

FOLLETO DE INFORMACIÓN AL PROFESIONAL

PIASCLEDINE CÁPSULAS

CLASIFICACIÓN TERAPÉUTICA

PIASCLEDINE está constituido por dos componentes de origen natural: aceite de *Persea gratissima* y aceite de *Glycine max*, en la forma de insaponificables.

~~Estos compuestos insaponificables han probado ser efectivos en el manejo de episodios dolorosos de osteoartritis, de los cuales ellos parecen retardar su desarrollo [1]. No obstante, también son de interés para el tratamiento de patologías tales como escleroderma y parodontosis.~~

~~Diversos estudios desarrollados *in vitro* o *in vivo* en animales de laboratorio han confirmado los efectos beneficiosos de la asociación de insaponificables de **PIASCLEDINE** sobre el cartílago.~~

~~Además, se han actualizado los primeros estudios de toxicidad subaguda y aguda mediante la realización de estudios recientes de toxicidad crónica, embriotoxicidad y teratogenicidad, como también por tests de mutagenicidad, con el objeto de confirmar la excelente tolerancia del producto.~~

COMPOSICIÓN:

Cada cápsula contiene:

Extracto total de insaponificables de aceite de *Persea gratissima (Gaertn)* y *Glycine max* L. 300 mg

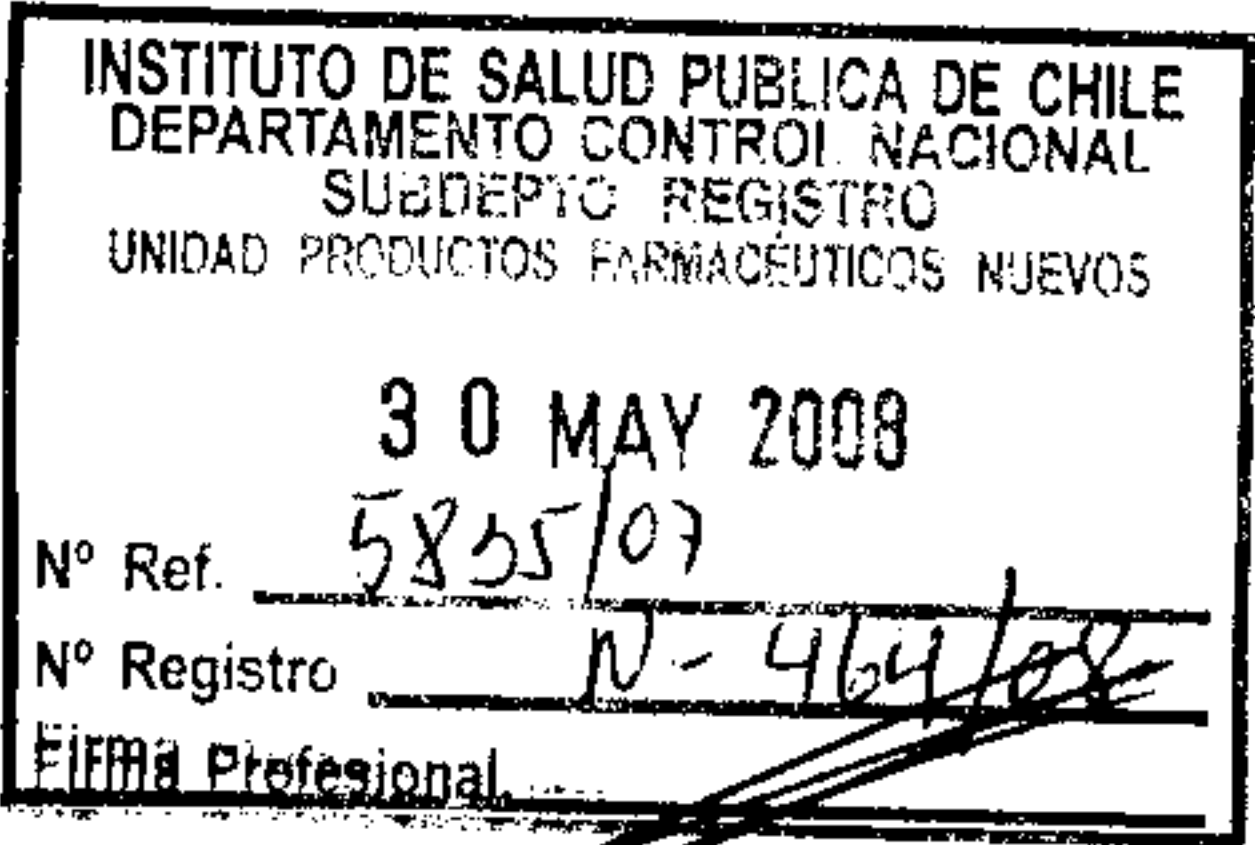
Compuesto por:

Insaponificables de Aceite de pulpa de *Persea gratissima (Gaertn)* 100 mg

Insaponificables de Aceite de *Glycine max* L 200 mg

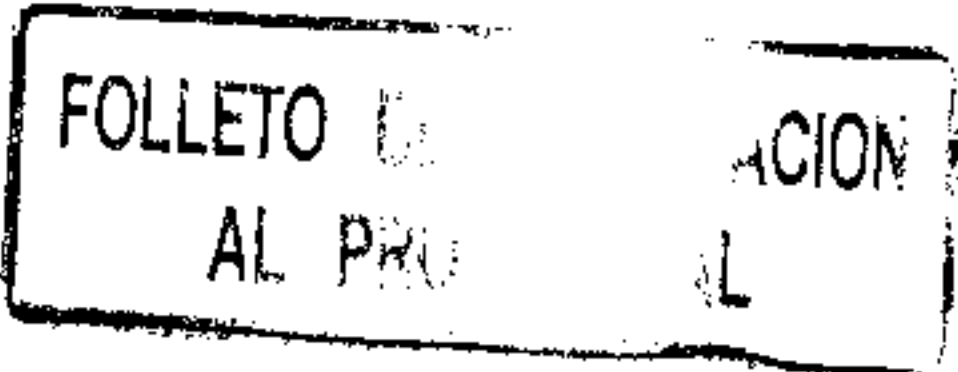
Excipientes: Butilhidroxitolueno, dióxido de silicio coloidal (Aerosil) c.s.

Cápsula: dióxido de titanio (E171) C.I. 77891, tinta negra de impresión, colorante eritrosina FD&C rojo N° 3 C.I. 45430, óxido amarillo de hierro (E172) C.I. 77492.



PRESENTACIÓN:

Cajas con X cápsulas.



INDICACIÓN:

Este medicamento está indicado en el tratamiento de apoyo en enfermedades osteoartrosicas(osteoartríticas)

MECANISMO DE ACCIÓN:

~~**PIASCLEDINE** estimula el mecanismo de recuperación del tejido conjuntivo, especialmente del cartílago, estimulando la producción de cartílago nuevo.~~

EFFECTOS ADVERSOS:

Son muy poco frecuentes. En algunos casos han sido descrito casos de malestar gástrico sin relevancia.

