

La adrenomedulina: un péptido multifuncional

EMILIA DÍAZ¹ Y ANITA ISRAEL²

Resumen

La adrenomedulina (AM) es un péptido de 52 aminoácidos que cuando es administrado sistémicamente produce vasodilatación potente y sostenida. La AM modula una variedad de sistemas fisiológicos y actuando tanto a nivel periférico como central, regula el volumen sanguíneo, la secreción de hormonas, la homeostasis de fluidos y electrolitos y el sistema nervioso autónomo. Se ha postulado que los efectos metabólicos de la AM sobre los fluidos y electrolitos pudiera estar mediado centralmente. En efecto, se ha encontrado AM en áreas del sistema nervioso central, con las concentraciones más elevadas en la glándula pituitaria, el tálamo y en las neuronas de los núcleos hipotalámicos paraventricular y supraóptico. La AM, actuando en el cerebro es capaz de alterar el volumen urinario y la excreción de sodio, efectos que serían complementarios a su acción central sobre la homeostasis de fluidos y electrolitos. En estas acciones habría participación de los receptores cerebrales de AM: receptor tipo 1 del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP1) y el putativo de la AM, en la acción renal de dicho péptido.

Nuestros hallazgos muestran que la AM-ICV en ratas conscientes hidratadas o con sobrecarga de sodio, produjo un incremento significativo en el volumen urinario y un incremento, dependiente de la dosis, en la excreción urinaria de sodio y potasio en todos los períodos de recolección de orina. El hecho de que el pretratamiento con AM₂₂₋₅₂ o CGRP₈₋₃₇ suprime significativamente el efecto diurético y natriurético de la AM-ICV sugiere que ambos subtipos de receptores, AM-R y CGRP1, están envueltos en la acción diurética y natriurética de la AM administrada centralmente.

En conclusión, nuestros hallazgos reafirman la hipótesis de que la AM es un relevante regulador fisiológico en la homeostasis de fluidos y electrolitos. La AM actúa dentro del sistema nervioso central para producir diuresis y natriuresis, a través de dos subtipos de receptores: CGRP1 y AM-R.

Palabras clave: Adrenomedulina, diuresis, natriuresis.

Abstract

Adrenomedullin (AM) is a 52-(human) amino acid peptide that exerts potent vasodilator and hypotensive actions when administered systemically. AM influences a variety of physiologic systems, acting both peripherally and centrally, regulating blood volume, hormone secretion, salt and fluid homeostasis and the autonomic nervous system. Certain fluid and metabolic effects of AM could be centrally mediated. In fact, AM is found throughout the central nervous system, with the highest concentrations being found in the pituitary gland, thalamus, hypothalamus, brainstem and the neurons of the paraventricular and supraoptic hypothalamic nuclei. AM act in the brain to alter urinary volume and sodium excretion, effects that would be a complement of its central control of fluid and electrolyte homeostasis. Its actions are mediated through AM receptors in the central nervous system: calcitonin gene related peptide receptor type 1 (CGRP₁) and AM putative receptor (AM-R).

Our results suggest that AM-ICV AM induced a significant and dose-dependent increase in urine volume, urinary sodium excretion and kaliuresis in conscious hydrated or salt loaded rats. Pretreatment with AM₍₂₂₋₅₂₎ or CGRP₍₈₋₃₇₎ significantly suppressed the diuretic and natriuretic effect of the AM, suggesting that both CGRP₁ and AM receptors are involved in the centrally mediated diuretic and natriuretic action of the AM.

In conclusion, our results strongly suggest that AM may play a significant role in the central regulation of fluid and electrolyte homeostasis. AM act in the brain to induce diuresis and natriuresis via stimulation of both receptors: CGRP₁ and AM-R.

Key words: Adrenomedullin, diuresis, natriuresis.

¹ Instituto de Medicina Experimental, Escuela de Medicina Luís Razetti, Cátedra de Fisiología.

² Unidad de Neuropeptidos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
E-mail: astern88@hotmail.com

Introducción

La constancia del medio ambiente interno del cuerpo es el resultado de un sistema de mecanismos de control que limitan la variabilidad. La tendencia hacia la estabilidad en el cuerpo es llamada homeostasis, un concepto introducido por el fisiólogo Walter Canon en 1932. La clave de los mecanismos neuronales está localizada en el hipotálamo, el cual actúa sobre tres grandes sistemas: el sistema endocrino, el sistema nervioso autónomo y un sistema neuronal mal definido relacionado con la motivación (Kupfermann, 1991).

El mantenimiento de la homeostasis de fluidos y electrolitos es una condición esencial para la vida. Por otro lado, los modelos de comportamiento y su interacción con los sistemas hormonales son importantes factores para el mantenimiento del balance hidromineral en el cual el riñón, el tracto gastrointestinal, el corazón y el cerebro son órganos clave (Gutkowska y col., 1997).

Uno de los mayores avances de la fisiología en la década pasada ha sido la búsqueda de la importancia de la vasculatura como tejido endocrino y el desarrollo de la comprensión de la importancia de las acciones locales, paracrinas o autocrinas, independientemente de sus efectos como hormonas circulantes. En gran parte, la expansión de esta idea en los mecanismos de integración fisiológica ha sido manejada por el descubrimiento, en los inicios de los años ochenta, de varias familias de hormonas vasoactivas. Actualmente lo aprendido en la investigación de los efectos fisiológicos y farmacológicos de los péptidos natriuréticos y las endotelinas está siendo extendido a otra familia de péptidos vasoactivos descrita: los péptidos derivados de la preadrenomedulina. En trece años, desde su descubrimiento, estos péptidos han demostrado que ejercen poderosos efectos farmacológicos sobre la homeostasis de fluidos y electrolitos y la función cardiovascular, algunos de ellos con aparente relevancia fisiológica (Samson, 1999).

La presión arterial en los mamíferos es regulada por mecanismos sutiles que involucran diversos factores neurales y hormonales. Los péptidos vasoactivos, tales como, el péptido natriurético auricular, la endotelina y la angiotensina II, son importantes reguladores del sistema cardiovascular y de la homeostasis de los fluidos y electrolitos (Kitamura y col., 2002). El descubrimiento de nuevos péptidos es importante para clarificar los mecanismos complejos que regulan la presión arterial. En este contexto, se investigaron los péptidos que podían ser relevantes para el control cardiovascular en un

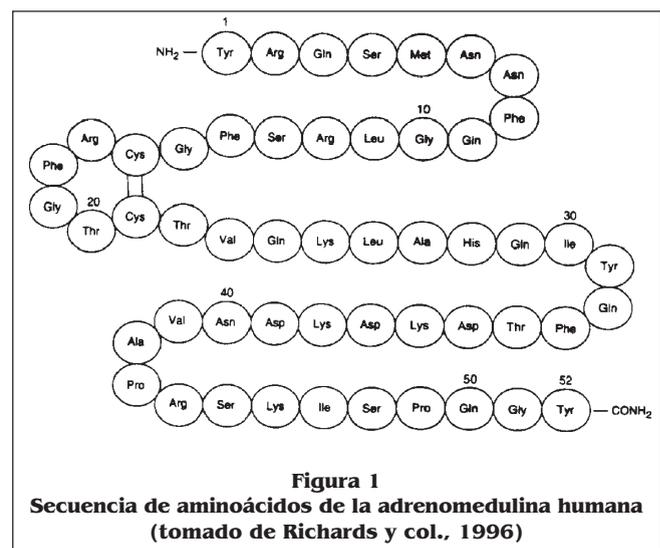
sistema que monitorea el incremento de los niveles de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) en las plaquetas de la rata (Kitamura y col., 1993a).

