

Efecto hipotensor

de la adrenomedulina cerebelosa

Hypotensive action of cerebellar adrenomedullin

Dra. Leticia María Figueira y Dra. Anita Israel*

Laboratorio de Neuropeptidos. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Caracas - Venezuela.

Recibido: 16/04/2012

Aceptado: 20/06/2012

62

Resumen

La adrenomedulina (AM) es un péptido involucrado en la regulación cardiovascular. En el cerebelo, la densidad de los receptores de la AM se encuentra alterada durante la hipertensión, sugiriendo un posible papel del sistema adrenomedulinérgico cerebelar en la regulación de la presión arterial (PA). El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto funcional in vivo de la AM sobre la PA, mediante la administración in situ de AM o angiotensina II (ANG II) en el vermis cerebelar de la rata. Para ello, se emplearon ratas adultas espontáneamente hipertensas (SHR) y controles normotensas Wistar Kyoto (WKY), las cuales fueron anestesiadas y canuladas en el vermis cerebelar. Posterior a su recuperación, los animales fueron divididos en tres grupos: AM (0,02-200 pmol/5µL), ANG II (200 pmol/5µL) y vehículo. Se determinó la PA basal y después de la administración de los tratamientos, mediante pletismografía digital no invasiva. La canulación se verificó post-mortem con la inyección in situ de una solución de colorante. Los resultados demuestran que la microinyección de AM in situ en el vermis cerebeloso produjo una marcada hipotensión dependiente de la dosis, en la rata hipertensa más no en la normotensa WKY (N=17; p<0,05). Este efecto fue específico ya que la microinyección in situ de ANG II o de vehículo no provocó cambios significativos en la PA. Estos hallazgos sugieren que la AM cerebelosa participa en la regulación de la PA y los mismos constituyen un mecanismo novedoso de control de la PA que no ha sido descrito hasta el presente.

Palabras Claves: AM, cerebelo, vermis, presión arterial, hipertensión.

Abstract

Adrenomedullin (AM) is a peptide involved in cardiovascular control. AM binding sites are altered in cerebellum during hypertension, suggesting a role for cerebellar adrenomedullinergic system in the blood pressure regulation. The aim of the present study was to establish the functional effect of AM in the in vivo regulation of blood pressure (BP), through in situ AM or angiotensin II (ANG II) microinjection into cerebellum vermis of the rat. In the present experimental study, adult male spontaneously hypertensive rats (SHR) and Wistar Kyoto rats (WKY) were anesthetized, and cannulated in the cerebellar vermis. Following recovery, the animals were divided into three groups: AM (0.02 to 200 pmol/5µL), ANG II (200 pmol/5µL) and vehicle. Baseline BP and after the treatments were determined by non invasive plethysmography. Cannulation was verified post mortem with the in situ injection of a dye solution. Our results demonstrate that microinjection of AM into the cerebellar vermis caused a profound dose dependent hypotensive response in SHR but not in normotensive WKY rats (N=17; p<0.05). This effect was specific since microinjection of ANG II or vehicle into the vermis did not cause significant changes in BP. Our findings suggest that cerebellar AM plays an important role in the regulation of BP and they constitute a novel mechanism of BP control which has not been described so far.

Key words: AM, cerebellum, vermis, blood pressure, hypertension

La adrenomedulina (AM) humana es un péptido ubicuo de 52 residuos de aminoácidos que ejerce sus acciones principalmente a través de su unión con tres subtipos de receptores, el receptor del péptido relacionado al gen de la calcitonina tipo 1 (CGRP₁), el receptor de AM tipo 1 (AM₁) y tipo 2 (AM₂). El CGRP₁ está formado por el receptor similar al receptor de calcitonina (CRLR) y la proteína que modifica la actividad del receptor tipo 1 (RAMP1); por su parte, los complejos CRLR/RAMP2 y CRLR/RAMP3 constituyen los receptores de AM, denominados AM₁ y AM₂, respectivamente^{1,2}.

En el cerebelo, diferentes estudios en animales de experimentación han demostrado la presencia de sitios de unión e inmunoreactividad a la AM, así como la expresión del CRLR, RAMP1, RAMP2 y RAMP3 en ratas normotensas³⁻⁶, lo cual sugiere un posible papel de este péptido en el cerebelo; sin embargo, muy pocos han sido los estudios sobre la AM en el cerebelo de ratas hipertensas. En este sentido, se ha descrito un incremento en la densidad de los receptores para AM en el cerebelo de las ratas espontáneamente hipertensas (SHR), con respecto a las ratas normotensas Wistar Kyoto (WKY), lo cual sugiere que la AM podría estar participando en mecanismos que regulan la presión arterial⁷.

