

# Antagonistas de los receptores AT1 de la angiotensina II como drogas antiinflamatorias y citoprotectores gástricos

Oscar Miguel Laudanno,\* José Alberto Miguel Cesolari

*Acta Gastroenterol Latinoam* 2006;36:76-80

## Resumen

**Objetivo:** estudiar en grupos aleatorios de ratas Wistar el efecto antiinflamatorio y citoprotector gástrico de los antagonistas de los receptores AT 1 de la angiotensina II como candesartan, losartan y valsartan. **Material y métodos:** los animales fueron asignados en forma aleatoria a recibir: 1) etanol al 96% intragástrico 2) indometacina oral, 3) una comida sólida (pellets) durante dos horas e indometacina subcutánea (producción de úlceras del antro gástrico), 4) el edema plantar por carragenina. **Resultados:** los tres antagonistas de los receptores AT 1 de la angiotensina II dieron citoprotección gástrica ante el etanol 96%, con protección casi total de la mucosa gastrointestinal ante la indometacina oral, impidieron la producción de úlceras del antro gástrico inducidas por indometacina subcutánea, dando marcada respuesta antiinflamatoria ante el infiltrado de neutrófilos en la mucosa gastrointestinal (MPO), y tuvieron efecto antiinflamatorio en el modelo del edema plantar por carragenina. **Conclusiones:** los antagonistas de los receptores AT 1 de la angiotensina II tienen un efecto citoprotector gástrico y antiinflamatorio.

## Summary

**Angiotensin II AT1 receptor antagonists as anti-inflammatory and gastric cytoprotections drugs**

**Background:** The anti-inflammatory and gastric cyto-

protector effect of angiotensin II AT1 receptor antagonist, such as candesartan, losartan and valsartan was studied. **Material and methods:** Wistar rats were randomly assigned to receive: 1) 96% ethanol; 2) oral indometacin, 3) solid food (pellets) during two hours and subcutaneous indometacin (production of ulcers in the gastric antrum), 4) Carrageen footpad edema. **Results:** The three AT1 receptor angiotensin antagonists yielded gastric cytoprotection against 96% ethanol, almost total gastrointestinal protection against oral indometacin, prevented gastric ulcers formation in the antrum induced by subcutaneous indometacin, remarkable anti-inflammatory response against neutrophil infiltration on the gastrointestinal mucosa, and anti-inflammatory effect in carrageen footpad edema. **Conclusions:** The AT1 receptor antagonists of angiotensin II are gastric cytoprotectors with a remarkable anti-inflammatory effect.

**Index (palabras claves):** Angiotensin II - candesartan - losartan - valsartan.

En un trabajo anterior<sup>1</sup> comprobamos que los antagonistas de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), captopril, enalapril, lisinopril, ramipril y cilazapril, son agresores de la mucosa gástrica cuando es expuesta al etanol. Asimismo comprobamos que telmisartan,<sup>2</sup> antagonista de los receptores AT 1 de la angiotensina II (A II), también es agresor de la mucosa gástrica ante el etanol y el estrés. Dichos hallazgos fueron confirmados con telmisartan en el *shock* hemorrágico.<sup>3</sup>

Interpretamos nuestros resultados como conflictivos, ya que los antagonistas de la ECA al aumentar el flujo sanguíneo gástrico podrían ser gastroprotectores.

Recientemente se comprobó que candesartan, un antagonista de los receptores AT 1 de la A II, dio un

\* Miembro Extraordinario de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica

**Institución:** Gastroenterología Experimental. Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Rosario

**Correspondencia:** Oscar Miguel Laudanno  
Cochabamba 2090, 2000 -Rosario (Santa Fe)  
Teléfono: 0341-4820740  
E-mail: olaudanno@hotmail.com

70 a 80% de prevención de úlceras agudas gástricas en ratas hipertensas y en estrés.<sup>4</sup> Este hallazgo fue atribuido a un aumento del flujo sanguíneo gástrico a una disminución del factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), del ICAM 1 del infiltrado neutrófilo, manteniendo el rol protector de los glucocorticoides y de la prostaglandina E2 (PGE2).

