

INTERÉS DE LOS PÉPTIDOS NATRIURÉTICOS EN CARDIOLOGÍA VETERINARIA

Meder AR¹, Adagio LM¹, Desmaras EA², Arauz MS³

1 Cátedra de Clínica de Pequeños Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa. 2 Cátedra de Fisiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata 3 Servicio Central de Laboratorio del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata

RESUMEN: Los péptidos natriuréticos son una familia de hormonas que juegan un papel primario en la regulación de la homeostasis cardiovascular y renal. Tres han sido identificados, el péptido natriurético atrial (ANP), péptido natriurético tipo B (BNP) y péptido natriurético tipo C (CNP). ANP y BNP se sintetizan en el tejido cardíaco atrial y ventricular, respectivamente. En humanos, su concentración se relaciona con enfermedades cardíacas, renales, hipertensión, edad y sexo. Del mismo modo, en caninos y felinos, sus niveles se asocian con distintas patologías cardíacas, renales, hipertensión, obesidad. Actualmente, en animales de compañía, se consideran una herramienta complementaria en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las cardiopatías. El presente trabajo tiene como objetivo llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre los péptidos natriuréticos con la finalidad de poner en discusión sus perspectivas y aplicaciones en el campo de la cardiología veterinaria.

Palabras Clave: Peptidos Natriureticos en cardiologia caninos

INTEREST OF THE NATRIURETIC PEPTIDES IN VETERINARY CARDIOLOGY

ABSTRACT: The natriuretic peptides are a family of hormones that play a primary role in the regulation of the cardiovascular and renal homeostasis. Three have been identified: the atrial natriuretic peptide (ANP), B type natriuretic peptide (BNP) and C type natriuretic peptide (CNP). The ANP and BNP are synthesized in the atrial and the ventricular cardiac tissue, respectively. In humans, they were related with cardiac and renal disease, hypertension, age and sex. In the same way, in canines and felines were also related with different cardiac pathologies, renal disease, hypertension, obesity. At present, they are considered a complementary tool in the diagnosis, treatment and prognosis in companion animal's patients with cardiac disease. The objective of the present work was to carried out a bibliographic review among the actual natriuretic peptides available in the field of veterinary cardiology.

Key word: Natriuretic Peptides in dog cardiology

Fecha de recepción: 04/08/11

Fecha de aprobación: 30/07/12

Dirección para correspondencia: A.R. Meder, Cátedra de Clínica de Pequeños Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa. Argentina.

E-mail: albertomeder@yahoo.com.ar

INTRODUCCIÓN

En la clínica veterinaria de animales de compañía, el diagnóstico y la evaluación de la función cardíaca se realizan, tradicionalmente, a partir del examen clínico junto a una serie de estudios complementarios diagnósticos que comprenden la electrocardiografía, radiología torácica y ecocardiografía. Dentro de éstos, la ecocardiografía, el método diagnóstico más apropiado para la evaluación cardíaca, tanto convencional como Doppler, puede no estar disponible para todos los pacientes por su costo, el tiempo que requiere su realización y la experiencia que demanda por parte del operador.

En los últimos años, principalmente en medicina humana, los biomarcadores cardíacos han cobrado una importancia fundamental y ocupan un primer plano en el diagnóstico y seguimiento de las cardiopatías. De manera similar, en la actualidad, los péptidos natriuréticos proporcionan nuevas y prometedoras perspectivas en cuanto a su utilidad en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de las patologías cardíacas en caninos y felinos. Este artículo pretende realizar una revisión bibliográfica sobre los péptidos natriuréticos con la finalidad de poner en discusión las perspectivas y las posibles aplicaciones que ofrecen los mismos a la cardiología veterinaria.

ORIGEN

Los péptidos natriuréticos (NP) son una familia de hormonas (1) que juegan un importante rol en la regulación de la homeostasis cardiovascular y renal (2), a partir de su actividad vasodilatadora, natriurética, antagonista del sistema renina angiotensina aldosterona (3, 4, 5), lusinotrópica (6) e inhibitoria de la fibrosis cardíaca (7). El primero en ser descubierto (8) y secuenciado (9) fue el Péptido Natriurético Atrial (ANP). Los restantes miembros, Péptido Natriurético Tipo B (BNP) y Péptido Natriurético Tipo C (CNP), fueron caracterizados en 1989 (10) y en 1990 (11). El ANP se presenta en mayor concentración en el tejido cardíaco atrial (8, 9) y es almacenado en forma de gránulos de rápida liberación (12, 13). El BNP, originalmente descubierto en tejido cerebral porcino (14), es sintetizado y liberado, tanto por miocitos atriales como ventriculares, sin un proceso de almacenamiento extenso (15, 16, 17). El CNP, el miembro más recientemente descubierto, es sintetizado en las células endoteliales vasculares (18) y presenta una alta concentración en el sistema nervioso central en comparación con los bajos niveles que se observan tanto en tejido cardíaco como sanguíneo (11).

ESTRUCTURA MOLECULAR

El análisis estructural muestra que los NP presentan un anillo central en común, constituido por 17 aminoácidos, y dos cadenas peptídicas,

adheridas a éste, en las cuales se expresan las principales diferencias genéticas (9, 11). El ANP es sintetizado como un polipéptido precursor de 126 aminoácidos (proANP-126), el cual, luego de su liberación a sangre, es escindido en dos fragmentos menores, la fracción carboxilo terminal biológicamente activa de 28 aminoácidos (C-ANP 99-126) y la fracción amino terminal de 98 aminoácidos residual (Nt-proANP 1-98) (19). EL BNP, de forma similar al ANP, es sintetizado y liberado a la circulación como una prohormona glicosilada (20) de 108 aminoácidos denominada proBNP (4, 21, 22). Una vez en el torrente sanguíneo esta es proteolíticamente dividida en dos fragmentos por una proteasa sérica (23) ubicada en la membrana de los miocitos cardíacos (24), la fracción carboxilo terminal no glicosilada (20) de 32 aminoácidos, biológicamente activa, denominada C-BNP o BNP 1-32 (25, 26) y un fragmento amino terminal glicosilado, (20) de 76 aminoácidos residual inactivo, denominado Nt-proBNP (27, 28, 29, 30). El BNP 1-32, luego de cumplir su actividad biológica, es clivado por una dipeptidil aminopeptidasa IV (DPP4) a BNP 3-32 (31). Ya que este último presenta acciones significativamente inferiores al BNP activo esta molécula sea, probablemente, el primer paso en el proceso de degradación de este péptido (5).