De esta manera, Kitamura y col. (1993a) aislaron y secuenciaron todos los picos bioactivos del extracto de feocromocitoma, descubriendo así un nuevo péptido hipotensor; lo llamaron *adrenomedulina* porque es abundante en la médula suprarrenal normal, así como el feocromocitoma (Kitamura y col., 1993a). Desde su descubrimiento, la AM ha suscitado gran interés en la investigación cardiovascular debido a su poderosa y sostenida actividad vasodilatadora (Kitamura y col., 2002).

En trece años desde su descubrimiento, el interés por la AM ha sido exponencial, reflejándose en una lista de 1.820 publicaciones en PubMed hasta septiembre del 2006. El objetivo de este artículo es resumir el presente estado del conocimiento en la biología de la AM y su papel en la regulación fisiológica.

Estructura y características de la adrenomedulina

La adrenomedulina (AM) humana es un péptido de 52 aminoácidos con un puente disulfuro intramolecular y el extremo C-terminal amidado (Figura 1). Estas estructuras son esenciales para su actividad biológica y la unión a su receptor (Kitamura y col., 1993a).



La AM pertenece a la superfamilia del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), sobre la base de una escasa homología en la secuencia y similares actividades farmacológicas (Kitamura y col., 1995).

La AM es sintetizada a partir de una gran molécula precursora, la preproadrenomedulina. Tanto en la rata como en el humano, este precursor tiene 185 aminoácidos (ppAM). Se cree que el primer procesamiento de la preproAM ocurre entre la Thr21 y Ala22 para generar la proadrenomedulina (proAM) de 164 residuos. En el precursor de la proteína madura se encuentran tres pares de aminoácidos básicos típicos, los cuales representan los sitios para el procesamiento de señales proteolíticas. Las últimas dos (Lys93-Arg94 y Arg148-Arg149) flanquean el péptido AM y representan el sitio del proceso proteolítico para liberar AM. Adicionalmente, un residuo de 20 aminoácidos, llamado *péptido 20 N-terminal de la proadrenomedulina* (proAM-N20 ó PAMP), es procesado desde la región amino terminal de la pro-AM (Kitamura y col., 1993b).

El gen de la AM está situado en un *locus* único en el cromosoma 11, contiene 4 exones y 3 intrones. La secuencia correspondiente a la AM madura está incluida en el cuarto exon (Ishimitsu y col., 1994).

Receptores para la adrenomedulina

Históricamente ha sido difícil definir los receptores de la AM, debido a la falta de antagonistas altamente selectivos (Kennedy y col., 1998) y acciones compartidas con el CGRP, a través de la activación del receptor tipo 1 de este péptido (Owji y col., 1995; Zimmerman y col., 1995).

Los receptores del CGRP y la AM se encuentran ampliamente distribuidos en tejidos periféricos y en el sistema nervioso central, permitiéndoles ejercer una amplia variedad de efectos biológicos. Para evaluar las características farmacológicas de la AM y el CGRP algunos laboratorios han usado el CGRP₈₋₃₇, bloqueante de los receptores CGRP₁ y el antagonista del receptor de la AM, AM₂₂₋₅₂. (Eguchi y col., 1994; Kuwasako y col., 2004).

Sin embargo existen sitios de unión específicos para la AM en las células de músculo liso vascular de la rata (Eguchi y col., 1994), en las células endoteliales vasculares humanas y de la aorta de bovino (Kato y col., 1995; Shimekake y col., 1995); en astrocitos de ratón (Zimmerman y col., 1996), en células NG 108-15 y en las células Swiss 3T3 (Withers y col., 1996).

La evidencia más directa del receptor específico de AM se encuentra en el clonaje de un receptor putativo de adrenomedulina de rata (rAMR), el cual se expresa en el pulmón, la glándula suprarrenal, los ovarios, el corazón, el bazo, el cerebelo y la corteza cerebral. Así mismo, se estudió la expresión

de este receptor en embriones de ratón y rata, encontrándose en un gran número de células embriónicas y extraembriónicas. Se encontraron los niveles más altos de receptores de AM en la placenta primitiva y su densidad en el útero de las ratas preñadas fue diez veces mayor que en las no preñadas (Montuenga y col., 1997).

En 1998, un grupo de investigadores propone que el receptor semejante al receptor de calcitonina (CLR) pudiera funcionar como un receptor de CGRP o como un receptor de AM; dependiendo de la expresión de las proteínas modificadoras de la actividad del receptor (RAMPs) (miembros de una nueva familia de proteínas de un solo dominio transmembranaral). Las proteínas RAMPs controlan el transporte y estado de glicosilación del CLR, el cual se correlaciona con el fenotipo del receptor (McLatchie y col., 1998; Foord y Marshall, 1999).

Las RAMPs y CLR están estrechamente asociadas y son expresadas juntas en la superficie celular. El CLR tiene varias alternativas farmacológicas que son conferidas por las RAMPs, RAMP1 produce un receptor de CGRP₁. Cuando son cotransfectadas células de mamífero con RAMP2 o RAMP3 se generan receptores de AM (McLatchie y col., 1998).

Por lo tanto, la co-expresión de CLR y RAMP2 o RAMP3 puede producir receptores funcionales de AM (Tabla I), pero sólo CLR/RAMP2 conforma un receptor específico de AM que es particularmente sensible a AM₂₂₋₅₂; este heterodímero define el subtipo de receptor de AM₁. Por otra parte, CLR/RAMP3 define el receptor AM₂, el cual tiene reacción cruzada con CGRP y es más sensible a CGRP₈₋₃₇, respondiendo a menores concentraciones que el receptor AM₁. En particular, las respuestas evocadas por la AM en el receptor AM₂ de la rata y el ratón son más efectivamente bloqueadas por el CGRP₈₋₃₇ que por el AM₂₂₋₅₂, aunque esto no fue observado con los receptores AM₂ humanos y porcinos. La sobre-expresión del receptor CGRP₁ (CLR/RAMP1) puede responder a elevadas concentraciones de AM, y las respuestas son bloqueadas por CGRP₈₋₃₇ pero no por AM₂₂₋₅₂ (Tabla I), aunque no hay evidencia *in vivo* de que el receptor CGRP₁ puede actuar como receptor de AM sensible a CGRP₈₋₃₇. Por lo tanto, en tejidos donde solamente los receptores CGRP₁ y AM₁ estén presentes, el uso combinado de ambos antagonistas será útil para definir el subtipo de receptor. Pero en el caso donde el receptor AM₂ esté también presente, la selectividad de los antagonistas estará debilitada (Kuwasako y col., 2004).