Posteriormente se comprobó que losartan, otro antagonista de los receptores AT 1 de la AII, actúa como protector en colitis experimental y que actuaría además inhibiendo la interleucina-beta (IL- $\beta$ ) y el interferon gamma (IFN- $\gamma$ ).<sup>5</sup>

El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar candesartan, losartan y valsartan, antagonistas de los receptores AT 1 de la AII, como citoprotectores gástricos ante la agresión del etanol y como antiinflamatorios frente a las lesiones gastrointestinales inducidas por indometacina, verificando el efecto antiinflamatorio medido a través del edema de la pata de la rata inducido por carragenina.

## Pacientes y métodos

En grupos aleatorios de ratas hembras Wistar (n=7 en cada grupo) de 200 g, en ayunas de 24 horas, excepto agua *ad-libitum* y evitando la coprofa-gia, se llevaron a cabo los siguientes experimentos:

### Experimento I:

1- 1ml de solución fisiológica por sondaje orogástrico (OG) en bolo y espera de 60 minutos.

2- 1ml de etanol al 96% (ETOH), OG y espera de 60 minutos.

3- Pretratamiento: candesartan (CA), 1-10 mg/Kg en forma subcutánea (SC) y eapera de 60 minutos, luego y ETOH.

4- Pretratamiento: losartan (LO), 25-50 mg/kg, SC, y espera de 60 minutos y luego ETOH.

5- Pretratamiento: valsartan (VA), 25-50 mg/Kg, SC, espera 60 minutos y luego ETOH.

### Experimento II:

1- 1ml de solución fisiológica OG y espera de 24 horas.

2- Indometacina (INDO), 50 mg/Kg, OG, y espera de 24 horas.

3- CA, 1-10 mg/Kg, SC, espera de 60 minutos y luego INDO, OG.

4- LO, 25-50 mg/Kg, SC, y espera de 60 minutos y luego INDO, OG.

5- VA, 25-50 mg/Kg, SC, y espera de 60 minutos y luego INDO, OG.

### Experimento III:

1- Comida sólida, *pellets* (CS), durante 2 horas, luego INDO, SC y espera de 24 horas (SATOH)<sup>6</sup>

2- CS, luego CA 1-10 mg/Kg, SC e INDO, SC.

3- CS, luego LO 25-50 mg/Kg SC e INDO, SC.

4- CS, luego VA, 25-50 mg/Kg SC e INDO, SC

### Experimento IV:

1- 0.1 ml de solución fisiológica en la planta de la pata derecha de la rata.

2- 0.1 ml de carragenina al 1%. A las 3 hs se midió el edema plantar por pletismografía.

3- CA 1-10 mg/Kg, SC, 60 minutos, luego carragenina.

4- LO 25-50 mg/Kg SC, 60 minutos, luego carragenina.

5- VA, 25-50 mg/Kg SC, 60 minutos, luego carragenina.

Finalizados los experimentos, todas las ratas fueron sacrificadas con sobredosis de éter, se realizó laparotomía, gastrectomía total y apertura del estómago por la curvatura mayor y resección de todo el intestino delgado por el borde antimesentérico. Se obtuvieron fotografías macroscópicas de todas las piezas. Se tabuló el porcentaje (%) de área lesional macroscópica de la mucosa gástrica, por planimetría computarizada, se cuantificaron el total de las erosiones del intestino delgado (en mm<sup>2</sup>) y se realizaron cortes histológicos de mucosa gástrica e íleon terminal, que fueron fijadas en formol al 10% y teñidos con hematoxilina - eosina. Se utilizó también para mieloperoxidasa (MPO) el método inmunohistoquímico<sup>7</sup> con un anticuerpo monoclonal de granulocitos anti-rata (H1548, dilución 1:100; Pharmigen, San Diego, California).