MECANISMO DE ACCIÓN

Los péptidos natriuréticos ejercen su actividad biológica al unirse a receptores celulares específicos presentes en el endotelio y células musculares lisas de los vasos sanguíneos (32), riñones, pulmones y miocitos cardíacos (33). Tres tipos de receptores han sido caracterizados (34,35). Dos de estos, el receptor de péptidos natriuréticos tipo A (NPR-A) y el receptor de péptidos natriuréticos tipo B (NPR-B), presentan actividad Guanil Ciclasa (CG) y median su acción a partir de la producción del segundo mensajero Guanosil Monofosfato Cíclico (GMPc) (36). Por su parte, el tercero, denominado receptor de péptidos natriuréticos tipo C (NPR-C), tiene como función remover de la sangre las formas biológicamente activas de los péptidos natriuréticos (37, 38). Esta última función, es también compartida con endopeptidasas neutras presentes en la circulación sanguínea, aunque a diferencia de NPR-C, éstas degradan ANP fundamentalmente y en menor proporción BNP (39, 40).

ANP y BNP estimulan la producción de GMPc a partir de la activación del receptor NPR-A (41, 42,43). CNP, en cambio, estimula la producción de GMPc a partir de su acción específica sobre el receptor NPR-B (44). El GMPc generado, a partir de la activación de la CG, es degradado, luego de cumplir con su actividad biológica, por enzimas con actividad fosfodiesterasa, como la PDE₅ (42), la cual se encuentra en riñones, co-

razón y vasos sanguíneos (45). Los fragmentos inactivos Nt-proANP y Nt-proBNP, por su parte, son excretados sin modificaciones vía renal, en contraste con la eliminación vía receptores específicos y/o enzimas de degradación que sufren los fragmentos activos (46). Presentan, además, una menor variabilidad biológica (47,48) y una mayor vida media que las fracciones activas (49).

FISIOPATOLOGÍA

ANP y BNP son liberados por el tejido cardíaco en respuesta a incrementos en el estrés parietal de atrios y ventrículos (50). La síntesis, regulación y liberación de éstos péptidos presentan diferencias puntuales entre sí (51).

El estímulo primario para la liberación de ANP es la sobrecarga de volumen y/o presión que soportan los atrios cardíacos, independientemente de cuál sea la etiología de la patología cardiovascular. En respuesta a la misma, los niveles sanguíneos de ANP aumentan rápidamente como consecuencia, en primer lugar, de la rápida descarga a partir de los gránulos de reserva ubicados en los miocitos atriales y, en segundo lugar, por el incremento de su síntesis (52). A pesar de ésta pronta respuesta y de la elevación temprana de los niveles sanguíneos, frente a patologías cardíacas crónicas los niveles de ANP no se elevan en la misma proporción que en los primeros estadios (51).

En animales sanos, la mayor parte del BNP circulante se origina, en forma primaria y de manera similar a ANP, a partir de la síntesis y liberación de los miocitos atriales y, en forma secundaria, de miocitos ventriculares (52). Una diferencia significativa entre BNP y ANP radica en que, el primero, no presenta un proceso de almacenamiento extenso en las células cardíacas que le permitan una rápida liberación frente a condiciones patológicas (53). De esta forma, el estiramiento de la pared atrial y, principalmente, el estrés parietal ventricular desencadenan la síntesis y liberación gradual de BNP con el consecuente aumento de su concentración plasmática (29). Aumentos marcados, como los que se observan en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica, son provocados, a su vez, por el incremento de la síntesis proteica a partir de una mayor regulación génica en ventrículos cardíacos primariamente (4,54). Así, y a diferencia de ANP, los niveles de BNP incrementan de una manera más lenta, pero más persistente, como consecuencia de cambios hemodinámicos crónicos (55, 53). La síntesis y secreción de BNP se incrementa, de esta forma, en respuesta a fuerzas hemodinámicas como las que se generan a partir de la sobrecarga de volumen y/o presión que soportan las cámaras ventriculares principalmente (56). En síntesis, los niveles circulantes de BNP se correlacionan positivamente con la severidad

de la insuficiencia cardíaca (57) y proporcionan un sensible biomarcador para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de la insuficiencia cardíaca (58,59).

DETERMINACIÓN

La determinación de las concentraciones circulantes de los péptidos natriuréticos se considera parte de los análisis que se realizan para diagnosticar enfermedades cardíacas en el hombre (60). El requisito fundamental para utilizar un péptido como biomarcador es que exista una prueba confiable, tanto en su sensibilidad como en su especificidad (61).

Los polipéptidos precursores, así como los fragmentos activos e inactivos presentan diferencias significativas, tanto en ANP como en BNP, que van más allá de su actividad biológica y que son determinantes a la hora de cuantificar las concentraciones séricas o plasmáticas de los mismos. Estas diferencias muestran que los fragmentos inactivos, Nt-proANP y Nt-proBNP, son utilizados como test diagnóstico en pacientes humanos, en lugar de los fragmentos activos C-ANP y C-BNP, ya que son más estables a temperatura ambiente (62) y presentan una vida media más larga que los fragmentos activos (63). Así, a modo de ejemplo, la vida media de C-BNP en caninos es de 1.5 min, considerablemente inferior que la del fragmento inactivo, (63) y la de GMPc, generado a partir de su acción biológica, es de unos 30 min (64). Las determinaciones de los NP en suero y plasma muestran resultados discrepantes a partir de distintos estudios. Kelliham y otros, observaron concentraciones más altas en muestras séricas en comparación con las plasmáticas, obtenidas de forma pareada a partir de pacientes caninos sanos (65), en contraposición con otros resultados, también en caninos sanos, donde no se observaron diferencias significativas (66).

La secuencia molecular de ANP y BNP, por otra parte, a pesar de estar altamente conservada entre las especies mamíferas, presentan diferencias significativas. Así, por ejemplo, el ANP canino muestra un 87% de homología con el ANP humano (67), mientras que BNP muestra sólo un 43% de homología entre estas especies (68, 17). Esto generó dificultades, en un principio, para determinar los niveles circulantes de los NP, en caninos y felinos, cuando se empleaban test humano específicos. Por esta razón se han desarrollado test caninos y felinos (69) específicos, tanto para los fragmentos activos como residuales de los péptidos ANP (66) y BNP (61) y se encuentran disponibles comercialmente, en la actualidad, por diferentes laboratorios. A pesar de estos recientes ensayos, y de la alta especificidad y sensibilidad que poseen, los mismos son incapaces de distinguir entre las formas circulantes de C-ANP versus proANP, C-BNP versus

proBNP, Nt-proANP versus proANP y Nt-proBNP versus proBNP (22). La razón para esto es que el fragmento activo y el inactivo comparten, cada uno por separado con el polipéptido precursor, los extremos carboxilo terminal y amino terminal, respectivamente. Lo expresado aquí determina que, cuando se cuantifica el fragmento activo por ejemplo, los valores hallados son el resultado de la suma de la fracción activa y del precursor polipeptídico que da origen a la misma (22).

DIAGNÓSTICO DE CARDIOPATÍAS

En los últimos años los NP ocupan un lugar destacado dentro del diagnóstico de las cardiopatías humanas. Su determinación es recomendada como uno de los primeros pasos del examen clínico cardiológico (70, 71, 72, 73) y es utilizada, a su vez, como guía para evaluar el tratamiento y el pronóstico en esos pacientes (74, 75, 76, 77, 78, 79). Las investigaciones recientes en medicina veterinaria, por su parte, proporcionan nuevas perspectivas en la evaluación de la función cardíaca del perro y el gato. A continuación exponemos los principales hallazgos y utilidad clínica en estas especies.