También se han presentado casos de regurgitación con sabor a los aceites, la cual disminuye o se elimina, administrando el producto junto con las comidas. En casos excepcionales pueden verse reacciones de hipersensibilidad y trastornos hepáticos con elevación de transaminasas, fosfatasas alacalinas, bilirrubina y de la gamma GT.

PRECAUCIONES:

PIASCLEDINE no debe ser ingerido por personas alérgicas a uno de los componentes de la fórmula.

CONTRAINDICACIONES:

No se aconseja su uso en pediatría por no existir trabajos clínicos en este grupo etario. No debe utilizarse durante el embarazo y la lactancia, salvo indicación médica expresa.

TOXICOLOGÍA

Los ensayos de toxicidad aguda y crónica efectuados en ratones y perros mostraron una toxicidad prácticamente nula.

Los estudios de embriotoxicidad y teratogenicidad efectuados en ratas y conejos, arrojaron resultados negativos.

A partir de los resultados obtenidos de los tests de Ames, de micronúcleos y de cultivos de células ováricas de hamster chino, se descartó la existencia de potencial mutagénico.

INTERACCIONES E INCOMPATIBILIDADES:

No han sido descritas

FOLLETO DE INFORMACION
AL PROFESIONAL

SOBREDOSIS (INTOXICACIÓN):

No han sido descrito casos de sobredosis. Si se sospecha un accidente por sobredosificación, se aconseja vigilancia y tratamiento sintomático.

POSOLOGÍA:

Como dosis promedio, una cápsula de **PIASCLEDINE** al día, tomado en medio de una de las comidas principales con abundante agua.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

CONSERVAR EN LUGAR SECO A TEMPERATURA INFERIOR A 30°C

PRODUCTO MEDICINAL,

MANTÉNGASE FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS

Venta ~~directa~~ **Bajo receta médica** en establecimientos Tipo A y B



FARMACODINAMIA

UNA REVISIÓN ACERCA DE LA OSTEOARTRITIS

El cartílago esta compuesto de una matriz extracelular que posee un elevado contenido de agua y el que es fortalecido por la presencia de fibras de colágeno tipo II que forman una red de conexiones en la cual se fijan los agregados de proteoglicanos y condrocitos. Los condrocitos presentan una actividad metabólica elevada por su síntesis de proteoglicanos y colágeno. Ellos también secretan la Glicosiltransferasa, esencial para la formación de unidades del disacárido glicosaminoglicano. Los condrocitos contienen enzimas capaces de degradar el cartílago, particularmente proteinasas, las cuales pueden destruir la proteoglicano proteína.

Se logra así un estado estable permanente, entre síntesis y degradación de colágeno y proteoglicano [2].

La superficie interna de la cápsula articular está revestida con la membrana sinovial.

Esta membrana está rodeada por células conectivas, los sinoviocitos. La membrana sinovial es una membrana secretora. Los sinoviocitos tipo B producen proteoglicanos, colágeno, ácido hialurónico y probablemente una glicoproteína lubricante. En virtud de los sinoviocitos tipo A y C, la membrana sinovial es también una membrana macrofaga, pudiendo liberar a la articulación de diversas partículas extrañas, especialmente fragmentos de cartílago en la osteoartritis. Esta membrana sinovial también es una membrana filtrante que permite que sustancias presentes en el plasma difundan al interior de la cavidad de la articulación.

El deterioro de los cartílagos de la articulación es la principal lesión de osteoartritis.

Se ha observado una pérdida prematura de proteoglicanos, modificando el funcionamiento mecánico del cartílago y exponiéndolos a la erosión durante el funcionamiento de la articulación. La disminución progresiva en la concentración de proteoglicanos del cartílago podría deberse a un empeoramiento o déficit del funcionamiento de los condrocitos que culmina con una producción en exceso de enzimas (proteasas) capaces de dañar a los proteoglicanos. Sin embargo, esta disminución también podría deberse a una deficiente síntesis de proteoglicanos. Se observa una degradación de las fibras de colágeno con un aumento en el contenido del colágeno Tipo I, lo cual refleja modificaciones en el metabolismo de los condrocitos[3].

Una inflamación sinovial menor puede ser asociada a las lesiones óndro óseas.

También se sabe que la interleukina I juega un rol significativo en el catabolismo de la matriz extracelular al estimular la producción de metaloproteasas condrocito inducidas (colagenasa, estromelicina) [4,5]. Estas vías de degradación del cartílago esta reforzada por el hecho que los condrocitos pueden secretar interleukina I y auto activarse, con una reducción en la síntesis de proteoglicano y la liberación de las enzimas de degradación del cartílago.[6].

Uno de los enfoques para el tratamiento anti osteoartritis involucra por lo tanto, una inhibición del proceso destructivo de la articulación y la notoria degradación del cartílago.

Con el fin de lograr esto, una droga anti osteoartritis debe:

- neutralizar los factores de degradación del cartílago, tales como las metaloproteasas (colagenasa, proteoglicanasa) y ciertas citoquinas tales como la interleukina I;
- ser efectiva sobre el mecanismo de reparación del cartílago, es decir, promover la secreción de componentes tales como los proteoglicanos y colágeno.

Ambas propiedades farmacológicas se han observado en diversos estudios *in vitro* e *in vivo* realizados con **PIASCLEDINE**.

Actividad anti osteoartrítica de PIASCLEDINE *IN VITRO*

La actividad de **PIASCLEDINE** a nivel de las articulaciones se ha demostrado *in vitro* en diversos modelos. Los estudios se han realizado en condrocitos de humanos y conejos, como también en células sinoviales humanas.

EFFECTO SOBRE LOS PROTEOGLICANOS

Un estudio *in vitro* fue desarrollado con la finalidad de determinar cuali y cuantitativamente el efecto de **PIASCLEDINE** sobre condrocito articular humano bajo condiciones crónicas y agudas, y en dos modelos — un modelo normal y otro modelo osteoartrítico [7].

Una serie de condrocitos tomados de cartílago aparentemente normal de una cabeza de fémur humano y otra serie tomada de cartílago "osteoartrítico" en la misma región del cuerpo fueron tratadas por 4 hrs., 24 hrs. y 12 días con 10 µg/ml de **PIASCLEDINE** y comparado con los de un grupo control. Bajo las mismas condiciones, los cultivos fueron incubados con β-APN (beta amino propio nitrilo), el que inhibe la formación del colágeno entrecruzado tendiendo a difundir en el medio de cultivo en un estado tan soluble como opuesto a la formación de red fibrilar en la matriz extracelular (de aquí la analogía con la osteoartritis experimental).

Los cultivos de células fueron incubados con precursores radioactivos (³H serina: proteína precursora y ³⁵SO₄: precursor proteoglicano). Se realizaron análisis cuantitativo (mediciones de radioactividad incorporada en la fracción macro molecular) y análisis cualitativo de los proteoglicanos sintetizados.