Los mecanismos fisiológicos involucrados en las acciones de la AM en el cerebelo aún no han sido esclarecidos y podrían ser múltiples y complejos. Más aún, hay poca información acerca del papel del cerebelo en la regulación cardiovascular. Sin embargo, la evidencia neuroanatómica sugiere que el cerebelo cumple un papel muy importante en la regulación cardiovascular. En efecto, en el cerebelo se han identificado diversos módulos cardiovasculares, como el núcleo fastigio (NF), vermis anterior, vermis posterior, úvula (lóbulo IX), nódulo (lóbulo X); pues la estimulación de estas estructuras conlleva cambios en la presión arterial, frecuencia respiratoria y resistencia vascular⁸. Estos hallazgos constituyen evidencias claras del papel del cerebelo, específicamente el vermis cerebelar en la regulación de la presión arterial.

Por lo tanto, la evidencia indica que la AM y sus receptores se encuentran ampliamente distribuidos en el cerebelo de la rata y su expresión se encuentra alterada en la rata hipertensa SHR; sin embargo, se desconoce las acciones cardiovasculares de la administración exógena de la AM a nivel del vermis cerebelar; por lo que en el presente estudio se evaluó el efecto funcional in vivo de la AM sobre la presión arterial, mediante la microinyección in situ de AM o angiotensina II (ANG II) en el vermis de cerebelo de ratas conscientes.

Animales de Experimentación

Se emplearon ratas macho SHR y sus controles normotensos WKY de 16 semanas de edad, provenientes del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) (Caracas, Venezuela). Los animales fueron mantenidos en jaulas a temperatura ambiente con ciclos de 12 horas luz / oscuridad. La dieta de los animales consistió en Ratarina® y agua ad libitum. Los experimentos fueron realizados siguiendo las buenas prácticas para el manejo de animales de laboratorio⁹ y la aprobación del Comité de Bioterio de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela (UCV).

Administración in situ en el vermis cerebeloso

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico a la dosis de 40 mg/kg. Posteriormente, mediante el uso de un aparato estereotáxico (David Kopf Instruments) se procedió a la canulación en el vermis del cerebelo de acuerdo a las coordenadas estereotáxicas Antero-posterior (AP): -10,3, Lateral (L):0 y Ventral (V): 2,4^{10,11}. Se permitió la recuperación de los animales (3 días) y los mismos fueron divididos en tres grupos cada uno. El día del ensayo se determinó la presión arterial basal de cada animal, y posteriormente se procedió a la administración de los tratamientos, un grupo recibió AM (0,2 a 200 pmol/5µL), otro ANG II (200 pmol/5µL) y el último grupo recibió vehículo (5µL). Inmediatamente se procedió a la determinación de la presión arterial mediante pletismografía digital no invasiva. Una vez finalizado el experimento se confirmó la canulación post-mortem mediante la inyección, previo a la decapitación de una solución de colorante (fast green, 5 µL). Sólo se utilizaron los datos experimentales de aquellos animales en los que el colorante se localizó en el vermis cerebeloso (Fig. 1). Para evaluar si los cambios en la presión arterial media (PAM) inducidos tras la administración de AM o ANG II eran sitio específico, se evaluó el efecto de la administración in situ de AM o ANG II fuera del vermis de cerebelo sobre la presión arterial en las ratas in vivo. En este caso, sólo se tomaron en cuenta los datos de aquellos animales en los que el colorante se localizó fuera del vermis cerebeloso.

Determinación de la Presión Arterial

El registro de los parámetros cardiovasculares, presión arterial y frecuencia cardíaca se realizó en las ratas conscientes por un método no invasivo mediante el uso de un pletimógrafo digital de cola (Digital Pressure Meter Le 5002 LETICA®, Panlab, S.L. Barcelona - España). Dicho equipo emplea una aproximación de la medida de la presión arterial que es básicamente esfigomanométrica.

La semana previa al experimento, se determinó diariamente la presión arterial y frecuencia cardíaca, para minimizar el estrés asociado al manejo y al movimiento de la cola (período de adaptación a la toma de la presión arterial y de la frecuencia cardíaca).