CARDIOPATÍAS EN CANINOS

En pacientes caninos los NP permiten realizar el diagnóstico, evaluación y monitorear el tratamiento de la enfermedad cardíaca (60), con ciertas limitaciones puntuales. Los niveles sanguíneos de C-ANP (80, 81), Nt-proANP (66), C-BNP (82) y Nt-proBNP (83) permiten diferenciar caninos con enfermedad cardíaca, \geq Clase II de la International Small Animal Cardiac Health Council Heart Failure Classification (ISACHC), de caninos sanos correlacionándose, dicha concentración, con el grado de murmullo cardíaco, los hallazgos en el examen físico, radiológico y ecocardiográfico. Permiten distinguir, a su vez, entre caninos con insuficiencia cardíaca congestiva, Clase II ó III (ISACHC), de pacientes con enfermedad cardíaca sin signos de congestión (84, 85, 17, 82, 60). La concentración de los NP, de igual forma, se encuentra más elevada en pacientes Clase II con enfermedad cardíaca activa que en pacientes Clase II con enfermedad cardíaca compensada, sugiriendo que la concentración de los NP (Nt-proBNP) disminuye en respuesta al tratamiento (60) y aumenta significativamente a medida que se hace más severa la enfermedad cardíaca (86, 60, 66). En estos pacientes, por otra parte, las concentraciones de C-BNP (87), Nt-proANP (87) y Nt-proBNP (88) permiten distinguir si las causa de tos y disnea, obedecen a un origen cardíaco o no cardíaco (pulmonar). En pacientes Clase Ia (ISACHC), por otro lado, la concentración de los NP (Nt-proBNP) es comparativamente inferior

que en pacientes caninos Clase Ib (pacientes con enfermedad cardíaca subclínica con exámenes complementarios que evidencian la presencia de enfermedad cardíaca). Es, en la sensibilidad de los NP en estos últimos pacientes, donde se presentan la zona más gris de la utilidad de este biomarcador. Los valores de corte establecidos por los distintos laboratorios son claramente eficaces en distinguir caninos sanos de los Clase II y III, pero en los Clase I, tanto a como b, se encuentra una proporción importante de falsos positivos y negativos, que no hacen posible, hasta el momento, su uso como único medio para realizar el diagnóstico de enfermedad cardíaca con certeza. Esta variabilidad puede obedecer a causas raciales (60) ó a factores que deben ser más profundamente estudiados como la edad, el sexo, etc. (89).

Dentro de las principales patologías cardíacas, que afectan a los caninos domésticos, los NP también presentan hallazgos significativos. En pacientes con enfermedad valvular crónica (CVD) las concentraciones de los NP (Nt-proANP/Nt-proBNP) permiten diferenciar entre caninos con severa regurgitación mitral y aquellos con leve a moderada regurgitación mitral (66, 90). Cuando los pacientes con CVD presentan, a su vez, insuficiencia cardíaca congestiva se manifiesta una positiva correlación entre la concentración de los NP circulantes y la severidad de la patología valvular, el grado de mortalidad y el tamaño del jet de regurgitación (81, 82, 90). Las concentraciones de los NP (Nt-proBNP), por ejemplo, para los estadios clase Ia, Ib, II y IIIa (ISACHC) fueron de 302,8 +/- 257,1, 634,2 +/- 642,5, 1277,9 +/- 756,2 y 1908,9 +/- 538,8 pmol/l, respectivamente. Esto pone en evidencia que la concentración en pacientes grado Ib, o más grave, fue significativamente más alta que en los controles sanos y que en pacientes asintomáticos con exámenes complementarios normales. La misma aumenta progresivamente, a su vez, con la severidad de la insuficiencia cardíaca y se asocia con la clasificación del estado de la función cardíaca realizada por la ISACHC (89). En pacientes con soplos cardíacos de grado 1/6 a 2/6, por otra parte, no se observaron diferencias significativas en la concentración de los NP (Nt-proBNP) comparada con los controles sanos. En caninos con soplos 3/6 o mayores, en cambio, la concentración de NP fue significativamente más elevada que en los controles sanos y se correlacionó positivamente con la intensidad del soplo cardíaco (89). La concentración circulante (Nt-proBNP) se correlacionó positivamente con la frecuencia cardíaca, la frecuencia respiratoria, el tamaño cardíaco vertebral (VHS), la relación Ao/AI (89), la relación Ao/DVID, la relación Ao/DVIS, la uremia, la creatinemia y negativamente con la cloremia en estos pacientes (60, 90). De esta manera, los

hallazgos en el diagnóstico por imágenes y los niveles de los NP (Nt-proBNP) se asocian positivamente con la severidad de la CVD (89). En este tipo de patología, por último, la concentración de los NP (Nt-proBNP) fue significativamente mayor en pacientes con hipertensión pulmonar asociada a insuficiencia valvular mitral comparada con caninos sanos y disminuyó significativamente a partir de la terapia con pimobendan en la primeras etapas de tratamiento. Información reciente sugiere que, además, caninos con hipertensión pulmonar asociada a patología cardíaca o no, presentan concentraciones de NP (Nt-proBNP) significativamente más elevadas en comparación con pacientes caninos afectados de enfermedades respiratorias primarias (88, 60, 90). Esta hipótesis se refuerza al observar que en caninos con insuficiencia cardíaca el inhibidor específico de la PDE₅, Sildenafil, mejoró los efectos hemodinámicos de los NP exógenos (C-BNP) en la circulación pulmonar. Estos hallazgos soportan la idea del rol de la PDE₅ como desensibilizante de la acción de los NP sobre su actividad en la vasculatura sistémica (91). Esta última actividad sumada a la disminución concomitante de la síntesis de GMPc, en pacientes con insuficiencia cardíaca, genera efectos adversos como la disminución de la actividad de los receptores NPR-A, una mayor acción de los receptores NPR-C y un incremento en el catabolismo de GMPc por una mayor producción de PDE₅ (92).