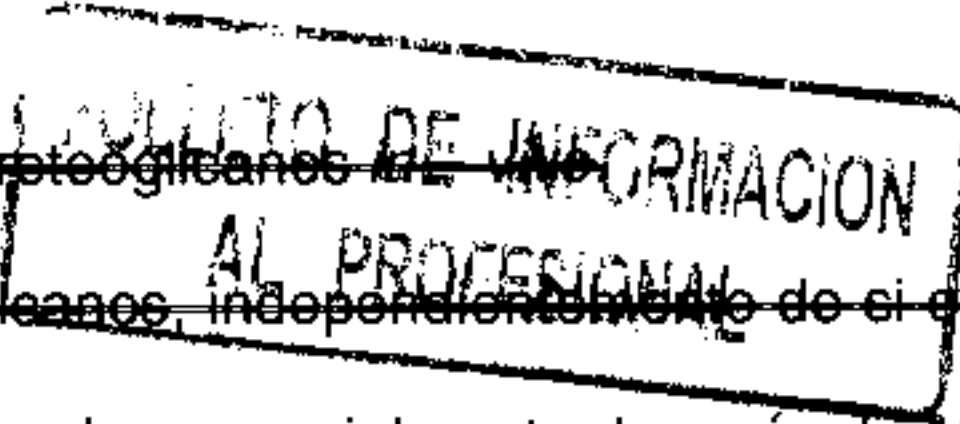
Los resultados muestran que **PIASCLEDINE** aumenta significativamente la síntesis y acumulación de proteoglicanos en los compartimentos de cultivos: matriz media y extracelular. Este efecto es especialmente marcado Mientras mas largo es el período de tratamiento, en el modelo "Osteoartrítico" en contraste al modelo "Normal", y mientras más β-APN sea adicionado al medio.

El estudio Cualitativo revela que:

- La calidad de los proteoglicanos sintetizados por el cultivo es comparable con la de los proteoglicanos nativos.
- El tratamiento con β-APN no modifica esta calidad
- El tratamiento (agudo o crónico) con **PIASCLEDINE** no altera la calidad de los proteoglicanos, independientemente de si se usó el modelo normal o el modelo osteoartrítico;
- El tratamiento con **PIASCLEDINE** aporta al medio con proteoglicanos de alto peso molecular, especialmente después de 12 días de tratamiento.

Estos proteoglicanos sulfatados pueden agregarse beneficiosamente con ácido hialurónico.

Otro estudio *in vitro*, similar al previo, fue realizado con la finalidad de confirmar los efectos de **PIASCLEDINE** (PIAS) en la síntesis de proteoglicanos [8]. Además, en este estudio, los dos componentes de **PIASCLEDINE**, o sea los extractos



insaponificables obtenidos de SOYA (PIS) y de Palta (PIA), fueron estudiados separadamente. Los condrocitos fueron recolectados desde la cabeza osteoartrítica de un fémur humano.

El efecto de las diversas fracciones fue evaluado por la incorporación de ³⁵SO₄ y ³H-serina en los compartimentos de dos cultivos: medio de cultivo y capa de células. Los cultivos de condrocitos fueron tratados bajo condiciones agudas (24 hrs) y crónicas (12 días) a una concentración de 10 µg/ml, y también a los niveles de dosis correspondientes a la cantidad de cada componente contenido en 10 µg de **PIASCLEDINE**, es decir, 6,66 µg/ml de PIS y 3,33 µg/ml de PIA. Series de control, con y sin DMF (dimetilformaldehído, solvente de disolución), fueron analizadas al mismo tiempo.

Los resultados pertenecientes a proliferación celular de condrocitos y acumulación de proteoglicano en ambos compartimentos de cultivos, expresados como aumento o disminución del porcentaje comparado con dos series control con DMF, son listadas en la Tabla 1.

Tabla 1: Proliferación celular y acumulación de proteoglicano en los 2 medios de cultivo (porcentaje comparado con el control DMF) [8].

a. Condiciones agudas

Componente a ensayar	Proliferación celular	medio de cultivo		Matriz Extracelular	
		³ H-serina	³⁵ SO ₄	³ H-serina	³⁵ SO ₄
PIS					
10 µg/ml	-	-27%(a)	-30%	+136%(e)	+113%(b)
6,66 µg/ml	-	-32%(e)	-38%(e)	+78%(a)	+56%(b)
PIA					
10 µg/ml	+15%(a)	-40%(b)	-52%(e)	+52%(a)	+27%
3,33 µg/ml	+13%(a)	-55%(e)	-67%(b)	+68%(a)	+50%(a)
PIAS					
10 µg/ml	+10%(a)	-36%(b)	-41%(e)	+13%	-19%
Control (DMF)*	-	+8%	+15%	+5%	+7%

a. Condiciones crónicas

Componente a ensayar	Proliferación celular	medio de cultivo		Matriz Extracelular	
		³ H-serina	³⁵ SO ₄	³ H-serina	³⁵ SO ₄
PIS					
10 µg/ml	+45%(e)	-10%	-20%	+5%	+1%
6,66 µg/ml	+38%(b)	+16%	+6%	+20%	+32%(a)
PIA					
10 µg/ml	+25%(e)	+42%(e)	+20%(a)	+71%	+90%(e)
3,33 µg/ml	+29%(e)	+41%(e)	+32%(b)	+41%	+52%(b)
PIAS					
10 µg/ml	-14%(a)	+16%	-4%	+80%	+83%(e)
Control (DMF)*	-29%(e)	+21%	+42%(b)	+21%	+28%(e)

* % comparado con el control Libre de DMF
Comparado con control: [DMF] : (a): p<0,05; (b): p<0,01; (c): p<0,001

Bajo condiciones de tratamiento agudo (24 horas), los ingredientes contenidos en **PIASCLEDINE** tienen un efecto significativo, aumentando la acumulación de proteoglicano en la matriz extracelular mientras reduce este fenómeno en los medios de cultivo. Estos resultados pueden ser interpretados como una inhibición de la degradación, probablemente asociada con una estimulación de la síntesis y secreción natural de proteoglicanos. Los resultados son menos marcados con **PIASCLEDINE** (totum), sin embargo se observa una estimulación benéfica de proliferación celular.

Bajo condiciones crónicas (12 días), los ingredientes contenidos en PIS y **PIASCLEDINE** (totum) estimulan marcadamente la acumulación de proteoglicanos en la Matriz como también en el medio de cultivo en el caso de PIA. Estos resultados se deben a una estimulación de la síntesis de proteoglicanos como también de secreción.

Así, estos estudios muestran que los insaponificables de los extractos de soya (PIS) presentan una actividad principalmente evidente bajo condiciones agudas mientras que los insaponificables de los extractos de palta (PIA) tienen una actividad más significativa bajo condiciones crónicas. El efecto de **PIASCLEDINE** (totum) induce una inhibición de la degradación de los proteoglicanos durante el tratamiento agudo (acción predominante de PIS) y por una síntesis aumentada y secreción por los condrocitos osteoartríticos durante el tratamiento crónico (acción predominante de PIA).

Los dos componentes contenidos en **PIASCLEDINE** tienen así un efecto complementario en el tratamiento de osteoartritis.

EFFECTO SOBRE EL METABOLISMO DEL COLÁGENO

A. Efecto sobre la producción del colágeno

En un estudio realizado en cultivos de odontoblastos, Magleiro and Hartmann [9] evidenciaron un aumento en la síntesis de colágeno durante el tratamiento con **PIASCLEDINE**. Adicionalmente, también se mostró que **PIASCLEDINE** induce una estimulación en la producción de proteoglicano desarrollado a través de su actividad sobre condrocitos articulares osteoartríticos cultivados.[7].