Dos miembros de la «familia A» de los receptores acoplados a proteínas G, RDC1 y LI/G10D, han

sido considerados como receptores de CGRP y AM respectivamente (Kapas y col., 1995; Poyner y col., 2002). Esto resulta inesperado ya que aunque RDC1 y G10D son homólogos, son muy diferentes a los receptores de calcitonina y CLR. En efecto, se han realizado diversos estudios para caracterizar las respuestas inducidas por el CGRP y la AM en RDC1 y L1/G10D sin éxito. Estos receptores son conocidos como huérfanos una vez más (Poyner y col., 2002).

rata (Serrano y col., 2000). En el cerebro de la rata, el ARNm de la preproAM se encuentra ampliamente distribuido, con los niveles más elevados en centros autonómicos que incluyen el núcleo paraventricular (NPV), el núcleo supraóptico (NSO), el locus coeruleus, el tallo ventrolateral del bulbo raquídeo y la columna intermediolateral de la médula espinal (Shan y Krukoff., 2001). Así mismo, el ARNm de la AM es altamente expresado en la pituitaria y el

Tabla 1
Características farmacológicas de los heterodímeros recombinantes CLR/RAMP

Subtipo de Receptor	Agonista específico	Potencia de los antagonistas	
	AM CGRP α	hAM (22-52) o rAM (20-50)	CGRP (8-37)
CLR/RAMP1 (CGRP1)	<		<<
CLR/RAMP2 (AM1)	>>		>>
CLR/RAMP3 (AM2)			
Humano, vaca, porcino	>>		>
Rata y ratón	>		<<

Tomado de Kuwasako y col., 2004

Acciones en el Sistema Nervioso Central (SNC)

Todos los componentes de este sistema peptidérgico se encuentran presentes en el SNC. El gen de la AM se expresa y se transcribe en el sistema nervioso central (SNC) del humano y de la rata (Ichiki y col., 1994; Sakata y col., 1993; Sakata y col., 1994; Takahashi y col., 1997c).

La concentración de la AM en el cerebro de la rata es de aproximadamente 0.10 fmol/mg de tejido, medido por radioinmunoensayo (Sakata y col., 1994). El ARNm de la AM se encontró en varias regiones del cerebro y en la pituitaria del humano y el péptido maduro está en concentraciones elevadas en el tálamo, hipotálamo y la protuberancia (Satoh y col., 1995).

Se ha detectado inmunorreactividad para la AM (AM-IR) en el líquido cefalorraquídeo humano (Takahashi y col., 1997a), en los plexos coroideos humanos y en el cultivo de células de carcinoma de plexo coroideo, sugiriendo que éste es un sitio de producción y secreción del péptido (Takahashi y col., 1997b; Washimine y col., 1995).

Existe una amplia distribución del gen que coincide con la localización de la AM en el SNC de la

hipotálamo y es detectable en la corteza cerebral, el cerebelo, el tallo cerebral y el hipocampo (Hwang y Tang, 1999).

Se ha demostrado la presencia de AM-IR en diferentes áreas del hipotálamo de la rata, incluyendo el NSO y NPV. Los resultados de este estudio sugieren que los axones de las neuronas inmunoreactivas a la AM en el hipotálamo pueden terminar en la pituitaria posterior vía tracto hipotálamo-neurohipófisis y en la eminencia media (Ueta y col., 1999). La oxitocina, la vasopresina y la AM coexisten en las mismas neuronas del hipotálamo, indicando la posibilidad de una acción central importante de la AM en el balance de fluidos corporales (Ueta y col., 1995).

Otros estudios parecen indicar que la AM también pudiera ser producida en regiones del cerebro extrahipotalámicas ya que se ha observado la presencia de ARNm de AM en cada región del cerebro humano examinada (corteza frontal, corteza temporal, corteza occipital, protuberancia, tálamo, hipotálamo, cerebelo) y en la pituitaria anterior. Los hallazgos son compatibles con los reportes anteriores de AM-IR en el cerebro humano y soportan la idea de que la AM actúa como un neurotransmisor, un neuromodulador o una neurohormona en el cerebro (Takahashi y col., 1997c).

Se encontró AM-IR en neuronas multipolares y células piramidales de las capas IV-VI de la corteza piramidal, así como en un gran número de núcleos telencéfalicos, diencefálicos, mesencefálicos pontinos y del bulbo raquídeo. De igual manera, fueron marcadas las células cerebelosas de Purkinje y las fibras musgosas terminales, así como en neuronas de núcleos cerebelosos, neuronas del área 9 del asta anterior de la médula espinal. En algunas células endoteliales vasculares también se detectó AM-IR (Serrano y col., 2002).

Distribución de los receptores en el SNC

Se han encontrado sitios de unión específicos para la AM en cada región del cerebro humano (corteza, cerebelo, tálamo, hipotálamo, puente y bulbo raquídeo) (Sone y col., 1997). En el cerebro de la rata, mediante técnicas autorradiográficas se observó una distribución discreta de los receptores de la AM, con la región más rica en el plexo coroideo, en la superficie del tercer y cuarto ventrículo y en los ventrículos laterales, el núcleo amigdaloides basolateral, lóbulo neural de la glándula pituitaria, el nervio trigémino y la capa de células granulares del cerebelo (Juaneda y col., 2001).

Utilizando técnicas de hibridación *in situ*, se encontró una distribución heterogénea de los ARNm del CGRP1 y del CRLR en el cerebro de la rata. El ARNm del CGRP1 se encuentra localizado discretamente, con la mayor expresión en las células granulares del giro dentado, las neuronas piramidales de la región hipocámpal CA3, el plexo coroideo de los cuatro ventrículos cerebrales y en los vasos sanguíneos cerebrales. Además, se expresa en niveles más bajos en la corteza cerebral y en el núcleo olfatorio anterior. La distribución del ARNm del CRLR se encuentra confinada a nivel de la región del caudado-putamen y el núcleo amigdaloides central y basolateral. El ARNm del receptor específico de la AM se expresa débilmente en el cerebro de la rata, encontrándose las cantidades más altas en las células de la piamadre (Oliver y col., 1998).