Dentro de las restantes causas de enfermedad cardíaca, presentes en caninos domésticos, se evidencian los mismos hallazgos que para la CVD, pero se presentan particularidades que merecen su consideración. Las concentraciones de C-BNP y Nt-proBNP (60) permiten diferenciar, significativamente, entre las distintas causas de enfermedad cardíaca y muestran que los pacientes con cardiomiopatía dilatada presentan niveles de NP mucho más elevados que aquellos afectados por otras causas de enfermedad cardíaca independientemente de la severidad que presente la patología. En caninos de la raza Bóxer con cardiomiopatía arritmogénica de ventrículo derecho, una variante de cardiomiopatía dilatada, la concentración de NP (C-BNP) se halla sensiblemente más baja cuando se la compara con los niveles circulantes de NP presentes en otras razas caninas con cardiomiopatía dilatada y en similares estadios de la enfermedad (93). En caninos Doberman Pinschers, con cardiomiopatía dilatada idiopática, en cambio, la concentraciones de los NP (C-ANP/Nt-proBNP) se hallan significativamente más elevadas en comparación con caninos de otras razas gigantes con esta misma afección (94, 95). Otros estudios realizados en una colonia de Golden retriever con miocardiopatía distrófica oculta mostraron, además, un incremento en los niveles circulantes de

C-BNP cuando se comparaba a estos pacientes con controles sanos (96). En modelos caninos experimentales de estenosis aórtica, que originan cambios a nivel miocárdico, se observó que las concentraciones de C-ANP se incrementa en forma temprana ante sobrecargas de volumen y/o presión sobre las cámaras cardíacas, en cambio, C-BNP se eleva más lentamente pero de forma constante y sus niveles se correlacionan significativamente con las alteraciones halladas a partir del examen ecocardiográfico (97). Estas observaciones concuerdan con las halladas en pacientes humanos, con enfermedad cardíaca, en donde una de las mayores causas de incremento de C-BNP es el aumento del estrés parietal que sufre la pared ventricular izquierda al final de la diástole (98). Así, en estos modelos caninos, la presión diastólica final del ventrículo izquierdo y el espesor del septum interventricular en diástole son predictores de la concentración de los NP (Nt-proBNP) (97). El taponamiento cardíaco, por último, no presenta niveles significativos de C-BNP que permitan diferenciarlo de un paciente sano y/o de pacientes con enfermedad cardíaca asintomática leve a moderada. Iguales hallazgos se han obtenido en pacientes humanos (99).

CARDIOPATÍAS EN FELINOS

La asociación entre las cardiopatías felinas y los NP presentan una relación similar a la observada en los caninos pero con ciertas particularidades propias de la especie. Los niveles de los NP (Nt-proANP y Nt-proBNP) han demostrado su utilidad para diferenciar entre pacientes felinos con enfermedad cardíaca de pacientes felinos sanos (100, 101, 97). En un ensayo apareado, entre los dos péptidos mencionados anteriormente y que hace hipotetizar que las formas activas se comportan de manera similar, se observó que ambos resultan útiles para diferenciar pacientes felinos con enfermedad cardíaca sintomática de felinos sanos con una diferencia significativa ($P = 0.011$) a favor de Nt-proBNP. En este estudio, las concentraciones halladas de Nt-proANP no presentaron la misma sensibilidad que los niveles de Nt-proBNP para distinguir entre felinos con enfermedad cardíaca sin signos de insuficiencia cardíaca congestiva de felinos sanos, arrojando un número no menor de falsos negativos. Las razones probables, para esta última desventaja, se pueden fundamentar en el grado variable de distensión o estrés parietal que soportan los atrios cardíacos en la enfermedad cardíaca asintomática en comparación con las significativas alteraciones que sufren los mismos en la insuficiencia cardíaca congestiva (102, 100). En pacientes felinos con insuficiencia cardíaca congestiva se presenta siempre un estímulo importante, sobre la pared atrial, que induce una síntesis significativa de Nt-proANP, mejorando

la sensibilidad del mismo frente a felinos asintomáticos y sanos (101). Es decir, Nt-proBNP es significativamente superior a Nt-proANP para diferenciar entre felinos con enfermedad cardíaca asintomática y felinos sanos (101). La concentración de este último, en pacientes felinos con cardiomiopatía hipertrófica, se ha encontrado estar aumentada unas 10 veces en comparación con felinos sanos. Este importante aumento, es generado como resultado del incremento en la expresión miocárdica de proBNP, pero no de Nt-proANP, tanto en atrios como en ventrículos cardíacos (102, 103). Hallazgos similares se han encontrado en pacientes felinos con insuficiencia cardíaca congestiva, independientemente de la causa de la misma (104). La remodelación crónica del ventrículo izquierdo, en pacientes con cardiomiopatía hipertrófica, es el estímulo para el aumento progresivo en la síntesis de proBNP (101). El valor de corte observado en felinos, por ejemplo para Nt-proBNP, que permite distinguir entre felinos sanos de felinos con enfermedad cardíaca presenta una concentración de 49 fmol/ml (Feline Cardioscreen Nt-proBNP Guilday Ltd, Biomedica Guildford, Surrey, UK) con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 83,3% (101). Aumentos en la concentración de los péptidos natriuréticos han sido identificados en pacientes humanos con cardiomiopatía hipertrófica (105), estando, en estos casos, la concentración de Nt-proBNP correlacionada positivamente con el grado de severidad del proceso hipertrófico (9), asociado al aumento espesor de la pared libre del ventrículo izquierdo (100).

Los niveles de los NP (Nt-proBNP) permiten diferenciar entre causas de disnea de origen cardíaco de aquellas de origen no cardíaco o respiratorio (106). La concentración del mismo se encuentra significativamente más elevada, de esta forma, en felinos con enfermedad cardíaca que en felinos con enfermedad respiratoria primaria (107). La concentración de los NP, por otra parte, no tuvo diferencias significativas entre machos y hembras con insuficiencia cardíaca o entre las distintas causas de insuficiencia cardíaca, pero se correlaciona negativamente con la edad en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva y positivamente con el aumento de espesor del septum interventricular y de la pared libre al final de la diástole (107). Por último, la concentración de Nt-proBNP, se correlaciona con el peso corporal, el diámetro ventricular sistólico y diastólico, la fracción de acortamiento, el tamaño cardíaco vertebral, la concentración sérica de tiroxina, creatinina, urea y Troponina I (107).

ACTIVIDAD EN ÓRGANOS NO MIO-CÁRDICOS

Los NP, como se mencionó en los primeros párrafos, juegan un importante rol en la regu-

lación de la homeostasis cardiovascular y renal (28). Modificaciones en la función de órganos no miocárdicos o variables sistémicas, como el riñón (108) y la presión arterial (109) respectivamente, alteran los niveles circulantes de los NP, de manera independiente de la función cardíaca. En caninos la concentración de los NP se correlaciona con la función renal (108). En estos pacientes, con insuficiencia renal crónica, los niveles de NP (Nt-proBNP) se hallaron 2 veces más elevados comparados con caninos sanos (80), en concordancia con estudios realizados en humanos con C-BNP (110). En estos últimos se observó una fuerte correlación negativa con el grado de filtración glomerular (111, 112, 113) y que, además, las mismas están afectadas por el índice de masa corporal y la edad del paciente (114). En recientes estudios realizados en caninos y felinos, se demostró que la concentración de los NP se correlaciona positivamente con los niveles séricos de urea y creatinina, tanto, en pacientes caninos sanos como en los que presentan enfermedad renal, enfermedad cardíaca (66) o cuando se presentan ambas disfunciones juntas. La función renal, por lo tanto, puede influenciar los valores de corte para el diagnóstico de enfermedades cardíacas puras y/o mixtas. La concentración de los NP (Nt-proBNP) se correlaciona, a su vez, significativa y positivamente con la edad y la severidad de la enfermedad renal en felinos (109), de manera similar a lo que se presenta en pacientes humanos gerontes o con insuficiencia renal (80).