~~Por ello, se realizó un estudio con la finalidad de evaluar el efecto de PIASCLEDINE sobre la producción de colágeno por cultivo de fibroblastos dermales, células sinoviales humanas y condrocitos articulares de conejo [10]. Los cultivos celulares fueron incubados con y sin PIASCLEDINE a concentraciones de 0,1 hasta 10 µg/ml durante 24 horas y también durante 7 y 14 días. Los resultados a las 24 horas muestran que la preparación de extractos incaponificables no afectó la síntesis de colágeno de los tres tipos de células. A la inversa, los resultados obtenidos después de varios días de incubación en presencia de PIASCLEDINE revelaron un efecto estimulante. La síntesis de colágeno por sinoviositos y condrocitos articulares aumentaron en 20 y 80% respectivamente, mientras que los fibroblastos dermales se mantuvieron sin cambios. De esta forma los incaponificables de la pata y la coya podrían tener un efecto beneficioso sobre el cartílago enfermo (dañado) promoviendo la restauración de la estructura conectiva. La síntesis del colágeno puede estar deprimida bajo el efecto de PGE₂. Esta prostaglandina fue ensayada en medios de cultivo durante el estudio. A una concentración de 10 µg/ml, PIASCLEDINE reduce la cantidad de PGE₂ secretado después de 24 horas de incubación y después de 5 días de cultivo en 77% y 57% respectivamente. Otro estudio realizado in Vitro sobre condrocitos humanos muestran que las a concentraciones de 2, 10 y 50 mg/ml, PIASCLEDINE reduce la cantidad de PGE₂ liberada al medio [11]. El efecto de PIASCLEDINE sobre la secreción de PGE₂ es más marcado cuando los condrocitos han sido incubados previamente con interleukina 1.~~

B. Inhibición de metaloproteasas

~~Además de su efecto procolagénico, una droga anti osteoartrítica debe también inhibir la síntesis y activación de las enzimas de degradación del cartílago. El efecto de PIASCLEDINE sobre la actividad enzimática del cartílago humano osteoartrítico fueron investigada in vitro [12]. Fragmentos de cartílago fueron tomados desde pacientes que presentaban osteoartritis de la cadera (n=10). Después de retirar y acondicionar otros varios tejidos, se realizó un ensayo enzimático en el sobrenadante y se determinó la actividad colagenolítica. Bajo estas condiciones, PIASCLEDINE inhibió la colagenasa tipo II a concentraciones de 35 y 70 µg / ml. Este efecto es dosis dependiente. Se observó una disminución de un 47% en la actividad a dosis de 70 µg/ml. Sin embargo, PIASCLEDINE no presentó efecto inhibitor sobre proteasas neutras.~~

C. Inhibición de los efectos de interleukina 1

~~La interleukina 1 (IL1) probablemente juega un rol clave en el catabolismo de la Matrix extracelular estimulando la producción de colagenasa por las células de la articulación, conduciendo a la degradación del cartílago [6]. Se investigó [13] el efecto in vitro de PIASCLEDINE sobre la actividad colagenolítica observada en cultivos de células sinoviales humanas y condrocitos articulares de conejo con y sin IL1. Los estudios fueron realizados después de incubar las células por 48 horas y 5 días en presencia de PIASCLEDINE (10 µg/ml). Los resultados muestran que PIASCLEDINE es capaz de reducir la marcada estimulación ejercida por la IL1 sobre la secreción enzimática de colagenasa. Este efecto se observó tanto después de 48 horas como después de 5 días de incubación, y los condrocitos articulares resultaron ser más sensitivos que los sinoviositos. Más aún, PIASCLEDINE parece tener un efecto más específico en presencia de IL1, es decir, sobre células estimuladas. Este hecho debe ser comparado con el estudio de la síntesis de proteoglicano en el cual PIASCLEDINE resultó ser más efectivo sobre los condrocitos osteoartríticos cuando es comparado con los estados normales. Este efecto de PIASCLEDINE sobre la actividad colagenolítica fue confirmada en un estudio in vitro realizado sobre condrocitos humanos con y sin IL1[11].~~

ACTIVIDAD ANTI-OSTEOARTRÍTICA In Vivo

1º. Modelo Osteoartrítico por contusión mecánica

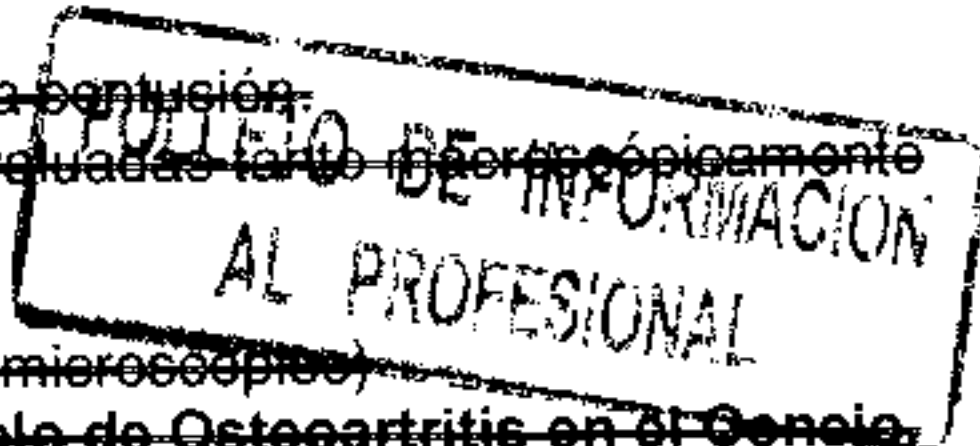
~~Osteoartritis experimental es inducida en el conejo dejando caer un peso de 1 kg desde una altura de 1 metro sobre la articulación de la rodilla. La osteoartritis se desarrolla en el transcurso de 7 semanas. En este estudio [14], 80 conejos fueron distribuidos en 4 grupos~~

- ~~— Conejos "Control" (no contusos, no tratados);~~
- ~~— Conejos "Contusos" (no tratados);~~
- ~~— Conejos "Contusos" "Tratados" con PIASCLEDINE;~~
- ~~— Conejos "control" "Tratados" con PIASCLEDINE.~~

~~PIASCLEDINE fue administrado mediante cánulas en dosis de 50 mg/día, desde el inicio de la contusión. Los animales fueron sacrificados 7 semanas después de la contusión y las lesiones fueron evaluadas tanto macroscópicamente como microscópicamente (puntaje de osteoartritis modificado de acuerdo a Colombo)~~

~~Tabla 2 muestra los puntajes morfológicos promedio macroscópicos y total (= macroscópico + microscópico).~~
Tabla 2: Valores promedios de puntajes morfológicos macroscópico y total en un modelo de Osteoartritis en el Conejo.