Análisis Estadístico

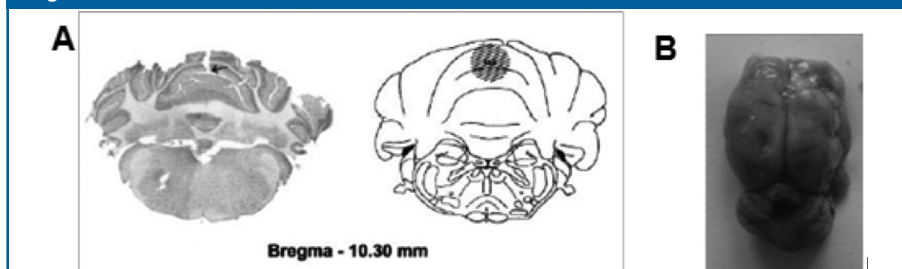
Los resultados fueron expresados como la media \pm error estándar de la media (E.E.M.). Se realizó la prueba de Shapiro-Will, para evaluar la distribución de las variables. La significancia de los resultados fue analizada mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y la prueba de Bonferroni. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado significativo. El análisis de los resultados y la elaboración de los gráficos se realizaron empleando el programa Graph Pad Prism versión 5.1.

A

Al evaluar el curso temporal del efecto de la administración in situ de AM en el vermis de cerebelo de ratas WKY y SHR sobre el cambio de la PAM, se observó que la administración intracerebelar de vehículo o AM (200 pmol/5 μ L), en ratas WKY, ocasionó incrementos de la PAM, expresada como delta de incremento sobre su propio basal; los cuales no fueron diferentes entre sí.

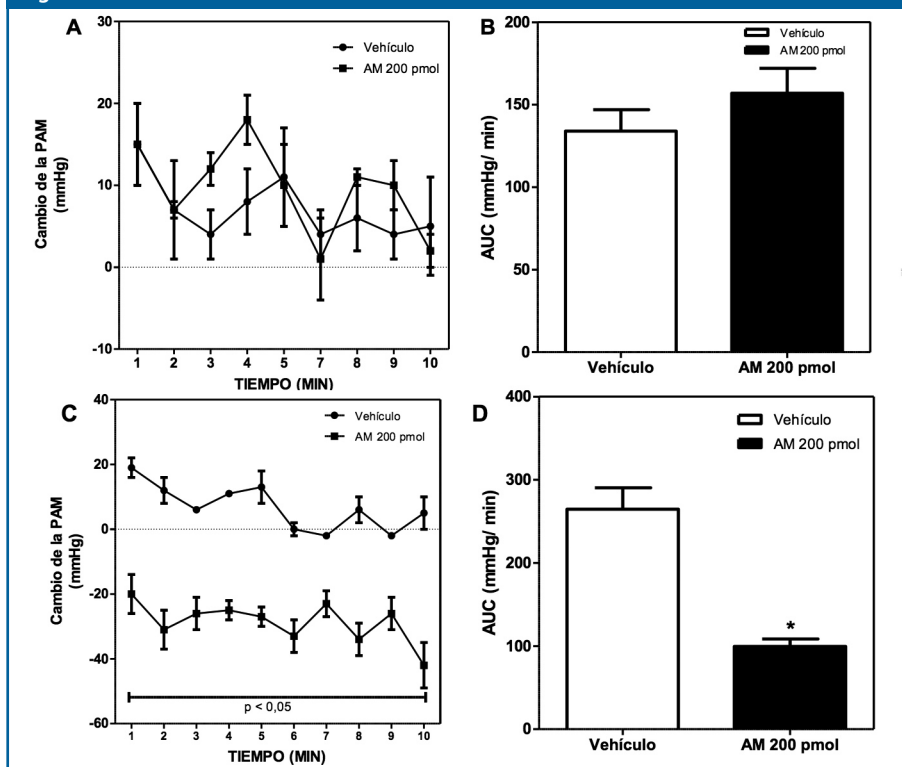
Efectivamente, el área bajo la curva (AUC) del delta de PAM confirma que no existen diferencias significativas entre las acción de la AM y el vehículo ($V=134 \pm 13$ y $WKY-AM=157 \pm 15$) ($N=10$). Contrariamente, la administración intracerebelar de AM (200 pmol/5 μ L) en ratas SHR ocasionó una marcada y significativa acción hipotensora cuando se compara con el vehículo, siendo la caída en la PAM de 20 a 40 mmHg. Al expresar los resultados como área bajo la curva (AUC) del delta de PAM, se evidencia una reducción significativa ($V=264,50 \pm 26,0$ vs. $SHR-AM=99,5 \pm 8$) ($N=17$, $p < 0,05$) (Fig. 2), la cual fue dependiente de la dosis en un rango de dosis comprendido entre 0,02 - 200 pmol/5 μ L ($N=17$; $*p < 0,05$) (Fig. 3); y sitio específico, pues la administración de AM (200 pmol) fuera del vermis cerebelar de ratas WKY y SHR, no ocasionó cambios significativos en la PAM cuando se compara con el vehículo ($N=10$) (Fig. 4). Asimismo, la administración intracerebelar de ANGII (200 pmol/5 μ L) en ratas WKY y SHR, produjo una tendencia a la disminución de la PAM la cual no fue significativa y su magnitud fue similar a la producida por el vehículo ($N=10$) (Fig. 5).