La presión sistémica es otra variable orgánica que incide sobre la concentración circulante de los NP. Los niveles séricos de NP (Nt-proANP y Nt-proBNP) se correlacionan positivamente con la presión arterial sistólica en felinos domésticos (109) y sus determinaciones permiten diferenciar entre pacientes normotensos con enfermedad renal crónica, de hipertensos con enfermedad renal crónica y de pacientes felinos sanos. En lo que respecta a las distintas determinaciones utilizadas, sólo Nt-proBNP fue estadísticamente significativo para diferenciar felinos normotensos de hipertensos, ambos con enfermedad renal crónica, estando más elevada en los últimos. De esta manera, tanto la hipertensión arterial como las patologías renales producen aumentos en la concentración de los NP (109).

DISCUSIÓN: RELACIÓN CON VARIABLES CONSTITUTIVAS

Los niveles circulantes de NP, publicados en los distintos ensayos hasta el momento, se han asociado con resultados diferentes a las variables constitutivas y raciales. En lo que respecta a las primeras, edad, sexo, estado reproductivo, peso y tamaño corporal, varios ensayos no hallaron

correlación entre estas y la concentración sérica o plasmática de los NP (Nt-proBNP) tanto en pacientes con enfermedad cardíaca como en pacientes sanos (115, 66,60, 90, 65). Si, en cambio, observaron diferencias entre caninos de raza pura y mestizos, estando, la concentración de los NP (Nt-proBNP), más elevada en los primeros en la población general sanos-enfermos (60). Por su parte, sobre un estudio en 330 caninos (sanos + enfermos cardíacos + enfermos no cardíacos), De Francesco et al, hallaron diferencias en relación a la edad y el sexo de los pacientes de manera similar a otros ensayos (89). En este, se observó que los machos presentaban niveles $\frac{1}{4}$ más elevados que las hembras en igual forma que los mayores de 8 años con respecto a los menores de 8 años de edad. En pacientes humanos, por su parte, se presentan correlaciones significativas con la edad, el sexo, la raza, la condición corporal y la función renal. Se observan mayores niveles en mujeres que en hombres y en adultos que en jóvenes (116, 117, 118). Es importante mencionar que estos últimos estudios son multicéntricos y con un muestreo muy amplio.

La obesidad en estos pacientes, se correlaciona negativamente, a su vez, con la concentración de los NP a causa, probablemente, de una disminución en la síntesis o secreción de los NP (Nt-proBNP) (119). En caninos de la raza Cavalier King Charles Spaniels con regurgitación mitral adquirida se observa una relación inversa entre el peso corporal y las concentraciones de los NP (Nt-proANP - Nt-proBNP). La razón para estos hallazgos es probablemente la pérdida ponderal que sufren estos pacientes a causa de la enfermedad cardíaca (90).

Por último, se observa una amplia variabilidad individual y semanal, en las concentraciones de los NP (Nt-proBNP) en caninos sanos (65). Estos hallazgos concuerdan con resultados obtenidos en pacientes humanos (120), en los cuales las variaciones diarias en los niveles de los NP (Nt-proBNP) son hasta del 50%, en pacientes con enfermedad cardíaca compensada pudiendo claramente influir en la interpretación de los resultados (121). Estas mismas variaciones en caninos quedan aún por ser estudiadas al igual que la relación con variables constitutivas y raciales.

PERSPECTIVAS

En los Estados Unidos, se ha aprobado, recientemente, el uso comercial de una forma recombinante de BNP en medicina humana (nesitide, Scios Inc. Fremont, CA) para el tratamiento de pacientes con insuficiencia cardíaca crónica. Varias investigaciones han demostrado que la administración EV (122) o SC (123), de esta droga, incrementa la concentración plasmática de BNP, disminuye la presión arterial pulmonar

y sistémica, aumenta la filtración glomerular, reduce las presiones camerales ventriculares e incrementa los índices cardíacos sin producir una activación neurohumoral y/o generar tolerancia a la administración de la droga (124). La combinación de BNP comercial y un inhibidor específico de la PDE₅ (Sildenafil) en estos mismos pacientes, a su vez, ha presentado mejorías clínicas prometedoras (124). Estos hallazgos, realizados a partir de modelos animales caninos, resultan clínicamente relevantes para su inclusión en protocolos terapéuticos en las distintas afecciones cardíacas de los animales de compañía, ya que la administración exógena de C-BNP, en caninos con insuficiencia cardíaca, ha logrado aumentar los niveles de NP circulantes (125). Nuevos trabajos de investigación en caninos y felinos son precisos para determinar si los efectos beneficiosos observados en pacientes humanos se presentan en los animales de compañía con enfermedad cardíaca.

CONCLUSIONES

Utilizados en conjunción con otros estudios diagnósticos complementarios, la determinación de los niveles circulantes de los NP, proveen sólidas evidencias para refutar o confirmar un diagnóstico de insuficiencia cardíaca en pacientes caninos y felinos. Y, al incrementar con el grado o severidad de la insuficiencia cardíaca, presentan una potencial utilidad para realizar el monitoreo terapéutico y el pronóstico en estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wilkins MR, Redondo J, Brown LA. The natriuretic-peptide family. *Lancet*. 1997;349:1307-1310
2. Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. *N Engl J Med*. 1998;339:312-328
3. Turk JR. Physiologic and pathophysiologic effects of natriuretic peptides and their implications in cardiopulmonary disease. *J Am Vet Med Assoc*. 2000;216:1970-1976
4. Sisson DD. Neuroendocrine evaluation of cardiac disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2004;34:1105-1026
5. Boerrigter G, Costello-Boerrigter LC, Harty GJ, et al. Des-serine-proline brain natriuretic peptide 3-32 in cardiorenal regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;292:R897-R901.
6. Boerrigter G, Burnett JC Jr. Recent advances in natriuretic peptides in congestive heart failure. *Expert Opin Investig Drugs*. 2004;13:643-652.
7. Tamura N, Ogawa Y, Chusho H, et al. Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:4239-4244.
8. De Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg A. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci*. 1981;28:89-94.