El estudio de la distribución del ARNm de las RAMPs en el cerebro de la rata y el ratón, utilizando la técnica de hibridación *in situ*, demostró una localización heterogénea de los ARNMs de las RAMPs. En la rata, el ARNm de la RAMP1 se expresa predominantemente en la corteza, caudado-putamen y tubérculos olfatorios; el ARNm de RAMP2 fue más abundante en el hipotálamo y el de RAMP3 se restringió exclusivamente en núcleos talámicos (Oliver y col., 2001). En el cerebro del ratón, los ARNMs de RAMP1 y RAMP3 son intensamente expresados,

pero el de RAMP2 es menos abundante. El ARNm de RAMP1 fue ampliamente distribuido en todo el cerebro, incluyendo la corteza cerebral, en el caudado-putamen, el complejo amigdaloides, el hipocampo, el cerebelo y el epéndimo. El ARNm de RAMP2 fue más abundante en el hipocampo, el cerebelo, la piamadre y los vasos sanguíneos, y ARNm de RAMP3 fue especialmente distribuido en núcleos talámicos y en el cerebelo. Adicionalmente, los genes de RAMP1 y RAMP3 fueron también detectados en el órgano subfornical (OSF) y el área postrema (AP) (Ueta y col., 2001).

El ARNm de la AM, así como el de CLRL y de la RAMP2, fue altamente expresado en el plexo coroideo, sugiriendo la posibilidad de que el plexo coroideo secreta AM al LCR, y la AM regula la función de los plexos coroideos de una manera paracrina/autocrina, vía la activación de receptores específicos (Kobayashi y col., 2001).

Se ha estudiado la modulación de la expresión del gen de la AM en respuesta a estresores fisiológicos en regiones del cerebro de la rata. El LPS inhibe la expresión del gen en el NPV (región parvo y magnocelular), NSO, núcleo dorsal motor del vago y área postrema. El estrés de restricción reduce los niveles del ARNm de la AM en el NPV (ambas regiones), núcleo supraóptico, NTS, núcleo dorsal motor del vago, área postrema y el órgano subfornical. La privación de agua por 24 horas (deshidratación) disminuyó la expresión del gen de la AM sólo en mNPV y en el NSO. Estos resultados sugieren un papel de la AM en la regulación del sistema hipotálamo-neurohipófisis, eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y en funciones autonómicas centrales (Shan y Krukoff, 2001).

Acciones centrales de la AM

Los efectos de la administración central de la AM son relevantes y nos indican que algunas acciones centrales pudieran ser o no complementarias a las periféricas. La AM actúa dentro del SNC regulando sistemas fisiológicos, siendo un importante neurotransmisor en las vías autonómicas involucradas en la homeostasis (Shan y col., 2003).

La AM ejerce acciones importantes en la pituitaria anterior. *In vitro*, inhibe la secreción basal de ACTH, así como la estimulada por la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en las células de la pituitaria anterior, sugiriendo un papel fisiológico del péptido en el control cardiovascular y en la homeostasis renal (Samson y col., 1995).

La administración intracerebroventricular (ICV) de la AM en ratas causa un incremento significativo

de los niveles plasmáticos de oxitocina (OX) y una marcada inducción de la inmunorreactividad a c-fos en el NPV y NSO. Esta inducción fue reducida por el pretratamiento con un antagonista de los receptores específicos de AM (AM₂₂₋₅₂). Estos hallazgos sugieren que la AM es responsable de la activación de neuronas secretoras en el NPV y NSO vía receptores específicos de AM, y que la AM estimula la secreción de OX por activación de las células hipotálamicas productoras de OX (Serino y col., 1999).

Los neuropéptidos actúan dentro del SNC modulando el balance de fluidos y electrolitos, mientras que factores hormonales y renales influyen la excreción de agua y solutos. Existe evidencia de que la administración ICV de la AM produce un incremento significativo en el volumen urinario, la excreción de sodio y de potasio en ratas conscientes normosódicas o con sobrecarga de sodio (Israel y Díaz, 2000 y Figura 2).

Estos efectos fueron inhibidos significativamente por el AM (22-52) y el CGRP (8-37), lo que sugiere que la AM actúa en el cerebro para controlar la homeostasis de fluidos electrolitos vía la estimulación de ambos receptores, el receptor putativo de AM y el CGRP1 (Díaz e Israel, 2001 y Figuras 3 y 4).

La AM cerebral puede servir como una defensa endógena contra estados de hipervolemia e hipernatremia. El mecanismo central pudiera facilitar la reducción del volumen sanguíneo por incremento en la excreción de agua y solutos, y adicionalmente por la reducción de la ingesta de sal (Samson y Murphy, 1997) y agua (Murphy y Samson, 1995). Todos estos efectos centrales, además de las conocidas acciones periféricas (natriuréticas y diuréticas) del péptido (Majid y col., 1996) pudieran formar parte de un complejo papel regulador de la AM en la homeostasis de los fluidos y electrolitos.

Mientras que el péptido administrado exógenamente inhibe estos comportamientos, la neutralización de la AM producida endógenamente con anticuerpos anti-AM administrados en el cerebro (ejemplo, inmunoneutralización pasiva), disminuye los niveles del péptido en el NPV del hipotálamo y produce una ingesta exagerada de agua y sal (Samson y Murphy, 1997; Samson y col., 1999). Estos resultados soportan el papel fisiológico de los productos del gen de la AM en la regulación central de la homeostasis del sodio.

Como hemos visto, algunos de los efectos de la administración central de la AM no pueden ser