**Evaluación estadística y consideraciones éticas:** Se usó la t de *Student* y en el cálculo de la varianza, el método de Kruskal- Wallis. Se consideró p significativa < 0.05.

Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Médicas (Resolución N° 1624/96).

## Resultados

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos por el pretratamiento con los tres antagonistas de los receptores AT1 de la AII ante la agresión del etanol 96%, donde se halló una verdadera citoprotección gástrica, tanto macroscópica como microscópica, y se observó que CA y VA no provocaron necrosis glandular ante el etanol.

**Tabla 1.** Porcentaje de área necrótica gástrica ante el etanol 96% y la protección inducida por los antagonistas de los receptores AT1 de la AII.

	Area Necrótica Gástrica %	P
Etanol 96%	35.5 ± 5.5	
Candesatan SC Etanol 96%	1.0 ± 0.1	< 0.001
Losartan SC Etanol 96%	12.1 ± 2.3	< 0.02
Valsartan SC Etanol 96 %	1.0 ± 0.1	< 0.001

En la tabla 2 se muestran los hallazgos de INDO oral con su porcentaje de área lesional macroscópica gástrica y erosiva intestinal, donde los antagonistas de los receptores AT1 de la AII dieron marcada protección gastrointestinal ( $p < 0.01$ ) y la MPO mostró una disminución marcada del infiltrado de neutrófilos ( $p < 0.001$ ).

En la tabla 3 se observan los resultados de la INDO subcutánea dos horas después de la ingestión de *pellets* como comida sólida en la inducción de úlceras antrales gástricas y la acción de los antagonistas de los receptores AT1 de la AII impidiendo la formación de dichas úlceras ( $p < 0.001$ ).

En la tabla 4 se pone de manifiesto que los antagonistas de los receptores AT1 de la AII se comportaron como antiinflamatorios ante el modelo del edema plantar de la rata por carragenina ( $p < 0.001$ ).

**Tabla 2.** Los antagonistas de los receptores AT1 de la AII dieron marcada protección gastrointestinal ante la agresión de la Indometacina OG y marcada disminución de los neutrófilos.

	Área Lesional Gástrica		MPO		Erosiones en Intestino Delgado		MPO	
	%	P	mg/proteína	P	mm2	P	mg/proteína	P
Indometacina OG	65±7		580±51		230±41		455±38	
Indometacina OG Candesartan	5±1	<0.001	35±4	<0.001	21±4	<0.001	32±7	<0.001
Indometacina OG Losartan	7±2	<0.001	51±7	<0.001	25±7	<0.001	39±10	<0.001
Indometacina OG Valsartan	11±3	<0.01	65±9	<0.01	69±12	<0.01	51±12	<0.01

**Tabla 3.** Los antagonistas de los receptores AT1 de la AII impidieron la formación de las úlceras antrales por indometacina SC.

	% área úlceroa antro gástrico	P
Indometacina SC	35 ± 3	
Indometacina SC Candesartan	1.0 ± 0.1	< 0.001
Indometacina SC Losartan	1.0 ± 0.1	< 0.001
Indometacina SC Valsartan	1.0 ± 0.1	< 0.001

**Tabla 4.** Los antagonistas de los receptores AT1 de la AII mostraron marcado efecto antiinflamatorio en el modelo del edema plantar de rata por carragenina

	% edema plantar (3 hs.)	P
Sol. Fisiológica	1.0 ± 0.1	
Carragenina	130 ± 15	
Candesartan Carragenina	15 ± 5	< 0.001
Losartan Carragenina	50 ± 15	< 0.01
Valsartan Carragenina	60 ± 12	< 0.01