9. Oikawa S, Imai M, Ueno A, et al. Cloning and sequence analysis of polypeptide. *Nature*. 1984;309:724-726
10. Saito Y, Nakao K, Itoh H, et al. Brain natriuretic peptide is a novel cardiac hormone. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;158:360-368.
11. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990;168:863-870.
12. De Bold AJ. Tissue fractionation studies on the relationship between an atrial natriuretic factor and specific atrial granules. *Can J Physiol Pharm*. 1982;60:324-330
13. Canaff L, Brechler V, Reudelhuber TL, et al. Secretory granule targeting of atrial natriuretic peptide correlates with its calcium-mediated aggregation. *Proc Nat Acad Sci Unit Sta Am*. 1996;93:9483-9487
14. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988;332:78-81
15. Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, et al. Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans: evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *J Clin Invest*. 1991;87:1402-1412.
16. Magga J, Vuolteenabo O, Tokola H, et al. Involvement of transcriptional and posttranscriptional mechanisms in cardiac overload-induced increase of B-type natriuretic peptide gene expression. *Circ Res*. 1997;81:694-702.
17. Asano K, Murakami M, Endo D, et al. Complementary DNA cloning, tissue distribution, and synthesis of canine brain natriuretic peptide. *Am J Vet Res*. 1999;60:860-864.
18. Clavell A, Stingo A, Wei CM, et al. C-type natriuretic peptide: a selective cardiovascular peptide. *Am J Physiol Reg Integrative Comp Physiol*. 1993;264:R290-R295.
19. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation*. 1994;90:195-203.
20. Schellenberger U, O'Rear J, Guzzetta A, et al. The precursor to B-type natriuretic peptide is an O-linked glycoprotein. *Arch Biochem Biophys*. 2006;451:160-166.
21. Giuliani I, Rieunier F, Larue C, et al. Assay for measurement of intact B-type natriuretic peptide pro-hormona in blood. *Clin Chem*. 2006;52:1054-1061.
22. Liang F, O'Rear J, Schellenberger U, et al. Evidence for functional heterogeneity of circulating B-type natriuretic peptide. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1071-1078.
23. Yan W, Wu F, Morser J, Wu Q. Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:8525-8529.
24. Hooper JD, Scarman AL, Clarke BE, et al. Localization of the mosaic transmembrane serine protease corin to heart myocytes. *Eur J Biochem*. 2000;267:6931-6937.
25. Seilhamer JJ, Arfsten A, Miller JA, et al. Human and canine gene homologs of porcine brain natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;165:650-658.
26. Goetze JP. Biochemistry of pro-B-type natriuretic peptide-derived peptides: the endocrine heart revisited. *Clin Chem*. 2004;50:1503-1510.
27. Shimizu H, Masuta K, Aono K, et al. Molecular forms of human brain natriuretic peptide in plasma. *Clin Chim Acta*. 2002;316:129-135.
28. Goetze JP, Rehfeld JF, Videbeck R, et al. B-type natriuretic peptide and its precursor in cardiac venous blood from failing hearts. *Eur Heart Fail*. 2005;7:69-74.
29. Maack T. The broad homeostatic role of natriuretic peptides. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2006;50:198-207.
30. Hogenhuis J, Voors AA, Jaarsma T, et al. Anemia and renal dysfunction are independently associated with BNP and Nt-proBNP levels in patients with heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2007;9:787-794.
31. Brandt I, Lambeir AM, Ketelslegers JM, et al. Dipeptidyl-peptidase IV converts intact B-type natriuretic peptide into its des-serine form. *Clin Chem*. 2006;52:82-87.
32. Sabrane K, Kruse MN, Fabritz I, et al. Vascular endothelium is critically involved in the hypotensive and hypovolemic actions of atrial natriuretic peptide. *J Clin Invest*. 2005;115:1666-1674.
33. Cataliotti A, Schirger JA, Martin FL, et al. Oral human brain natriuretic peptide activates cyclic guanosine 3'5'-monophosphate and decreases mean arterial pressure. *Circulation*. 2005;112:836-840.
34. Koller K, Goeddel D. Molecular biology of the natriuretic peptide and their receptors. *Circulation*. 1992;86:1081-1088.
35. Richards AM. The rennin-angiotensin-aldosterone system and the cardiac natriuretic peptides. *Heart*. 1996;76:36-44.
36. Holtwick R, Gotthardt M, Skrybin B, et al. Smooth muscle-selective deletion of guanylyl cyclase-A prevents the acute but not chronic effects of ANP on blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:7142-7147.
37. Maack T, Suzuki M, Almeida FA, et al. Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Sci*. 1987;238:675-678.
38. Almeida FA, Suzuki M, Scarborough RM, et al. Clearance function of type C receptors of atrial natriuretic peptide factor in rats. *Am J Physiol*. 1989;256:469-475.
39. Kenny AJ, Bourne A, Ingram J. Hydrolysis of human and pig brain natriuretic peptides, urodilatin, C-type natriuretic peptide and some C-receptor ligands by endopetidase-24-11. *Biochem*. 1993;291:83-88.
40. Ozaki J, Shimizu H, Hashimoto Y, et al. En-