Grupe	Puntaje macroscópico	Puntaje Morfológico Total
Control	1.11 ± 0,34	4.43 ± 0,89
Contusos	3.22 ± 0,98	8.62 ± 1,16
Contusos, animales tratados	1.20 ± 0,90	5.35 ± 1,10
Controles Tratados	1.87 ± 0,65	5.17 ± 0,68



Los conejos contusos tratados con **PIASCLEDINE** presentaron un puntaje morfológico total significativamente menor que los conejos contusos no tratados (disminución de 37% comparado con los animales contusos). Este puntaje es, sin embargo, más alto que el obtenido en los animales control no tratados.

La actividad de Colagenasa también fue evaluada en los diversos grupos. La forma activa se observó en cartílagos contusos pero no en cartílagos normales. Actividad enzimática disminuida se observó después de administrar **PIASCLEDINE**.

Así **PIASCLEDINE** ejerce un efecto protector del cartílago en la osteoartritis experimental post contusión, mientras que los animales tratados presentan muy pocas lesiones anatómo-morfológicas respecto a los animales no tratados.

2° Efectos sobre las enzimas de cartílago humano *in vivo*

Dado el hecho que es imposible ensayar los diversos ingredientes de **PIASCLEDINE** en la articulación, se desarrolló un estudio con el objeto de evaluar su efecto *in vivo* sobre las enzimas que encuentran en el cartílago de sujetos osteoarthriticos [15].

Para este propósito, se incluyó a 27 pacientes que sufrían de osteoartritis de la cadera y se les distribuyó en uno de 3 diferentes grupos:

- Un grupo control que recibió paracetamol en dosis diaria desde 1 a 3 g;
- Un grupo que recibió **PIASCLEDINE** a niveles de dosis de 1 cápsula/día, es decir, 300 mg/día más paracetamol;
- Un grupo que recibió dos cápsulas de **PIASCLEDINE** por día, es decir, 600 mg/día.

Los pacientes fueron tratados durante 3 meses antes de la cirugía en la que se extirpó la cabeza del fémur. Se midió la actividad enzimática presente en el cartílago y los resultados se presentan en la **Tabla 3**.

Tabla 3 : Actividad Enzimática en el cartílago

Actividad (dpm/h/mg)	Control	Tratado con 300 mg/día	Tratado con 600 mg/día
Colagenasa	978 ± 1497	1159 ± 1413	476 ± 360
Gaseinasa	1326 ± 1826	1591 ± 2165	634 ± 247
Proteoglycanasa	11570 ± 13070	21876 ± 20032	17452 ± 14700
Fosfolipasa A2	18605 ± 9200	21230 ± 19281	12804 ± 2639

Aunque no se observó diferencia significativa entre los tres grupos de pacientes, existió una marcada disminución en la actividad espontánea de colagenasa y caseinasa en los pacientes tratados con 600 mg / día de **PIASCLEDINE**. Se debe hacer notar la gran variabilidad interindividual y el bajo número de pacientes por grupo.

ACTIVIDAD ANTI-INFLAMATORIA

El potencial anti-inflamatorio de **PIASCLEDINE** fue evaluado en diversos modelos de inflamación usuales en ratas [16].

- Un Modelo de inflamación aguda : Edema inducido por carragenina;
- Un modelo de inflamación Subaguda: artritis inducida por Zymosan
- Un Modelo de inflamación crónica: Poliartritis debido al adyuvante de Freund

La administración profiláctica o curativa de **PIASCLEDINE** no mostró actividad anti-inflamatoria en estos modelos de inflamación. Sin embargo, se debe hacer notar que estos estudios no hicieron comparaciones con los AINES, los cuales son activos en estos modelos y validarían los estudios.

PROPIEDADES FARMACODINÁMICAS GENERALES

Debido a su contenido en insaponificables de coya y abocado, **PIASCLEDINE** es rico en esteroides — sustancias con una estructura semejante a la de las vitaminas del grupo D.

Por este, el efecto de **PIASCLEDINE** sobre el metabolismo del calcio también fue evaluado en ratas jóvenes [17].

Ratas Albinas (n=24), alimentadas con una dieta balanceada, de la cual se sacó la vitamina D, fueron distribuidas en 3 grupos.

El grupo uno sirvió como control mientras que los otros dos grupos recibieron la misma dieta en la cual **PIASCLEDINE** fue incorporado en una concentración de 0,1% o 1%. Después de tres semanas, los animales control presentaron signos típicos tales como depleción de calcio sérico, cambios óseos, tetania al tiempo de sacrificarlos o hipertrofia de la glándula paratiroides. Ninguno de estos signos fue observado entre los animales de los dos grupos tratados. En el grupo que recibió 1% de **PIASCLEDINE**, los niveles de calcio sérico fueron ligeramente mayores que los normales (117 vs 100 ng/ml).

También se realizó un estudio con la finalidad de investigar la potencial actividad de vitamina D de **PIASCLEDINE** [17].

Veinticinco (25) ratas fueron divididas en 5 grupos:

- 1 grupo control negativo, que recibió una dieta inductora de raquitismo;
- 2 grupos control positivo, alimentados con la misma dieta en la cual se adicionó 0,35 UI/día o 0,7UI/día de vitamina D2;
- 2 grupos, que recibieron **PIASCLEDINE** 80 mg/kg/día u 800 mg/kg/día además de la dieta inductora de raquitismo.

Después de tres semanas de tratamiento, se observó casos significativos de raquitismo en los animales control negativo y una recuperación total en los controles positivos que recibieron 0,7 UI de vitamina D2 / día. Una ligera actividad anti-raquitismo se observó en los animales tratados con **PIASCLEDINE**.

La ausencia de cualquier riesgo de hipervitaminosis tipo D fue claramente confirmada durante la administración de altos niveles de dosis de **PIASCLEDINE** (hasta 800 mg /kg/día)

TOXICOLOGÍA:

Los estudios de toxicidad aguda y subaguda realizado en ratones, ratas y conejos ya han sido descritos en 1969 (Solicitud de autorización de comercialización) y en 1990 (Proceso de validación) [17,18].

Otros estudios han sido realizados con la finalidad de completar el Dossier: estudios de toxicidad crónica [19,20,21]; estudios de embriotoxicidad y teratogenicidad [22,23] y tests de mutagenicidad [24,25,26,27].

Todos los estudios realizados con **PIASCLEDINE** son resumidos y analizados con el objeto de evaluar la seguridad del producto.

Toxicidad a dosis única:

La toxicidad aguda de **PIASCLEDINE** fue evaluada en ratones después de administración oral [17]. Veinte ratones (10 machos y 10 hembras) recibieron por alimentación forzada (cebadura) 8 g/kg de una mezcla hecha de insaponificables de aceite de avocado y de aceite de soya suspendidos en aceite de maní (cacahuato). Un grupo control recibió el mismo volumen de aceite de maní. Los animales fueron monitoreados durante 1 mes. No se observó mortalidad. El producto fue muy bien tolerado.

Por lo anterior, la dosis letal 50 (LD₅₀) no pudo ser determinada por esta vía; la administración del producto a la mas alta concentración y máximo volumen que podían ser ingeridos por los ratones no generó mortalidad. No se realizaron exámenes macroscópicos o microscópicos.