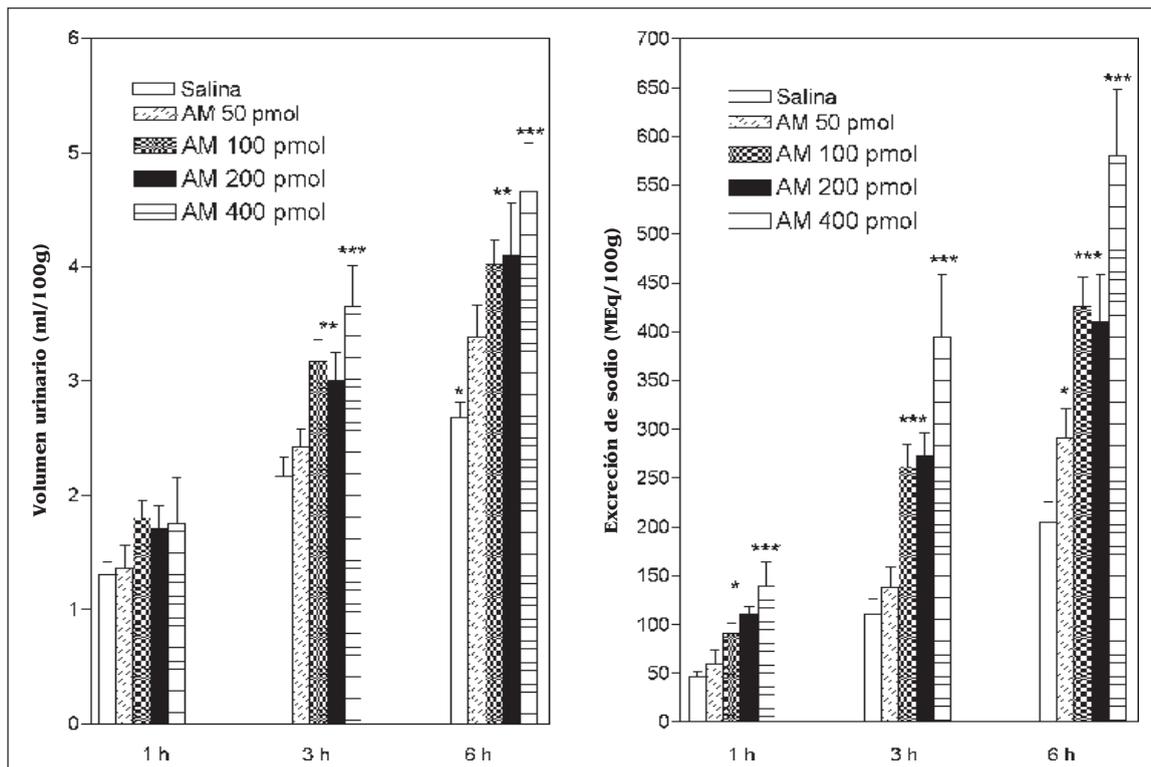
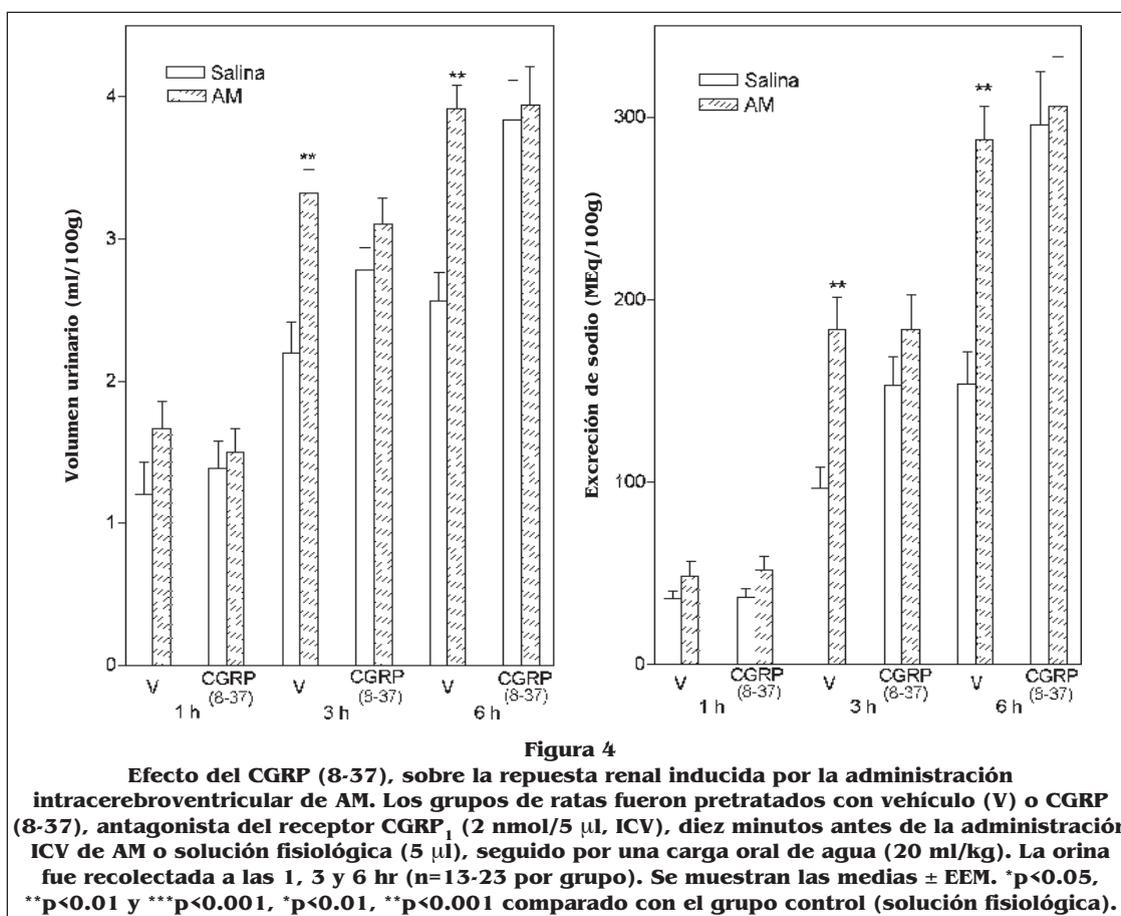
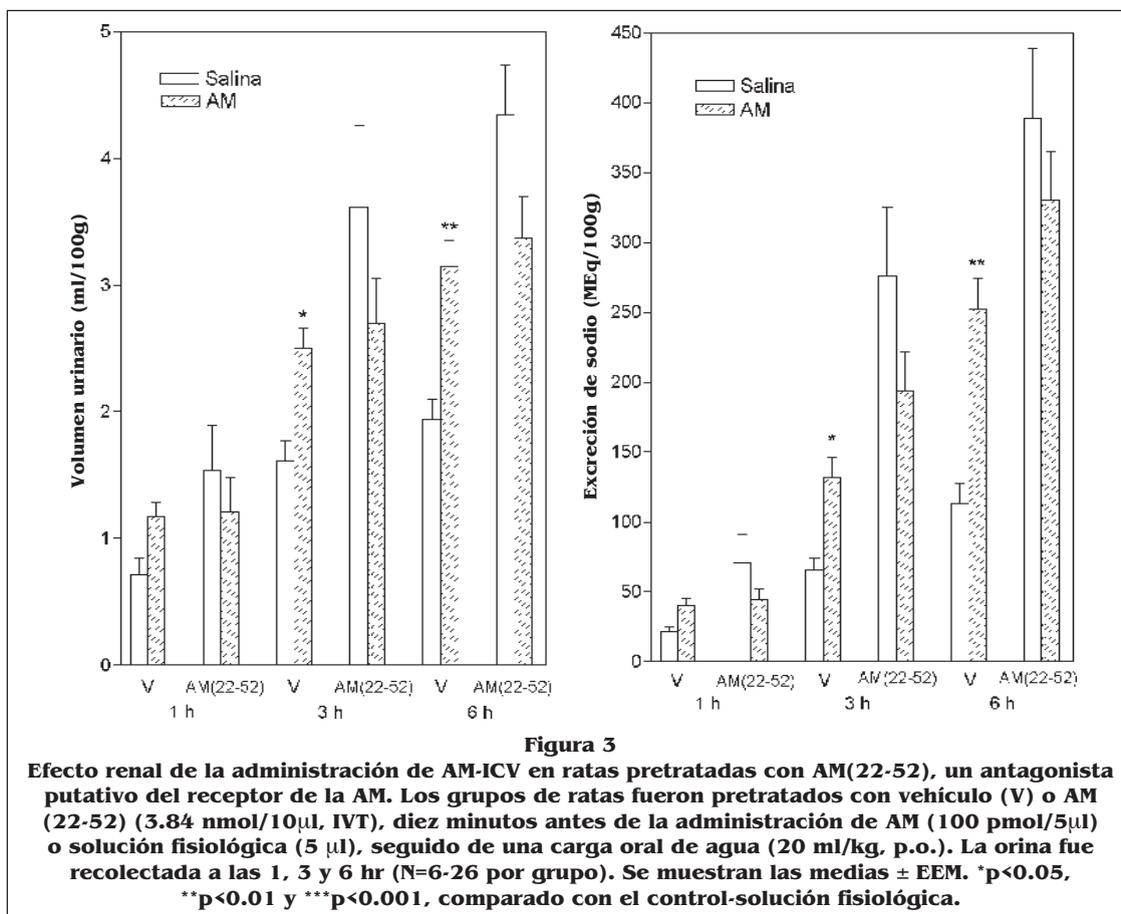