Figura 1



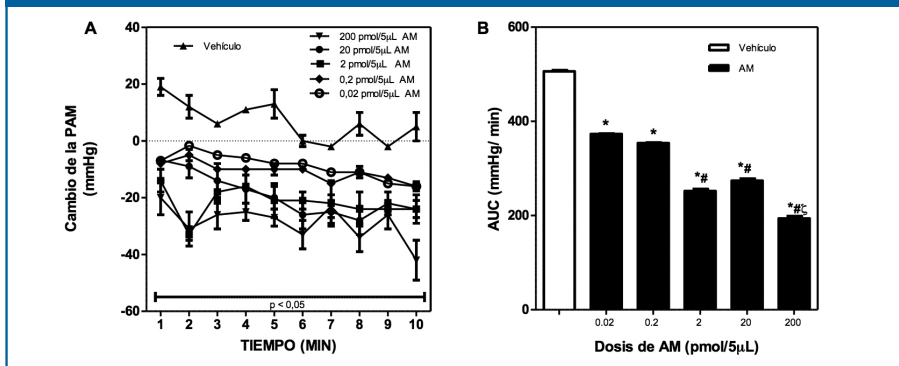
Coordenadas estereotáxicas (Panel A) (Sacchetti y col., 2002). Confirmación del sitio de la canulación con la tinción fast green (5 μ L) (Panel B).

Figura 2



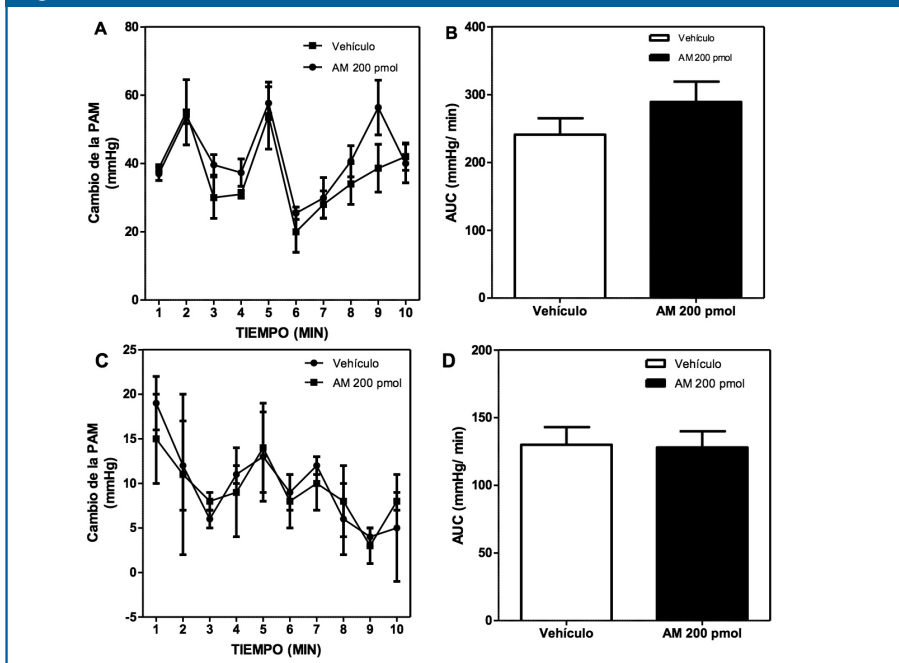
Curso temporal del efecto de la administración in situ de AM en el vermis de cerebelo de ratas WKY (Panel A y B) y SHR (Panel C y D) sobre el cambio de la PAM. Se administró AM (200 pmol/5 μ L) o vehículo en ratas canuladas en el vermis de cerebelo, se determinó la PAM antes y después (durante 10min) de la administración de los fármacos. Los resultados se expresan como la media \pm E.E.M. del cambio de la PAM ($N=10$ Panel A y B; $N=17$ Panel C y D). $*p < 0,05$ vs. Vehículo.