Toxicidad a dosis repetidas:

a. Estudio de Toxicidad Subaguda (hasta 3 meses)

Estudios de toxicidad subaguda fueron realizados en ratas, conejos y perros después de una administración de **PIASCLEDINE**.

a1. Estudio en ratas y conejos:

PIASCLEDINE fue administrado a ratas por alimentación forzada (cebadura) durante 3 meses en dosis de 80 y 800 mg/kg/día y a conejos en dosis de 320 mg/kg/día. Estos animales fueron comparados con un grupo control [17,18]. El producto fue bien tolerado. No se observó diferencias al comparar con el grupo control, respecto a tasa de mortalidad, tests de laboratorio o peso de órganos. Solo ocasionalmente se observó una ligera disminución en la proporción Colesterol esterificado / Colesterol total. Los exámenes histológicos de los órganos no revelaron ningún tipo de anomalía relacionada con el tratamiento.

a2. Estudio en perros:

Un estudio reciente para encontrar rango de dosis fue desarrollado en perros con el objeto de determinar los niveles de dosis para la administración durante el estudio de toxicidad crónica [19]. El producto fue administrado por alimentación forzada en niveles de dosis de 500 y 1000 mg/kg/día durante 10 días (7 días/7), luego, después de un período de descanso, como una dosis total se administre cápsulas de 250 y 500 mg/kg/día durante 14 días (7 días/7). No se observó mortalidad durante el estudio. Los principales síntomas observados fueron los siguientes: vómitos y una ingesta reducida de alimentos asociada con una leve pérdida de peso. Estos signos fueron más marcados a dosis de 1000 mg/kg/día y también después de administrar 500 mg/kg/día por alimentación forzada. Con el mas alto nivel de dosis se observó niveles elevados de bilirrubina total, transaminasas y fosfatasa alcalina junto con ligero incremento en el peso del hígado. El peso de los órganos no fue modificado a otros niveles de dosis administrados y no se observó ningún tipo de anomalías en el examen macroscópico. En este estudio, la dosis no efectiva que fue mejor tolerada comprenden a los 250mg/Kg./día y los 500 mg/kg/día administrada como cápsulas.

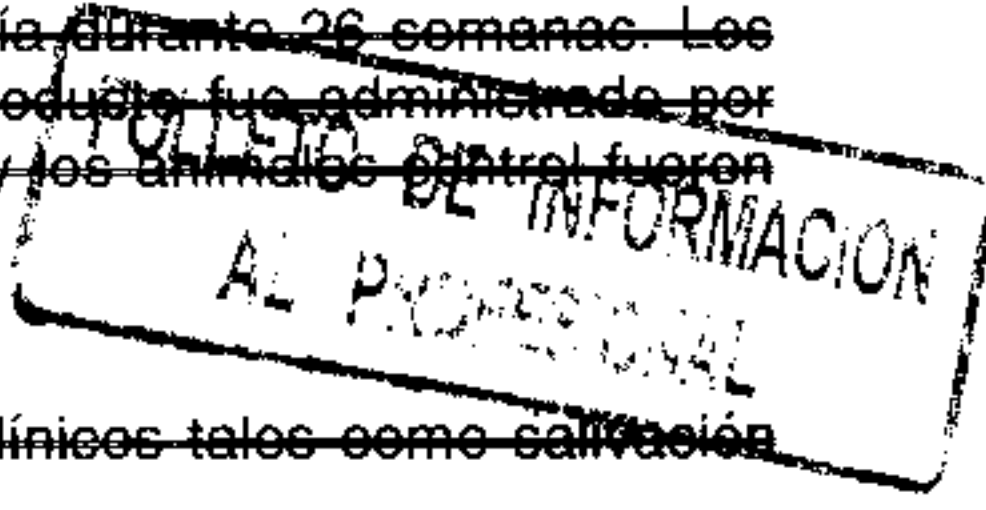
b. Tests de Toxicidad Crónica

b1. Estudio en ratas:

Recientemente se desarrolló un estudio de toxicidad crónica (cumpliendo con las BPL (Buenas Prácticas de Laboratorio)), empleando ratas a las que se les administró **PIASCLEDINE** en dosis de 50, 200 y 750 mg/kg/día durante 26 semanas. Los animales tratados fueron comparados con un grupo control (40 a 60 animales por grupo). El producto fue administrado por alimentación forzada 7 días de 7 (7 days out of 7). Los animales que recibieron 750 mg/kg/día y los animales control fueron monitoreados durante 4 semanas después de retirado el tratamiento [20]. No se observó mortalidad relacionada con el producto. El producto fue muy bien tolerado a dosis diarias de 50 y 200 mg/kg. Con el mas alto nivel de dosis administrado (750 mg/kg/día), los animales presentaron signos clínicos tales como salivación durante los primeros 5 meses de tratamiento. Una reducción progresiva en la ganancia del peso corporal, un aumento reversible en los niveles de transaminasas y fosfatasa alcalina junto con un aumento en el peso del hígado y palidez fueron observados al examen macroscópico con las dosis de 200 y 750 mg/kg/día. Estos hallazgos fueron, sin embargo, más marcados después de la administración del mas alto nivel de dosis administrado. En examen microscópico del hígado, después de dosificación diaria de 750 mg/kg, se observó vacuolización de grasa periportal e hipertrofia del hepatocito centrolobular. La tiroides ocasionalmente presentó hipertrofia foliular a este nivel de dosis. Estos efectos reversibles tienden a ser asociados con la naturaleza lipídica del producto.

b2. Estudio en Perros:

También se realizó un estudio de toxicidad crónica (cumpliendo las BPL) sobre perros [21]. Los animales recibieron **PIASCLEDINE** en cápsulas en dosis de 30, 125 y 500 mg/kg/día durante 26 semanas, y fueron comparados con un grupo control (4 a 6 animales por grupo). Dos machos y dos hembras en el placebo y grupos con altas dosis (500 mg/kg/día) fueron monitoreados durante 4 semanas después de suspendido el tratamiento. Una hembra en el grupo control murió accidentalmente durante la 11ª semana y un macho en el grupo de dosis de 125 mg/kg/día, que tenía historia de falla hepática, fue sacrificado durante la semana 22 del estudio. Con el mas alto nivel de dosis se observó una reducción en la ganancia de peso corporal con ingesta reducida de alimentos. También se notó un aumento en los niveles de fosfatasa alcalina y transaminasas combinado con cambios histopatológicos del hígado. El tratamiento resultó en cambios microscópicos del hígado (hipertrofia del hepatocito centrolobular, vacuolización y litiasis) a todos los niveles de dosis, pero las lesiones más significativas se observaron en los animales del grupo tratado con altas dosis, hasta fibrosis cirrótica con formación de nódulos. Estas lesiones se relacionaron con desórdenes del metabolismo de los lípidos. Se debe hacer notar que los perros son particularmente sensitivos a los cambios en los niveles lipídicos séricos.