- zymatic inactivation of major circulating forms of atrial and brain natriuretic peptides. *Eur J Pharmacol.* 1999;370:307-312.
41. Zhou HL, Fiscus RR. Brain natriuretic peptide (BNP) causes endothelium-independent relaxation and elevation of cyclic GMP in rat thoracic aorta. *Neuropeptides.* 1989; 14:161-169.
42. Kuhn M. Structure, regulation, and function of mammalian membrane guanylyl cyclase receptors, with a focus on guanylyl cyclase-A. *Circ Res.* 2003;93:700-709.
43. Kuhn M. Molecular physiology of natriuretic peptide signaling. *Basic Res Cardiol.* 2004;99:76-82.
44. Koller KJ, Lowe DG, Bennett GI, et al. Selective activation of the B natriuretic peptide receptor by C-type natriuretic peptide (CNP). *Science.* 1991;252:120-123.
45. Takimoto E, Champion HC, Li M, et al. Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy. *Nat Med.* 2005;11:214-222.
46. Luchner A, Hengstenberg C, Lowel H, et al. Effect of compensated renal dysfunction on approved heart failure markers: direct comparison of brain natriuretic peptide (BNP) and N-terminal pro-BNP. *Hypertension.* 2005;46:118-123.
47. McDowell G, Patterson C, Maguire S, et al. Variability of Nt-proANP and C-ANP. *Eur J Clin Invest.* 2002;32:545-548.
48. Fontana M, Zyw L, Poletti R, et al. Improved early diagnosis of heart failure with B-type natriuretic peptides: comparison between BNP and Nt-proBNP diagnostic accuracy. *Eur J Heart Fail.* 2007;6,14.
49. Pemberton CJ, Johnson ML, Yandle TG, et al. Deconvolution analysis of cardiac natriuretic peptides during acute volume overload. *Hypertension.* 2000;36:355-359.
50. Roncon-Albuquerque R, Vasconcelos M, Lourenco AP, et al. Acute changes of biventricular gene expression in volume and right ventricular pressure overload. *Life Sci.* 2006;78:2633-2642.
51. Luchner A, Muders F, Dietl O, et al. Differential expression of cardiac ANP and BNP in a rabbit model of progressive left ventricular dysfunction. *Cardiovasc Res.* 2001;51:601-607.
52. Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, et al. Insufficient secretion of atrial natriuretic peptide at acute phase of myocardial infarction. *J Appl Physiol.* 2000;89:458-464.
53. Luchner A, Stevens TL, Borgeson DD, et al. Differential atrial and ventricular expression of myocardial BNP during evolution of heart failure. *Am J Physiol.* 1998;247:H1684-H1689.
54. Moro C, Berlan M. Cardiovascular and metabolic effects of natriuretic peptides. *Fundam Clin Pharmacol.* 2006;20:41-49.
55. Moe GW, Grima EA, Wong NL, et al. Plasma and cardiac tissue atrial and brain natriuretic peptides in experimental heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27:720-727.
56. Ma KK, Banas K, de Bolt AJ. Determinants of inducible brain natriuretic peptide promoter activity. *Regul Pept.* 2005;128:169-176.
57. Rodeheffer RJ. Measuring plasma B-type natriuretic peptide in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44:740-749.
58. Berger R, Huelsman M, Strecker K, et al. B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 2002;105:2392-2397.
59. Goetze JP, Kastrup J, Rehfeld JF. The paradox of increased natriuretic hormones in congestive heart failure patients: does the endocrine heart also fail in heart failure. *Eur Heart J.* 2003;24:1471-1472.
60. Oyama MA, Fox PR, Rush JE, et al. Clinical utility of serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentration for identifying cardiac disease in dogs and assessing disease severity. *J Am Vet Med Assoc.* 2008;232:1496-1503.
61. Schellenberg S, Grenacher B, Kaufmann K, et al. Analytical validation of commercial immunoassays for the measurement of cardiovascular peptides in the dogs. *Vet J.* 2008;178:85-90.
62. Buckley MG, Marcus NJ, Yacoub MH. Cardiac peptide stability, aprotinin and room temperature: Importance for assessing cardiac function in clinical practice. *Clin Sci (London).* 1999;97:689-695.
63. Thomas CJ, Woods RL. Haemodynamic action of B-type natriuretic peptide substantially outlasts its plasma half-life in conscious dogs. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2003;30:369-372.
64. Blonde L, Wehmann RE, Steiner AL. Plasma clearance rates and renal clearance of ³H-labeled cyclic AMP and ³H-labeled cyclic GMP in the dog. *J Clin Invest.* 1974;53:163-172.
65. Kellihan HB, Oyama MA, Reynolds CA, et al. Weekly variability of plasma and serum Nt-proBNP measurements in normal dogs. *J Vet Cardiol.* 2009;11:593-597.
66. Boswood A, Dukes-McEwan J, Loureiro J, et al. The diagnostic accuracy of different natriuretic peptide in the investigation of canine cardiac disease. *J Small Anim Pract.* 2008;49:26-32.
67. Liu ZL, Wiedmeyer CE, Sisson DD, Solter PF. Cloning and characterization of feline brain natriuretic peptide. *Gene.* 2002;292:183-190.
68. Oikawa S, Imai M, Inuzuka C, et al. Structure of dog and rabbit precursors of atrial natriuretic polypeptides deduced from nucleotide sequence of cloned cDNA. *Biochem Biophys Res Commun.* 1985;132:892-899.
69. Biondo AW, Liu ZL, Wiedmeyer CE, et al. Genomic sequence and cardiac expression of atrial natriuretic peptide in cats. *Am J Vet Res.* 2002;63:236-240.
70. Doust JA, Glasziou PP, Pietrzak E, et al. A systematic review of the diagnostic accuracy of natriuretic peptides for heart failure. *Arch Intern Med.* 2004;164:1978-1984.
71. Swedberg K, Cleland J, Dargie H, et al. Guidelines

for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2005;26:1115-1140.

72. Takase H, Toriyama T, Sugiura, et al. Brain natriuretic peptide detects cardiac abnormalities in mass screening. *Eur J Clin Invest*. 2007;37:257-262.

73. Issac DL. Biomarkers in heart failure management. *Curr Opin Cardiol*. 2008;23:127-133.

74. Silver MA, Maisel A, Yancy CW, et al. Consensus Panel 2004: a clinical approach for the diagnostic, prognostic, screening, treatment monitoring, and therapeutic roles of natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Congest Heart Fail*. 2004;10(3):1-30.

75. Doust JA, Pietrzak E, Dobson A, et al. How well does B-type natriuretic peptide predict death and cardiac events in patients with heart failure. *Systematic Review*. *BMJ*. 2005;330:625-633.

76. Jourdain P, Jondeau G, Funck F, et al. Plasma brain natriuretic peptide-guide therapy to improve outcome in heart failure: the STARS BNP Multicenter Study. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1733-1739.

77. Mueller C, Breidthardt T, Laule-Kilian K, et al. The integration of BNP and Nt-proBNP into clinical medicine. *Swiss Med Wkly*. 2007;134:4-12.

78. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *N Engl J Med*. 2008;358:2148-2159.

79. Hinderliter AL, Blumenthal JA, O'Conner C, et al. Independent prognostic value of echocardiography and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients with heart failure. *Am Heart J*. 2008;156:1191-1195.

80. Vollmar AM, Reusch C, Kraft W, et al. Atrial natriuretic peptide concentration in dogs with congestive heart failure, chronic renal failure, and hyperadrenocorticism. *Am J Vet Res*. 1991;52:1831-1834.

81. Greco DS, Biller B, Van Liew CH, et al. Measurement of plasma atrial natriuretic peptide as an indicator of prognosis in dogs with cardiac disease. *Can Vet J*. 2003;44:293-297.

82. MacDonald KA, Kittleson MD, Munro C, et al. Brain natriuretic peptide concentration in dogs with heart disease and congestive heart failure. *J Vet Intern Med*. 2003;17:172-177.

83. Oyama MA, Sisson DD, Solter PF. Prospective screening for occult canine dilated cardiomyopathy using B-type and atrial natriuretic peptide and cardiac troponin-I assay. *J Vet Intern Med*. 2005;19:195-196.

84. Haggstrom J, Hansson K, Karlberg BE, et al. Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in relation to severity of mitral regurgitation in Cavalier King Charles Spaniels. *Am J Vet Res*. 1994;55:698-703.

85. Haggstrom J, Hansson K, Kwart C, et al. Effects of naturally acquired decompensated mitral valve regurgitation on the renin-angiotensin-aldosterone system and atrial natriuretic peptide concentration in dogs. *Am J Vet Res*. 1997;58:77-82.

86. Haggstrom J, Hansson K, Kwart C, et al. Relationship between different natriuretic peptide and severity of naturally acquired mitral regurgitation in dogs with chronic myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol*. 2000;2:7-16.

87. Prosek R, Sisson DD, Oyama MA, et al. Distinguishing cardiac and non-cardiac dyspnea in 48 dogs via plasma atrial natriuretic factor, B-type natriuretic factor, endotelina, and cardiac troponin-I. *J Vet Intern Med*. 2007;21:238-242.