Figura 3



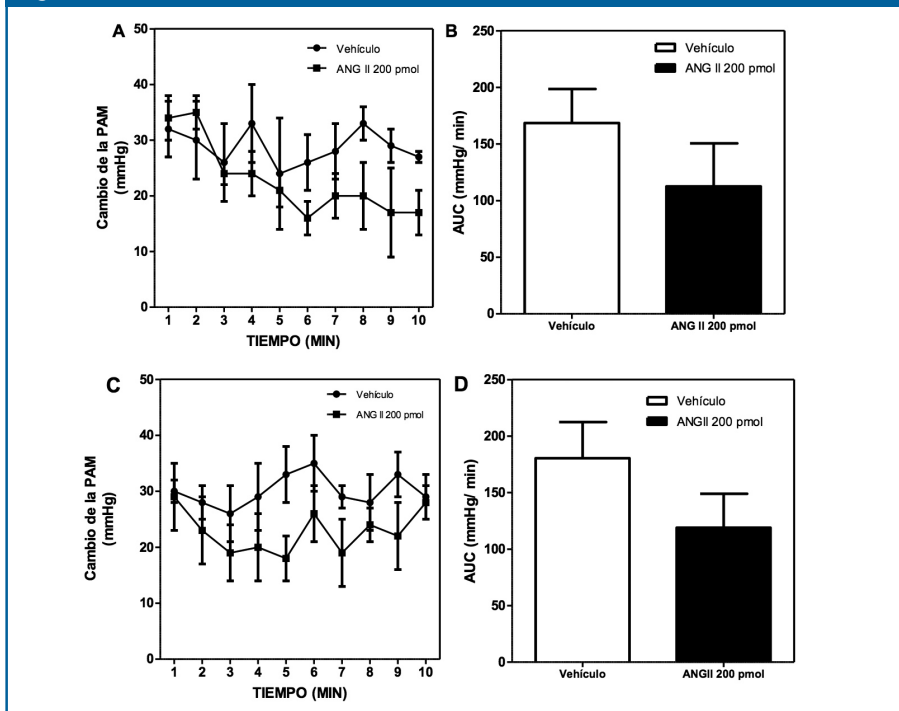
Curso temporal del efecto de la administración in situ de dosis crecientes de AM en el vermis de cerebelo de ratas SHR (Panel A) y sobre el AUC (Panel B). Se administró AM (0,02 - 200 pmol/5µL) o vehículo en el vermis de cerebelo, se determinó la PAM antes y después (durante 10min) de la administración de los fármacos (N=17). Los resultados se expresan como la media ± E.E.M. del cambio de la PAM *p<0,05 vs. vehículo. #p<0,05 vs. AM 0,02 y 0,2 pmol. †p<0,05 vs. AM 2 y 20 pmol.

Figura 4



Efecto de la administración in situ de AM fuera del cerebelo de ratas WKY (Panel A y B) y SHR (Panel C y D) sobre la PAM. Se administró AM (200 pmol/5µL) o vehículo fuera del vermis del cerebelo, se determinó la PAM antes y después (durante 10min) de la administración de los fármacos. Los resultados fueron expresados como la media ± E.E.M. del cambio de PAM (Panel A y C) o área bajo la curva (AUC) (Panel B y D) (N=10).

Figura 5



Efecto de la administración in situ de ANG II en el vermis del cerebelo de ratas WKY (Panel A y B) y SHR (Panel C y D) sobre la PAM. Se administró ANG II (200 pmol/5µL) o vehículo en el vermis del cerebelo, se determinó la PAM antes y después (durante 10 min) de la administración de los fármacos. Los resultados fueron expresados como la media ± E.E.M. del cambio de PAM (Panel A, C) o del área bajo la curva (AUC) (Panel B y D) (N=10).

La AM es un péptido que cumple funciones muy importantes en la regulación de la función cardiovascular. A nivel periférico, la AM disminuye la presión arterial debido a la disminución de la resistencia vascular periférica¹². Por su parte, a nivel central, los efectos de la AM sobre la regulación de la presión arterial son sitio – específico; así, la administración de AM a nivel del área postrema (AP)¹³, intracerebroventricular (icv)^{4,15} o en la región ventrolateral rostral del bulbo raquídeo (RVLM) causa un incremento en la presión arterial de manera dependiente de la dosis^{15,16}. Contrariamente, la administración de AM en el núcleo paraventricular (NPV) provoca una disminución de la presión arterial¹⁷ que es mediada por el óxido nítrico (NO) y el ácido gamma aminobutírico (GABA)¹⁶.