ESTUDIO EN LA REPRODUCCIÓN

~~Los estudios sobre embriotoxicidad y teratogenicidad fueron realizados con PIASCLEDINE administrado oralmente a dosis de 10, 100 y 1000 mg/kg/día versus un grupo control — uno en ratas [22] y el otro en conejos [23] (todos ellos acorde con las BPL). Las ratas fueron tratadas desde el sexto al 15° día de gestación y sacrificadas en D20 (25 animales por grupo). Los conejos fueron dosificados con PIASCLEDINE desde el D6 hasta el D18 y fueron sacrificados el D28 (18 a 22 conejos por grupo). Independiente de las especies y las dosis administradas, PIASCLEDINE no resultó tener efectos tóxicos alguno en las hembras preñadas. Los parámetros estudiados (número de animales vivos en las camadas, el número de sitios de resorción, el peso de los jóvenes y la presencia de anomalías en el feto, esqueleto o vísceras), no reveló diferencia significativa alguna entre los animales tratados y control. Así se demuestra que PIASCLEDINE no presenta efectos embriotóxicos y teratogénicos en ratas y conejos a dosis diarias de 10, 100 y 1000 mg/kg.~~

POTENCIAL MUTAGÉNICO:

~~El potencial mutagénico de PIASCLEDINE fue evaluado recientemente por medio de tests *in vitro* [24,25,26] y en un test de Micronúcleos realizado en ratones [27].~~

A. Estudios *in vitro*

~~Se realizó un test de Ames sobre 5 cepas de Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537 y TA1538), con y sin activación metabólica, y comparado con controles positivos y negativos [24]. PIASCLEDINE no indujo ningún aumento significativo o reproducible en el número de revertantes a concentraciones de 8 a 5000 µg/placa. PIASCLEDINE puede ser considerado no mutagénico bajo las condiciones de este test. PIASCLEDINE fue ensayado en cultivos de células ováricas de Hamster Chino (CHO) con la finalidad de evaluar el potencial mutagénico sobre el locus HGPRT a concentraciones desde los 10 hasta los 1000 µg/ml, con o sin activación metabólica [25]. Un aumento significativo en la frecuencia de mutación se observó durante un test a concentraciones de 600 µg/ml (con S9) y 300 µg/ml (sin S9). No se observó relación dosis efecto y los resultados positivos fueron considerados relacionados a mutaciones espontáneas. En estos tests PIASCLEDINE demostró no tener potencial mutagénico. Se realizó un test *in vitro* para inducir la aberración cromosómica en cultivo de linfocitos humanos [26]. Concentraciones de 16 a 5000 µg/ml de PIASCLEDINE no resultaron en aberraciones cromosómicas ya sea con o sin activación metabólica.~~

B. Test de Micronúcleos

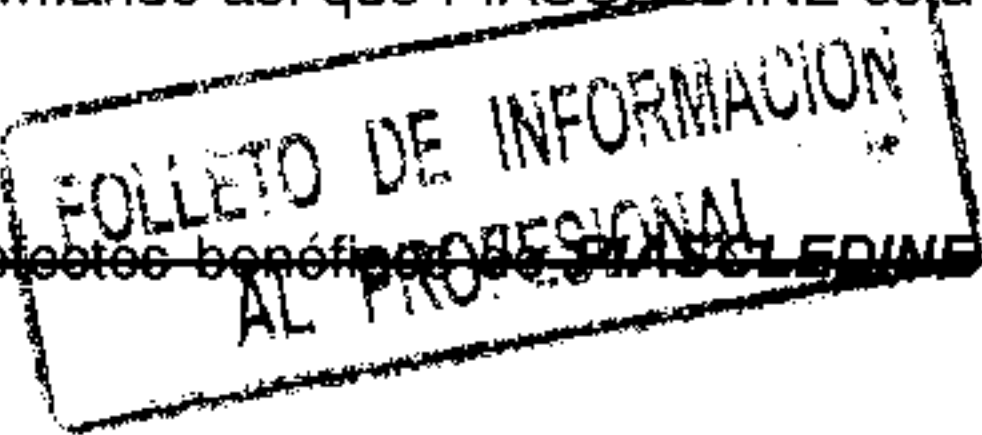
~~El potencial mutagénico de PIASCLEDINE fue evaluado por medio del test de micronúcleos en ratones. El producto fue administrado oralmente a dosis de 5000 mg/kg a grupos de 10 ratones (5 machos y 5 hembras), los que fueron sacrificados, después de la dosis, a las, 24, 48 y 72 horas.[27]. El test no reveló actividad mutagénica alguna en 1000 eritrocitos polieremáticos por animal comparado con un grupo control positivo (ciclofosfamida). Solo una disminución en el número de eritrocitos polieremáticos fueron observada en animales examinados a las 48 horas después de la administración. En conclusión, se obtuvo resultados consistentes en los diversos estudios *in vitro* e *in vivo* los cuales estaban dirigidos a detectar mutación génica, aberraciones cromosómicas y cambios en el DNA primario, confirmando así que PIASCLEDINE está desprovisto de potencial mutagénico.~~

DISCUSIÓN — CONCLUSIÓN

~~Los numerosos estudios farmacológicos realizados *in vitro* e *in vivo* han confirmado los efectos benéficos de PIASCLEDINE sobre el cartilago, vía una actividad condroprotectora y condroestimulante. *In vitro*, PIASCLEDINE inhibe la degradación de proteoglicano en condiciones agudas. Se ha observado que bajo condiciones de tratamiento crónico de la osteoartritis condrocito inducida se produce una estimulación de la síntesis y secreción del proteoglicano. Los insaponificables de soja ejercen un efecto predominante durante la sola administración mientras que los insaponificables de aveoado (palta) serían más activos sobre la síntesis durante la administración de una dosis crónica. La combinación de estos dos componentes se justifica por completo por el hecho de presentar mecanismos de acción complementarios. PIASCLEDINE aumenta la síntesis de colágeno sinovial y condrocito articular inducidas en un 20 y 80% respectivamente. Al mismo tiempo, PIASCLEDINE reduce la actividad de la colagenasa (una enzima degradadora del cartilago) en aproximadamente un 50%. Además, PIASCLEDINE contrarresta el poderoso efecto de la interleukina 1 sobre los condrocitos. La interleukina 1 juega un rol importante en la destrucción del cartilago en la articulación [6]. PIASCLEDINE reduce la actividad colagenolítica de esta citokina. De esta forma PIASCLEDINE combate el efecto inhibitor de la interleukina 1, restablece la producción normal de colágeno y promueve la restauración de la estructura del tejido conectivo.~~

~~El efecto anti-osteoartrítico de PIASCLEDINE fue demostrado *in vivo* en conejos en el modelo osteoartrítico inducido por contusión mecánica. Posterior a la administración diaria de 50 mg durante 7 semanas, PIASCLEDINE produjo un 37% de disminución en el puntaje total comparado con los resultados de los animales no tratados. PIASCLEDINE tiene un efecto protector sobre el cartilago en e la osteoartritis experimental post-contusión.~~

~~Finalmente un estudio realizado en humanos mostró que la actividad espontánea de cartilago colagenasa y caseinasa disminuyó después de la administración de 600 mg de PIASCLEDINE por día, durante 3 meses, en pacientes que presentaban osteoartritis de cadera. Los efectos farmacológicos de PIASCLEDINE observados *in vitro* parecen confirmarse por los estudios *in vivo*, siendo evidenciada la eficacia durante los estudios clínicos.~~