Figura 2
Efecto de la administración ICV de dosis crecientes de AM sobre el volumen urinario y la excreción de sodio en ratas conscientes hidratadas. Las ratas recibieron una inyección ICV de solución fisiológica (5 µl) o de adrenomedulina (AM). Inmediatamente después del tratamiento recibieron una carga oral de agua (20 ml/kg, p.o.). Las muestras de orina fueron recolectadas a las 1, 3 y 6 hr. Se muestran las medias ± EEM de N= 8-26. *p<0.05; **p<0.01 y *p<0.001 comparado con el grupo control (solución fisiológica).**



predichos por sus efectos periféricos. Algunos efectos centrales son comparables con los periféricos; por ejemplo, los efectos hipovolémicos periféricos son acompañados por el efecto inhibitorio de la AM sobre la ingesta de agua y el apetito por la sal (Samson y Murphy, 1997; Murphy y Samson, 1995), así como por la diuresis y natriuresis (Israel y Díaz, 2000). Por otra parte, otros efectos centrales de la AM son opuestos a los periféricos. Estas diferencias conducen a la hipótesis de que la AM actúa en oposición a los efectos periféricos para retornar al animal a su balance homeostático (Shan y col., 2003).

Las acciones hipotensoras de la AM en la periferia son contrarias a las producidas por el péptido en el cerebro. En efecto, la administración ICV de la AM en conejos y ratas conscientes aumenta la presión arterial y la actividad simpática renal, además produce un incremento del control barorreflejo de la actividad simpática renal y de la frecuencia cardíaca (Matsumura y col., 1999). De igual forma, la AM ejerce una acción hipertensiva dependiente de la dosis, cuando es administrada en los ventrículos cerebrales. Este efecto fue bloqueado por la administración periférica de fentolamina, indicando que la acción del péptido en el cerebro estimula la función del sistema nervioso simpático (Samson y col., 1998). Otros investigadores estudiaron la acción central de la AM sobre los parámetros cardiovasculares y el eflujo simpático en ratas conscientes, y demostraron que el péptido también indujo hipertensión, acompañado de una respuesta bifásica de la actividad nerviosa simpática de los nervios renales (una disminución inicial, seguida por un incremento) (Saita y col., 1998).

La AM producida en tejidos periféricos es liberada a la circulación para actuar como hormona en sitios distantes. Al igual que otros mensajeros químicos, podríamos considerar la posibilidad de que la AM, desde el plasma alcance el cerebro y pudiera entrar vía uno o varios órganos circunventriculares, libres de barrera hematoencefálica. El área postrema (AP), un órgano circunventricular localizado en la superficie dorsal del bulbo inmediatamente adyacente al NTS, está implicado como un sitio primario para que la AM acceda al cerebro. Se ha descrito la unión de la AM a las células del AP y la expresión del gen de RAMP3 en estas mismas células (Shan y col., 2003). Se ha observado un efecto excitatorio directo de la AM en el disparo de neuronas reguladoras cardiovasculares en preparaciones de rebanadas de AP, así como la microinyección de AM en esta estructura causó un incremento significativo de la presión sanguínea (Allen y col., 1996; Allen

y col., 1997). Estos hallazgos sugieren que la AM participa en la regulación cardiovascular y simpática, no solamente por su efecto en el músculo liso vascular sino también por sus acciones en el sistema nervioso central (Matsumura y col., 1999). Por otra parte, la activación de las neuronas del NTS por la administración intravenosa de AM sugiere que las neuronas del AP activadas por la AM pudieran activar centros autonómicos conocidos en el cerebro, incluyendo aquellos que usan el óxido nítrico (NO) como neurotransmisor (Shan y Krukoff, 2000).

Los mecanismos fisiológicos que involucran las acciones de la AM en el SNC son múltiples y complejos. Estudios adicionales son necesarios para incrementar el conocimiento de la AM y las vías autonómicas del cerebro envueltas en su papel regulador en la homeostasis.

Referencias bibliográficas

- ALLEN, M.; SMITH, P. Y FERGUSON, A. 1997. Adrenomedullin microinjection into the area postrema increases blood pressure. *Am J Physiol* 272: R1698-R1703.
- ALLEN, M. Y FERGUSON, A. 1996. In vitro recordings from area postrema neurons demonstrate responsiveness to adrenomedullin. *Am J Physiol* 270: R920-R925.
- DÍAZ, E. Y ISRAEL, A. 2001. Effect of adrenomedullin receptor and calcitonin gene-related peptide receptor antagonist on central mediated adrenomedullin renal action. *Brain Res Bull* 55: 29-35.
- EGUCHI, S.; HIRATA, Y.; KANO, H.; SATO, K.; WATANABE, Y.; WATANABE, T.; NAKAJIMA, K.; SAKAKIBARA, S. Y MARUMO, F. 1994. Specific receptors for adrenomedullin in cultured rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 340: 226-230.
- FOORD, S. Y MARSHALL, F. 1999. RAMPs: accessory proteins for seven transmembrane domain receptors. *TIPS* 20: 184-187.
- GUTKOWSKA, J.; ANTÚNEZ-RODRÍGUEZ, J. Y MACCANN, S. 1997. Atrial Natriuretic peptide in the brain and pituitary gland. *Physiol Rev* 77: 465-515.
- HWANG, I. Y TANG, F. 1999. The distribution and gene expression of adrenomedullin in the rat brain: peptide/mRNA and precursor/active peptide relationships. *Neurosci Lett* 267: 85-88.
- ICHIKI, Y.; KITAMURA, K.; KANGAWA, K.; KAWAMOTO, M.; MATSUO, H. Y TANENAO, E. 1994. Distribution and characterization of immunoreactive adrenomedullin in human tissue and plasma. *FEBS Lett* 338: 6-10.
- ISHIMITSU, T.; KOJIMA, M.; KANGAWA, K.; HINO, J.; MATSUOKA, H.; KITAMURA, M.; TANENAO, R. Y MATSUO, H. 1994. Genomic structure of human adrenomedullin gene. *Biochem Biophys Res Commun* 203: 631-639.
- ISRAEL, A. Y DÍAZ, E. 2000. Diuretic and natriuretic action of adrenomedullin administered intracerebroventricularly in conscious rats. *Reg Peptides* 89: 13-18.
- JUANEDA, C.; DUMONT, Y.; CHABOT, J. Y QUIRION, R. 2001. Autoradiographic distribution of adrenomedullin receptors in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 421: R1-R2.