Hasta la fecha no existen reportes sobre el posible efecto que ejerce la administración de la AM a nivel del cerebelo sobre la presión arterial; sin embargo, la evidencia anatómica y los resultados *in vitro*¹⁸ apuntan a un papel funcional de la misma en la regulación de la presión arterial. En relación a la evidencia anatómica de un posible papel del cerebelo en la función de la regulación de la presión arterial, se ha demostrado que la estimulación eléctrica de diversas zonas cerebelosas conlleva cambios en la presión arterial y frecuencia cardíaca^{8,19,20}. Al respecto se ha demostrado la existencia de cinco módulos en el cerebelo dedicados al control cardiovascular⁸. Adicionalmente, la corteza cerebelar puede influir en el sistema cardiovascular, pues lesiones en diferentes regiones del cerebelo son capaces de modificar la presión arterial, ya que la estimulación eléctrica del vermis anterior en gatos, provoca una respuesta depresora²¹; en contraste, la estimulación del vermis anterior en conejos evoca una respuesta presora²². Por su parte, la estimulación de los lóbulos I, II y III de la corteza del vermis anterior del cerebelo en conejos anestesiados ocasiona una caída en la presión arterial e inhibición de la actividad simpática renal²³. Estos hallazgos constituyen evidencias claras del papel del cerebelo, específicamente el vermis cerebelar en la regulación de la presión arterial.

En relación a la AM en el cerebelo, previamente hemos demostrado mediante técnicas autoradiográficas, un aumento en la densidad de los sitios de unión a la AM en el vermis cerebeloso de la rata hipertensa SHR⁷. Estos hallazgos soportan la hipótesis de un papel funcional no descrito hasta ahora, para los receptores de AM en el cerebelo, que podría representar un mecanismo de regulación “hacia arriba” de los receptores para compensar el aumento de la presión arterial de las ratas SHR; o alternativamente constituir la modificación primaria cuya consecuencia se-

cundaria resultaría en una alteración de los mecanismos de regulación autonómica que ocurren en el cerebelo y que traería como consecuencia un incremento de la presión arterial⁷. En apoyo a esta hipótesis, demostramos una disminución en la expresión de la AM y RAMP2 en el vermis de cerebelo de ratas hipertensas, la cual estuvo asociada a un incremento en la expresión de CRLR, RAMP1 y RAMP3, al compararlas con las ratas normotensas¹⁸. Estos hallazgos demuestran que en el cerebelo la hipertensión se asocia con un incremento en la expresión de los receptores de CGRP (CRLR + RAMP1) y AM2 (CRLR + RAMP3) y una menor expresión del receptor de AM1 (CRLR + RAMP2), lo que parece indicar claramente la existencia de una desregulación del sistema adrenomedulinérgico cerebelar durante la hipertensión¹⁸. Al respecto, estudios experimentales y epidemiológicos han demostrado alteración en la expresión de la AM y sus componentes en diferentes patologías cardiovasculares tales como la hipertensión arterial²⁴, pues se ha observado un aumento en la expresión de la AM y de los componentes de sus receptores, que se cree se debe a una respuesta de adaptación cardiovascular compensatoria al proceso fisiopatológico. Dichos cambios se han evidenciado en tejidos periféricos como la aorta, el ventrículo cardíaco²⁵, así como a nivel del SNC²⁴. Sin embargo, la infusión intravenosa de AM en ratas SHR provoca una marcada reducción de la presión arterial, atenúa la hipertrofia cardíaca, la fibrosis, el daño renal y mejora el funcionalismo renal en ratas SHR, lo cual sugiere que el aumento de la AM es un evento biológico relevante para compensar el daño cardíaco y renal²⁶, por lo que la AM podría constituir una estrategia promisoriosa para el tratamiento de pacientes con hipertensión arterial.