~~Los estudios de toxicidad aguda y subaguda realizados en ratones, ratas, conejos y perros revelan que PIASCLEDINE tiene un muy bajo nivel de toxicidad. La LD₅₀ en ratones no fue posible determinarla porque los niveles de dosis 1000 veces mayor que las dosis terapéuticas no provocaron ninguna mortalidad.~~

~~Un estudio de toxicidad crónica en ratas reveló que el producto fue muy bien tolerado hasta en dosis superiores a 200 mg/kg/día (es decir, aproximadamente 40 veces la dosis terapéutica). Los efectos relacionados con la naturaleza lipídica del producto, tal como el aumento del peso del hígado y elevados niveles de transaminasas fueron observados después de la administración de 750 mg/kg/día.~~

~~Los efectos sobre el hígado también se observaron durante un estudio de toxicidad crónica realizado en perros durante 26 semanas. Las lesiones hepáticas (hipertrofia del hepatocito centrolobular, vacuolización y litiasis, etc.), que fueron mas severas con altas dosis (500 mg/kg/día, es decir, aproximadamente 100 veces la dosis terapéutica), fueron principalmente relacionadas a desórdenes del metabolismo lipídico. Los perros son particularmente susceptibles a las variaciones en los niveles de lípidos sanguíneos.~~

~~PIASCLEDINE no mostró efectos embriotóxicos ni teratogénicos en ratas y conejos después de una dosis diaria de 10, 100 y 1000 mg/kg.~~

~~Los tests de mutagenicidad realizados in vitro e in vivo confirmaron que PIASCLEDINE carece de potencial mutagénico.~~

~~Todos estos estudios confirman la excelente tolerancia de PIASCLEDINE.~~

BIBLIOGRAFÍA

1. THIERS M.H.
Les insaponifiables d'huile de soja et d'avocat. Traitement de certaines modalités de la douleur arthrosique. J. Med. Lyon., 1972, 53 (222).195-198.
2. PELLETIER J.P. et al.
Are cytokines involved in osteoarthritic pathophysiology. Seminars in Arthritis and Rheumatism, 1991, 20 (6) : 12-25.
3. PUJOL J.P., LOYAU G.
Interleukine-1 and osteoarthritis. Lite Sciences, 1987,41: 1187-1198.
4. KRAKAUER T., OPPENHEIM J.J., JASIN H.E.
Human interleukin-1 mediates cartilage matrix degradation. Cellular Immunology, 1985, 91 : 92.99.
5. PELLETIER J.P. et al.
Coordinate synthesis of stromelysin, Interleukin-1, and oncogene proteins in experimental osteoarthritis. Am. J. Pathol., 1993,142 (1): 95-105.
6. PELLETIER J.P. et al.
Cytokines and inflammation in cartilage degradation. Osteoarthritis, 1993, 19 (3) : 545-568.
7. HARMAND M.F.
Action de PIAS sur les chondrocytes articulaires humains en culture tridimensionnelle. Etude des protéoglycanes. Août 1988.
8. HARMAND M. F.
Etude "in vitro" de l'action de PIAS et de ses composants sur la synthèse des protéoglycanes par des chondrocytes humains d'origine arthrosique. Août 1994.
9. MAGLOIRE H., HARTMANN D.J.
Insaponifiables d'avocat/soja et collagène. Etude sur cultures de cellules de types odontoblastiques Tonus Dentaire, n° 68,1 er Septembre 1985.
10. MAUVIEL A., DAIRAUX M., HARTMANN D. J., LOYAU G.,PUJOL J.P.
Effets des insaponifiables d'avocaVsoja (PIAS) sur la production de collagène par des cultures de synoviocytes, chondrocytes articulaires et fibroblastes dermiques. Revue du Rhumatisme, 1989,56 (2):207-211.
11. REGINSTERJ.Y., HENROTIN Y.
Effects of Piascledine 300 on metalloprotease and PGE₂ productions by human articular chondrocytes. Centre Universitaire d'Investigation du Métabolisme osseux et du cartilage articulaire.

FOLLETO DE INFORMACION
AL PROFESIONAL

12. MATHIEU P., VIGNON E., RICHARD M., CONTROZIER T.
Etude "in vitro" sur l'effet du produit dans le cartilage fissuré arthrosique. Septembre 1989.
13. MAUVIELA., LOYAU G., PUJOLJ.P.
Effet des insaponifiables d'avocat/soja (Piasclédine) sur l'activité collagénolytique de cultures de synoviocytes rhumatoïdes humains et de chondrocytes articulaires de lapins traités par l'interleukine-1
Revue du Rhumatisme, 1991,58 (4): 241-245.
14. MAZIERES B.
Etude de Piasclédine 300 dans l'arthrose expérimentale post-contusive du lapin. Avri1993.
15. VIGNON E.
Effets de Piasclédine administrée à des coxarthrosiques sur les enzymes de dégradation du cartilage
Août 1991.
16. ANONYME
Exploration des potentialités anti-inflammatoires in vivo de Piasclédine 300 lors de modèles expérimentaux d'inflammation chez le rat. Université Henri Poincaré, Nancy - Septembre 1995.
17. BRUN
Extrait total d'insaponifiable avocat-soja (PIAS). Etude pharmaco-toxicologique. Novembre 1966.
18. LECHAT P.
Expertise toxicologique et pharmacologique du PIAS gélules. Novembre 1966.
19. WOERLE F-11/1
Pharmakon Europa. PIAS - 4 week oral (gavage) dose range-finding in the beagle dog. Etude n° 324/510 - Septembre 1995.
20. Pharmakon Europa
PIAS - 26 week oral (gavage) toxicity study in the rat followed by a 4-week treatment-free period Etude n° 324/513 - Septembre 1995.
21. Pharmakon Europa
PIAS - 26 week oral (capsules) toxicity study in the Beagle dog followed by a 4 week treatment free period Etude n° 324/514 - Septembre 1995.
22. PETRA D.
Centre international de Toxicologie Piasclédine 300 - Evaluation des effets embryotoxiques et/ou tératogènes éventuels chez le rat Etude n°1873 RSR - Avril1986.
23. PETRA D.
Centre International de Toxicologie. Piasclédine - Evaluation des effets embryotoxiques et/ou tératogènes éventuels chez le lapin. Etude n° 1647 RSL - Avril1986.
24. FORICHON A.
Pharmakon Europe. Salmonella typhimurium/mammalian microsome plate incorporation assay (Ames test). Etude n° 8894 - Août 1994.
25. STANKOWSKI L.F.
Pharmakon USA. CHO/HPRT Mammalian cell forward gene mutation assay on P.I.A.S.
Etude n° PH 314-PHA-001-94 - Mars 1995.
26. FORICHON A.
Pharmakon Europe. Induction of chromosome aberrations in cultured human peripheral blood lymphocytes . Etude n° 8994 - Février 1995
27. FORICHON A.VI /301
Pharmakon Europe. Micronucleus test in the mouse. Etude n° 9094 - Août 1994.

FOLLETO DE INFORMACIÓN
AL PROFESIONAL