- KAPAS, S.; CATT, K. Y CLARK, A. 1995. Cloning and expression of cDNA encoding a rat adrenomedullin receptor. *J Biol Chem* 270: 25344-215347.
- KATO, J.; KITAMURA, K.; KANGAWA, K. Y ETO, T. 1995. Receptors for adrenomedullin in human vascular endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 289: 383-385.
- KITAMURA, K.; KANGAWA, K. Y ETO, T. 2002. Adrenomedullin and PAMP: Discovery, structures and cardiovascular functions. *Microsc Res Tech* 57: 3-13.
- KITAMURA, K.; SAKATA, J.; KANGAWA, K.; KOJIMA, M.; MATSUO, H. Y ETO, T. 1993b. Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun* 194: 720-725.
- KITAMURA, K.; KANGAWA, K.; MATSUO, H. Y ETO, T. 1995. Adrenomedullin: implications for hypertension research. *Drugs* 49: 485-495.
- KITAMURA, K.; KANGAWA, K.; KAWAMOTO, M.; ICHIKI, Y.; NAKAMURA, S.; MATSUO, H. Y ETO, T. 1993a. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 192: 553-560.
- KOBAYASHI, H.; SHIRAIISHI, S.; MINAMI, S.; YOKOO, H.; YANAGITA, T.; SAITOH, T.; MOHRI, M. Y WADA, A. 2001. Adrenomedullin receptors in rat choroids plexus. *Neurosci Lett* 297: 167-170.
- KUPFERMANN, I. 1991. Hypothalamus and limbic system: peptidergic neurons, homeostasis, and emotional behavior. En: *Principles of Neural Science*. Eds.: Kandel E, Schwartz J, Mjessel T. Tercera edición. Part VIII. Cap. 47. Elsevier Science Co., New York. p. 735.
- KUWASAKO, K.; CAO, Y.; NAGOSHI, Y.; KITAMURA, K. Y ETO, T. 2004. Adrenomedullin receptors: pharmacological features and possible pathophysiological roles. *Peptides* 25: 2003-2012.
- MAJID, D.; KADOWITZ, P.; COY, D. Y NAVAR, G. 1996. Renal responses to intra-arterial administration of adrenomedullin in dogs. *Am J Physiol* 270: F200-F205.
- MATSUMARA, K.; ABE, I.; TSUCHIHASHI, T. Y FUJISHIMA, M. 1999. Central adrenomedullin augments the baroreceptor reflex in conscious rabbits. *Hypertension* 33: 992-997.
- MCLATCHIE, L.; FRASE, N.; MAIN, M.; WISE, A.; BROWN, J.; THOMPSON, N.; SOLAR, R.; LEE, M. Y FOORD, S. 1998. RAMPs regulate the transport and ligand specific of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature* 393: 333-339.
- MONTUENGA, L.; MARTÍNEZ, A.; MILLER, M.; UNSWORTH, E. Y CUTTITA, F. 1997. Expression of adrenomedullin and its receptor during embryogenesis suggests autocrine or paracrine modes of action. *Endocrinology* 138: 440-451.
- MURPHY, T. Y SAMSON, W. 1995. The novel vasoactive hormone, adrenomedullin inhibits water drinking in the rat. *Endocrinol* 136: 2459-2463.
- OLIVER, K.; WAINWRIGHT, A.; HEAVENS, R.; HILL, R. Y SIRINATHSINGHJI, K. 1998. Distribution of novel CGRP₁ receptor and adrenomedullin receptor mRNAs in the rat central nervous system. *Mol Brain Res* 57: 149-154.
- OLIVER, K.; KANE, S.; SALVATORE, C.; MALLEE, J.; KINSEY, A.; KOBLAN, K.; KEIVAN, N.; HEAVENS, R.; WAINWRIGHT, A.; JACOBSON, M.; DICKERSON, I. Y HILL, R. 2001. Cloning, characterization and central nervous system distribution of receptor activity modifying proteins in the rat. *Eur J Neurosci* 14: 618-628.
- OWJI, A.; SMITH, D.; COPPOCK, H.; MORGAN, D.; BHOGAL, R.; GHATEI, M. Y BLOOM, S. 1995. An abundant and specific binding site for the novel vasodilator adrenomedullin in the rat. *Endocrinology* 136: 2127-2134.
- RICHARDS, A.; NICHOLLS, M.; LEWIS, L. Y LAINCHBURY, J. 1996. Adrenomedullin. *Clin Sci* 91:3-16.
- POYNER, DR; SEXTON, PM; MARSHALL, I.; SMITH, DM; QUIRION, R.; BORN, W.; MUFF, R.; FISCHER, JA Y FOORD, SM. 2002. International Union of Pharmacology. XXXII. The mammalian calcitonin gene-related peptides, adrenomedullin, amylin, and calcitonin receptors. *Pharmacol Rev* 54:233-46.
- SAITA, M.; SHIMOKAWA, A.; KUNITARE, T.; KATO, K.; HANAMORI, T.; KITAMURA, K.; ETO, T. Y KANNAN, H. 1998. Central actions of adrenomedullin on cardiovascular parameters and sympathetic outflow in conscious rats. *Am J Physiol* 274: R979-R984.
- SAKATA, J.; SHIMOKUBO, T.; KITAMURA, K.; NAKAMURA, S.; KANGAWA, K.; MATSUO, H. Y ETO, T. 1993. Molecular cloning and biological activities of rat adrenomedullin, a hypotensive peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 195: 921-927.
- SAKATA, J.; SHIMOKUBO, T.; KITAMURA, M.; NISHIZONO, M.; ICHIKI, Y.; KANGAWA, K.; MATSUO, H. Y ETO, T. 1994. Distribution and characterization of immunoreactive rat adrenomedullin in tissue and plasma. *FEBS Lett* 352: 105-108.
- SAMSON, W. 1999. Adrenomedullin and the control of fluid and electrolyte homeostasis. *Annu Rev Physiol* 61: 363-389.
- SAMSON, W. Y MURPHY, T. 1997. Adrenomedullin inhibits salt appetite. *Endocrinology* 138: 613-616.
- SAMSON, W.; BODE, A.; MURPHY, T. Y TESCH, Z. 1999. Antisense treatments reveals a physiologically relevant role for adrenomedullin gene products in sodium intake. *Brain Res* 818: 164-167.
- SAMSON, W.; MURPHY, T. Y SCHELL, D. 1995. A novel vasoactive peptide, adrenomedullin, inhibits pituitary adrenocorticotropin release. *Endocrinology*, 136: 2349-23-52.
- SATOH, F.; TAKAHASHI, K.; MURAKAMI, O.; KAZUSHITO, T.; SONE, M.; OHNEDA, M.; ABE, K.; MIURA, Y.; HAYASHI, Y.; SASANO, H. Y MOURI, T. 1995. Adrenomedullin in human brain, adrenal glands and tumor tissue of pheochromocytoma, ganglioneuroblastoma and neuroblastoma. *J Clinical Endocrinol Metab* 80: 1750-1752.
- SERRANO, J.; UTTENTHAL, O.; MARTÍNEZ, A.; FERNÁNDEZ, P.; MARTÍNEZ, J.; ALONSO, D.; BENTURA, M.; SANTACANA, M.; GALLARDO, J.; MARTÍNEZ, R.; CUTTITA, F. Y RODRIGO, J. 2000. Distribution of adrenomedullin-like immunoreactivity in the rat central nervous system by light and electron microscopy. *Brain Res* 853: 245-268.
- SERRANO, J.; ALONSO, D.; FERNÁNDEZ, J.; ENCINAS, J.; LÓPEZ, J.; CASTRO-BLANCO, S.; FERNÁNDEZ-VIZARRA, P.; RICHARD, M.; SANTACANA, M.; UTTENTHAL, O.; BENTURA, M.; MEZ-MURILLO, R.; MARTÍNEZ, A.; CUTTITA, F. Y RODRIGO, J. 2002. Adrenomedullin in central nervous system. *Microsc Res Tech* 57: 76-90.