## Discusión

A través de nuestras observaciones hemos comprobado que los tres antagonistas de los receptores AT1 de la AII estudiados mostraron ser verdaderos citoprotectores gástricos ante la agresión del etanol 96%. Este hallazgo no sería conflictivo ya que provocan un incremento del flujo sanguíneo gástrico de un 50% y tienen marcado efecto antiinflamatorio. En cambio, los antagonistas de la ECA amplificaron las lesiones del etanol al 20% y 96%, al igual que la infusión de angiotensina I,<sup>1</sup> donde la ECA podría interactuar con otros receptores como los  $\alpha$  2 adrenérgicos y otros péptidos vasoactivos.<sup>8-9</sup> De todos modos, está comprobado que el bloqueo de la ECA provoca un incremento de la resistencia vascular de la mucosa gástrica.<sup>10</sup>

En contraste, los antagonistas de los receptores AT1 de la AII bloquean la respuesta inicial masiva de noradrenalina y por ende la vasoconstricción,<sup>11</sup> activan prostanoides<sup>12</sup> y mantienen el efecto protector de los glucocorticoides,<sup>13</sup> mecanismos que justificarían la citoprotección gástrica

Por otro lado, el mecanismo que comprobamos con los antagonistas AT1 de la AII fue el antiinflamatorio.

La indometacina, inhibidora no selectiva de ambas ciclooxigenasas 1 y 2, dada en forma oral provoca, groseras lesiones necróticas gástricas y múltiples erosiones en intestino delgado, con marcada neutrofilia en sangre y en toda la mucosa gastrointestinal.<sup>14</sup>

En nuestro estudio comprobamos que los antagonistas evaluados dieron marcada protección de la mucosa gastrointestinal, con disminución del infiltrado de neutrófilos. Asimismo, impidieron la formación de las típicas úlceras antrales gástrica en el modelo de comida sólida e indometacina subcutánea, indicando que la AII jugaría un rol importante en su fisiopatología.

Está comprobado que la AII, además de su importante efecto vasoconstrictor, provoca estimulación de los neutrófilos, con incremento de TNF  $\alpha$ , ICAM-1 y P-selectina.<sup>15</sup> En nuestro trabajo, usando el modelo del edema de la pata de rata por carragenina, mostramos que los antagonistas AT1 de la AII son verdaderos antiinflamatorios.

Estos hallazgos indican que el efecto antiinflamatorio de los antagonistas evaluados podría ser relevante en la protección de la mucosa gástrica ante la agresión de etanol, AINEs, estrés y otras noxas, incluido el *Helicobacter pylori*.<sup>16</sup>

Recientemente se han conocido nuevos avances

en el conocimiento de los receptores AT1 de la AII, como los cerebrales y la prevención de accidentes cerebrovasculares,<sup>17</sup> así como en la mayoría de los efectos de la ATII, tales como vasoconstricción, reabsorción de sodio, proliferación celular, formación de matriz extracelular, respuesta inflamatoria, estrés oxidativo, y su clonación. También estamos conociendo los efectos de los receptores AT2 de la AII, ya que contrabalancea los efectos de los receptores AT1, inactiva las MAPK, tiene un efecto antiproliferativo, promueve la apoptosis, cierra los canales T de calcio, estimula la regeneración nerviosa, y abre y rectifica los canales de potasio.<sup>18</sup>

Para concluir, afirmamos que futuras investigaciones clínicas con los antagonistas de los receptores AT1 o AT2 de la AII en humanos, como el proceso de envejecimiento,<sup>19</sup> la respuesta al estrés,<sup>20</sup> la hipertensión arterial con insuficiencia cardíaca y los accidentes cerebrovasculares, nos mostrarán nuevos caminos en la terapéutica clínica.

