MW, Chmielowski P, et al. Rolipram, a phosphodiesterase 4 inhibitor, prevented cancellous and cortical bone loss by inhibiting endosteal bone resorption and maintaining the elevated periosteal bone formation in adult ovariectomized rats. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2007;7:119-30.
 43. Chang J, Wang Z, Tang E, Fan Z, McCauley L, Franceschi R, et al. Inhibition of osteoblastic bone formation by nuclear factor-kappaB. *Nat Med.* 2009;15:682-9.
 44. Hinkle RT, Dolan E, Cody DB, Bauer MB, Isfort RJ. Phosphodiesterase 4 inhibition reduces skeletal muscle atrophy. *Muscle Nerve.* 2005;32:775-81.
 45. O'Donnell JM, Zhang HT. Antidepressant effects of inhibitors of cAMP phosphodiesterase (PDE4). *Trends Pharmacol Sci.* 2004;25:158-63.
 46. Bolton CE, Evans M, Ionescu AA, Edwards SM, Morris RH, Dunseath G, et al. Insulin resistance and inflammation: A further systemic complication of COPD. *COPD.* 2007;4:121-6.
 47. Tiengo A, Fadini GP, Avogaro A. The metabolic syndrome, diabetes and lung dysfunction. *Diabetes Metab.* 2008;34:447-54.
 48. Waddleton D, Wu W, Feng Y, Thompson C, Wu M, Zhou YP, et al. Phosphodiesterase 3 and 4 comprise the major cAMP metabolizing enzymes responsible for insulin secretion in INS-1 (832/13) cells and rat islets. *Biochem Pharmacol.* 2008;76:884-93.
 49. Ong WK, Gribble FM, Reimann F, Lynch MJ, Houslay MD, Baillie GS, et al. The role of the PDE4D cAMP phosphodiesterase in the regulation of glucagon-like peptide-1 release. *Br J Pharmacol.* 2009;157:633-44.
 50. Zhang R, Maratos-Flier E, Flier JS. Reduced adiposity and high-fat diet-induced adipose inflammation in mice deficient for phosphodiesterase 4B. *Endocrinology.* 2009;150:3076-82.
 51. Evers S, Fingerle J, Himber J, Gretarsdottir S, Gulcher J. The use of PDE4D in the screening for medicaments against atherosclerosis. *PCT Patent WO2004/ 090157; 2004.*
 52. Keatings VM, Jatakanon A, Worsdell YM, Barnes PJ. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;155:542-8.
 53. Marwick JA, Kirkham PA, Stevenson CS, Danahay H, Giddings J, Butler K. Cigarette smoke alters chromatin modelin and induces proinflammatory genes in rat lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2004;31:633-42.
 54. Marwick JA, Caramori G, Stevenson CS, Casolari P, Jazrawi E, Barnes PJ. Inhibition of PI3Kdelta restores glucocorticoid function in smoking-induced airway inflammation in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179:542-8.