Ahora bien, si existe el sustrato neuroanatómico, el neuropéptido y sus receptores en el cerebelo, es lógico pensar que la AM administrada al cerebelo debería ejercer alguna función en la regulación cardiovascular. Nuestros hallazgos apuntan a esa posibilidad ya que demuestran, por primera vez, que la microinyección de AM en el vermis del cerebelo de ratas hipertensas provoca una poderosa y significativa respuesta hipotensora, la cual es específica y dependiente de la dosis. Este efecto hipotensor se manifiesta solo durante la hipertensión ya que la AM no fue capaz de reducir la presión arterial en las ratas normotensas tras su microinyección en el vermis cerebeloso. La especificidad de la acción hipotensora de la AM administrada en el vermis cerebeloso se apoya en el hecho que la microinyección del péptido fuera del vermis no ocasionó el efecto hipotensor en las ratas SHR, y la administración *in vivo* de un péptido presor como la ANG II en el vermis del cerebelo de la rata tampoco ocasionó cambios en la presión arterial. Estos resultados constituyen la primera evidencia funcional *in vivo* del papel de la AM en el vermis cerebeloso en el control de la presión arterial.

La causa de la diferencia en la acción de la AM entre las ratas normotensas e hipertensas puede ser variable y ha

sido descrito para otras estructuras cerebrales, ya que la infusión de AM disminuye la presión arterial tanto en ratas normotensas como en las hipertensas de manera dependiente de la dosis; sin embargo la caída en la presión arterial fue mayor en las ratas hipertensas con respecto a las normotensas²⁷; de igual manera, se ha descrito que las neuronas del RVLM de las ratas SHR son más sensibles y tienen mayor respuesta a la ANG II con respecto a las WKY²⁸. Por lo tanto, el efecto hipotensor inducido por la administración intracerebelar de la AM en las ratas SHR podría ser debido a un incremento en la sensibilidad y respuesta del cerebelo de las ratas SHR a la AM con respecto a las ratas WKY. Alternativamente, esta respuesta diferencial podría ser la manifestación de la desregulación de las vías de señalización, de la expresión de AM y receptores AM1, cuya expresión está reducida en la hipertensión¹⁸.

En conclusión, en el presente estudio se demostró que la microinyección de AM en el vermis de cerebelo fue capaz de provocar un marcado efecto hipotensor únicamente durante la hipertensión, sugiriendo a la AM como un novedoso blanco farmacológico en el tratamiento de la hipertensión e involucrado además en su fisiopatología. Aún más, se refuerza el concepto novedoso de la existencia de un sistema adrenomedulinérgico cerebelar de importancia fisiológica, abriéndose nuevas vías para el estudio de rutas neuroanatómicas y de neuropeptidérgicas involucradas en la regulación de la presión arterial aún no descritas hasta el presente.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Sr. Banny Caraballo por su ayuda técnica en los experimentos. Este trabajo fue subvencionado por el CDCH-UCV y por el Ministerio Popular de Ciencia Tecnología e Industrias, Proyecto Misión Ciencia, Sub-proyecto 7, ECCV No. 2007001585 y el Proyecto de Estímulo a la Investigación PEI No. 20122000760.