*Agradecimiento: Los autores agradecen la valiosa colaboración de la Dra Marta Bravo Luna.*

*Candesartan, fueo btenido de Astra-Zeneca; Losartan de Merck Sharp y Dohme; Valsartan de Novartis e Indometacina de Sigma Chemical Co, (St. Louis, Missouri).*

## Referencias

1. Laudanno OM, Cesolari JAM, Bedini OA, San Miguel P. Rol de la ECA en la citoprotección gástrica. Mecanismo dopaminérgico y  $\alpha$  adrenérgico periférico. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1992;22:99-105.
2. Sambrano J S, Laudanno OM, Cesolari JAM. Telmisartan y lesiones agudas en ratas (abstrad). *Actas Soc de Biología de Rosario* 2001;64.
3. Heinemann A, Sattler V, Jovic M, et al. Effect of angiotensin II and telmisartan, an angiotensin 1 receptor antagonist, on rat gastric mucosal blood flow. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:347-355.
4. Bregonzio C, Armando I, Heromichi A, et al. Anti-inflammatory effects of angiotensin II AT1 receptor antagonism prevent stress-induced gastric injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;285:G414-G423.
5. Inokuchi Y, Morohashi T, Kawana L, et al. Amelioration of 2,4,6-trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis in angiotensinogen gene knockout mice. *Gut* 2005;54:349-356.
6. Satoh H, Inada I, Hirata T, Maki Y. Indomethacin produces gastric antral ulcers in the re-fed rat. *Gastroenterology* 1981;81:719-725.
7. Kravigg JE, Sharon P, Stenon WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology* 1984;87:1344-1350.

8. Soffer RL. Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides. *Ann Rev Biochem* 1976;45:73-94.
9. Kobayashi R, Sun XY, Walsh JH. Angiotensin-converting enzyme in the rabbit stomach wall. Identification in the membrane fraction by affinity purification. *Gastroenterology* 1991;100:25-32.
10. Mc Donald PH, Wallace JL. Blockade of the angiotensin system does not prevent hypotension induced gastric vasoconstriction. *Gastroenterology* 1991;96:972-980.
11. Armando I, Carranza A, Nishimura Y, et al. Peripheral administration of an angiotensin II AT1 receptor antagonist decreases the hypothalamic-pituitary-adrenal response to isolation stress. *Endocrinology* 2001;142:3880-3889.
12. Schuijt MP, Vries RD, Saxema PR, Dansen AHJ. Prostanoids, but not nitric oxide, counterregulate angiotensin II mediated vasoconstriction. *Eur J Pharmacol* 2001;428:331-336.
13. Filaretova LP, Filaretov AA, Makara GB. Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1998;274:G1024-G1030.
14. Laudanno OM, Cesolari JAM, Esnarriaga J, et al. In vivo selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs and gastrointestinal ulcers in rats. *Dig Dis Sci* 2000;45:1359-1365.
15. Piqueras L, Kubes P, Álvarez A, et al. Angiotensin II induces leukocyte-endothelial cell interaction in vivo via AT1 and AT2 receptor-mediated P-selection upregulation. *Circulation* 2000;102:2118-2123.
16. Takaishi O, Arakawa T, Fujiwara Y, et al. Inhibition by 16-16-dimethyl prostaglandin E2 of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-1  $\beta$  production and messenger RNA expression in human monocytes stimulated by *Helicobacter pylori*. *Dig Dis Sci* 1999;44:2405-2411.
17. Ito T, Yamakawa H, Bregonzio C, et al. Protection against ischemia and improvement of cerebral blood flow in genetically hypertensive rats by chronic pretreatment with an angiotensin II AT1 antagonist. *Stroke* 2002;33:2297-2303.
18. Nahmod VE. Impacto del sistema angiotensinérgico sobre la fisiología celular. *Medicina* 2003;200:63:492-493.
19. Basso N. La inhibición de la angiotensina II en el proceso de envejecimiento de la rata normal. *Medicina* 2003;200:63:494.
20. Saavedra JM, Armando I, Baiardi G, Bregonzio C. Brain angiotensin II regulates the responses to stress: an opportunity for novel therapies. *Medicina* 2003;200:63:497.