- SHAN, J. Y KRUKOFF, T. 2000. Area postrema ablation attenuates activation of neurones in the paraventricular nucleus in response to systemic adrenomedullin. *J Neuroendocrinol* 12: 802-810.
- SHAN, J. Y KRUKOFF, T. 2001. Distribution of preproadrenomedullin mRNA in the rat central nervous system and its modulation by physiological stressors. *J Comp Neurol* 432: 88-100.
- SHAN, J.; STACHNIAK, T.; JHAMANDAS, JH Y KRUKOFF, TL. 2003. Autonomic and neuroendocrine actions of adrenomedullin in the brain: mechanisms for homeostasis. *Regulatory Pept* 112: 33-40.
- SHIMEKAKE, Y.; NAGATA, K.; OHTA, S.; KAMBAYASHI, Y.; TERAOKA, H.; KITAMURA, K.; ETO, T.; KANGAWA, K. Y MATSUO, H. 1995. Adrenomedullin stimulates two signal transduction pathways, cAMP accumulation and Ca²⁺ mobilization, in bovine aortic endothelial cells. *J Biol Chem* 270: 4412-4417.
- SONE, M.; TAKAHASHI, K.; SATOH, F.; MURAKAMI, O.; TOTSUNE, K.; OHNEDA, M.; SASANO, H.; ITO, H. Y MOURI, T. 1997. Specific adrenomedullin binding sites in the human brain. *Peptides* 18: 1125-1129.
- TAKAHASHI, K.; SONE, M.; SATOH, F.; MURAKAMI, O.; TOTSUNE, K.; TANJI, H.; SATO, H. Y MOURI, T. 1997a. Presence of adrenomedullin-like immunoreactivity in the human cerebrospinal fluid. *Peptides* 18: 459-461.
- TAKAHASHI, K.; SATOH, F.; HARA, E.; MURAKAMI, O.; KUMABE, T.; TOMINAGA, T.; KAYAMA, T.; YOSHIMOTO, T. Y SHIBAHARA, S.; 1997b. Production and secretion of adrenomedullin by cultured choroid plexus carcinoma cells. *J Neurochem* 68: 726-731.
- TAKAHASHI, K.; SATOH, F.; SONE, M.; MURAKAMI, O.; SASANO, H.; MOURI, T. Y SHIBAHARA, S. (1997c.). Expression of adrenomedullin mRNA in the human brain and pituitary. *Peptides* 18: 1051-1053.
- TAYLOR, M. Y SAMSON, W. 2002. Adrenomedullin and the Integrative physiology of fluid and electrolyte balance. *Microsc Res Tech* 57: 105-109.
- UETA, Y.; KITAMURA, K.; SHIBUYA, I.; KABASHIMA, N.; YAMAMOTO, S.; KANGAWA, K.; MATSUI, H.; ETO, T. Y YAMASHITA, H. 1995. Adrenomedullin immunoreactive neurons in the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Neurosci Lett*. 202: 37-40.
- UETA, Y.; HARA, Y.; SETIADJI, S.; ISSE, T.; SHIBUYA, I.; KITAMURA, K.; KANGAWA, K.; MATSUO, H.; ETO T.; HATTORI, Y. Y YAMASHITA, H. 1999. Adrenomedullin-like immunoreactivity in the rat hypothalamo-neurohypophysial tract. *Peptides* 20: 199-204.
- WASHIMINE, H.; ASADA, Y.; KITAMURA, K.; ICHIKI, Y.; HARA, S.; YAMAMOTO, Y.; KANGAWA, K.; SUMIYOSHI, A. Y ETO, T. 1995. Immunohistochemical identification of adrenomedullin in human, rat, and porcine tissue. *Histochemistry* 103: 251-254.
- WITHERS, D.; COPPOCK, H.; SEUFFERLEIN, T.; SMITH, D.; BLOOM, S. Y ROZENGURT, E. 1996. Adrenomedullin stimulates DNA synthesis and cell proliferation via elevation of cAMP in Swiss 3T3 cells. *FEBS Lett* 378: 83-87.
- ZIMMERMANN, U.; FISCHER, J.; FREI, K.; FISCHER, A.; REINSCHIED R. Y MUFF, R. 1996. Identification of adrenomedullin receptors in cultured rat astrocytes and in neuroblastoma x glioma hybrid cells (NG108-15). *Brain Res* 724: 238-245.
- ZIMMERMANN, U.; FISCHER, J. Y MUFF, R. 1995. Adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide interact with the same receptor in cultured human neuroblastoma SK-N-MC cells. *Peptides* 16: 421-424.

Recibido: agosto 2006
Aceptado: septiembre 2006