Referencias

1. Kuwasako K, Cao Y, Nagoshi Y, Kitamura K, Eto T. (2004). Adrenomedullin receptors: pharmacological features and possible pathophysiological roles. *Peptides*, 25, 2003-2012.
2. Hilariret S, Belanger C, Bertrand J, Laperriere A, Food S, Bouvier M. (2001). Agonist - promoted internalization of a ternary complex between calcitonin receptor - like receptor, receptor activity - modifying protein 1 (RAMP1) and β -arrestin. *J Biol Chem*, 276, 29575-29581.
3. Sone M, Takahashi K, Satoh F, Murakami O, Totsune K, Ohneda M, Sasano H, Ito H, Mour T. (1997). Specific adrenomedullin binding sites in the human brain. *Peptides*, 18, 8, 1125- 1129.
4. Serrano J, Uttenthal O, Martínez A, Fernández P, Martínez J, Alonso D, Bentura M, Santacana M, Gallardo J, Martínez R, Cutitta F, Rodrigo J. (2000). Distribution of adrenomedullin - like immunoreactivity in the rat central nervous system by light and electron microscopy. *Brain Res*, 853, 245-268.
5. Chakravarty P, Suthar T, Coppock H, Nicholl C, Bloom S, Legon S, Smith D. (2000). CGRP and adrenomedullin binding correlates with transcript levels for calcitonin receptor - like receptor (CRLR) and receptor activity modifying proteins (RAMPs) in rat tissues. *Br J Pharmacol*, 130, 189 - 195.
6. Uezono Y, Nakamura E, Ueda Y, Shibuya I, Ueta Y, Yokoo H, Yanagita T, Yoyohira Y, Kobayashi H, Yanagihara N, Wada A. (2001). Production of cAMP by adrenomedullin in human oligodendroglial cell line KG1C: Comparison with calcitonin gene - related peptide and amylin. *Brain Res. Mol. Brain Res*, 97, 59- 69.
7. Pastorello M, Díaz E, Csibi A, Garrido M, Chabot J, Quirion R, Israel A. (2007). Papel de la adrenomedulina cerebelosa en la hipertensión arterial. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 26,2, 98 - 104.
8. Nisimaru N. (2004). Cardiovascular modules in the cerebellum. *Jpn J Physiol*, 54, 431-448.
9. Institute of Laboratory Animal Resources. National Research Council. (1996). NIH Guide for the care and use of animals. Washington DC, USA. National Academy Press.
10. Pellegrino L, Pellegrino A, Cushman A. (1979). A Stereotaxic Atlas of the rat brain. New York and London. Plenum Press. Springer.
11. Sacchetti B, Baldi E, Lorenzini C, Bucherelli C. (2002). Cerebellar role in fear - conditioning consolidation. *PNAS*, 12, 8406 - 8411.
12. Beltowski J, Jamroz A. (2004). Adrenomedullin - What do we know 10 years since its discovery? *Pol J Pharmacol*, 56, 5 - 27.
13. Yang B, Ferguson A. (2003). Adrenomedullin influences dissociated rat area postrema neurons. *Regul Pept*, 112, 9- 17.
14. Israel A, Diaz E. (2000). Diuretic and natriuretic action of adrenomedullin administered intracerebroventricularly in conscious rats. *Regul Pept*, 89, 13-18.
15. Samson W. (1999). Adrenomedullin and the control of fluid and electrolyte homeostasis. *Annu Rev Physiol*, 61, 363 - 389.
16. Xu Y, Krukoff T. (2004). Adrenomedullin in the rostral ventrolateral medulla increases arterial pressure and heart rate: roles of glutamate and nitric oxide. *Am J Physiol*, 287, R729- R734.
17. Smith P, Ferguson A. (2001). Adrenomedullin acts in the rat paraventricular nucleus to decrease blood pressure. *J Neuroendocrinol*, 13, 467-471.
18. Figueira L, Israel A. (2013). Desregulación del sistema adrenomedulinérgico cerebeloso en la hipertensión arterial. *Acta Científica Venezolana*, 64.
19. Rector D, Richard C, Harper R. (2006). Cerebellar fastigial nuclei activity during blood pressure challenges. *J Appl Physiol*, 101, 549 - 555.
20. Tandon O, Malhotra V, Bhaskar V, Shankar P. (2006). Cerebellar control of visceral response - possible mechanisms involved. *Indian J Exp Biol*, 44, 429 - 435.
21. Rasheed B, Manchada S, Anand B. (1970). Effects of stimulation of paleo cerebellum on certain vegetative functions in the cat. *Brain Res*, 20, 293 - 308.
22. Ramu A, Bergman F. (1967). The role of the cerebellum in blood pressure regulation. *Experientia*, 23, 383 - 384.
23. Nisimaru N, Yamamoto M, Shimoyama I. (1984). Inhibitory effects of cerebellar cortical stimulation on sympathetic nerve activity in rabbits. *Jpn J Physiol*, 34, 539- 551.
24. Cases A, Mora-Macia J. (2001). Adrenomedullin: un Nuevo péptido vasoactivo. *Nefrología*, XXI,1, 16 - 25.
25. Gibbons C, Dackor R, Dunworth W, Fritz-Six K, Caron K. (2007). Receptor Activity - modifying proteins: RAMPing up Adrenomedullin signaling. *Mol Endocrinol*, 21, 4, 783-796.
26. Jiang W, Jiang H, Pan C, Cai C, Qi Y, Pang Y, Tang C. (2004). Relationship between the contents of adrenomedullin and distributions of neutral endopeptidase in blood and tissues of spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, 27, 109 - 117.
27. He H, Bessho H, Fujisawa Y, Horiuchi K, Tomohiro A, Kita T, Aki Y, Kimura S, Tamaki T, Abe Y. (1995). Effects of a synthetic rat adrenomedullin on regional hemodynamics in rats. *Eur J Pharmacol*, 273, 209 - 214.
28. Chan R, Chan Y, Wong T. (1991). Responses of cardiovascular neurons in the rostral ventrolateral medulla of the normotensive Wistar Kyoto and spontaneously hypertensive rats to iontophoretic application of angiotensin II. *Brain Res*, 556, 145 - 150.