88. Fine DM, Declue AE, Reinero CR. Evaluation of circulating amino terminal-pro-B-type natriuretic peptide concentration in dogs with respiratory distress attributable to congestive heart failure or primary pulmonary disease. *J Am Vet Med Assoc*. 2008;232:1674-1679.

89. Takemura N, Toda N, Miyagawa Y, et al. Evaluation of Plasma N-Terminal Pro-Brain natriuretic Peptide (Nt-proBNP) Concentrations in Dogs with Mitral Valve Insufficiency. *J Vet Med Sci*. 2009;71(7):925-929.

90. Tarnow I, Olsen LH, Kwart C, et al. Predictive value of natriuretic peptides in dogs with mitral valve disease. *Vet J*. 2009;180:195-201.

91. Forfia PR, Lee M, Tunin RS, et al. Acute phosphodiesterase 5 inhibition mimics hemodynamic effects of B-type natriuretic peptide and potentiates B-type natriuretic peptide effects in failing but not normal canine heart. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1079-1088.

92. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptide, their receptors and cGMP-dependent signaling functions. *Endocr Rev*. 2006;27:47-72.

93. Baumwart RD, Meurs KM. Assessment of plasma brain natriuretic peptide concentration in Boxers with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Am J Vet Res*. 2005;66:2086-2089.

94. O'Sullivan ML, O'Grady MR, Minors SL. Plasma big endothelin-1, atrial natriuretic peptide, aldosterone, and norepinephrine concentrations in normal Doberman Pinschers and Doberman Pinschers with dilated cardiomyopathy. *J Vet Intern Med*. 2007;21:92-99.

95. Oyama MA, Sisson DD, Solter PF. Prospective screening for occult cardiomyopathy in dogs by measurement of plasma atrial natriuretic peptide, B-type natriuretic peptide, and cardiac troponin-I concentrations. *Am J Vet Res*. 2007;68:42-47

96. Chetboul V, Tessier-Vetzel D, Escriou C, et al. Diagnostic potential of natriuretic peptides in the occult phase of Golden retriever muscular dystrophy cardiomyopathy. *J Vet Intern Med*. 2004;18:845-850.

97. Hori Y, Tsubaki M, Katou A, et al. Evaluation of Nt-proBNP and CT-ANP as Markers of concentric hypertrophy in dogs with a model of compensated aortic stenosis. *J Vet Intern Med*. 2008;22:1118-1123.

98. Iwanaga Y, Nishi I, Furuichi S, et al. B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:742-748.

99. Leya FS, Arab D, Joyal D, et al. The efficacy of brain natriuretic peptide levels in differentiating constrictive pericarditis from restrictive cardiomyopathy. *J Am Coll*

- Cardiol. 2005;45:1900-1902.
100. Connolly DJ, Soares Magalhaes RJ, Luis Fuentes V, et al. Circulating natriuretic peptide concentrations in cats with respiratory distress [abstract]. *J Vet Intern Med.* 2008;22:719-720.
 101. Connolly DJ, Soares Magalhaes RJ, Syme HM, et al. Circulating Natriuretic Peptides in Cats with Heart Disease. *J Vet Intern Med.* 2008;22:96-105.
 102. Biondo AW, Ehrhart EJ, Sisson DD, et al. Immunohistochemistry of atrial and brain natriuretic peptides in control cats and cats with hypertrophy cardiomyopathy. *Vet Pathol.* 2003;40:501-506.
 103. McGrath MF, de Bold ML, de Bold AJ. The endocrine function of the heart. *Trends Endocrinol Metab.* 2005;16:469-477.
 104. Sisson DD, Oyama MA, Solter PF. Plasma levels of ANP, BNP, epinephrine, norepinephrine, serum aldosterone, and plasma rennin activity in healthy cats and cats with myocardial disease. *J Vet Intern Med.* 2003;17:483-486.
 105. Poutanen T, Tikanoja T, Jaaskelainen P, et al. Diastolic dysfunction without left ventricular hypertrophy is an early finding in children with hypertrophic cardiomyopathy-causing mutations in the beta-myosin heavy chain, alpha-tropomyosin, and myosin binding protein C genes. *Am Heart J.* 2006;151:725-729.
 106. Fox PR, Oyama MA, MacDonald K, et al. Comparison of Nt-proBNP concentration in cats with acute dyspnea from cardiac or respiratory disease [abstract]. *J Vet Intern Med.* 2008;22:719.
 107. Fox PR, Oyama MA, Reynolds C, et al. Utility of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) to distinguish between congestive heart failure and non-cardiac causes of acute dyspnea in cats. *J Vet Cardiol.* 2009;11:S51-S61.
 108. Nishida Y, Morita H, Minamino N, et al. Effects of brain natriuretic peptide on hemodynamic and renal function in dogs. *Japan J Physiol.* 1990;40:531-540.
 109. Lalor SM, Connolly DJ, Elliott J, et al. Plasma concentrations of natriuretic peptides in normal cats and normotensive and hypertensive cats with chronic kidney disease. *J Vet Cardiol.* 2009;11:71-79.
 110. Mueller C, Laule-Kilian K, Scholer A, et al. B-type natriuretic peptide for acute dyspnea in patients with kidney disease: Insights from a randomized comparison. *Kidney Int.* 2005;67:278-284.
 111. Mark PB, Stewart GA, Gansevoort RT, et al. Diagnostic potential of circulating natriuretic peptides in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21:402-410.
 112. Anwaruddin S, Lloyd-Jones DM, Baggish A, et al. Renal function, congestive heart failure, and amino-terminal pro-brain natriuretic peptide measurement. Results from the ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) Study. *J Am Coll Cardiol.* 2006;47(1):91-97.
 113. De Filippi C, Can Kimmenade RR, Pinto YM. Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide testing in renal disease. *Am J Cardiol.* 2008;101(Suppl.):82A-88A.
 114. Sudoh M, Gustafsson F, Kistorp CN, et al. Effects of body mass index and age on N-terminal pro-brain natriuretic peptide are associated with glomerular filtration rate in chronic heart failure patients. *Clin Chem.* 2007;53:1928-1935.
 115. Eriksson AS, Jarvinen AK, Eklund KK, et al. Effect of age and body weight on neurohumoral variables in healthy Cavalier King Charles Spaniels. *Am J Vet Res.* 2001;62:1818-1824.
 116. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, et al. Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:976-982.
 117. Raymond I, Groenning BA, Hildebrandt, et al. The influence of age, sex and other variables on the plasma level of N-terminal pro brain natriuretic peptide in a large sample of the general population. *Heart.* 2003;89:745-751.
 118. Koch AM, Rauh M, Zinc S, et al. Decreasing ratio of plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide according to age. *Acta Paediatr.* 2006;95:805-809.
 119. Bayes-Genis A, De Filippi C, Januzzi Jr JL. Understanding amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide in obesity. *Am J Cardiol.* 2008;101:89-94.
 120. Mlezid'Eril G, Tagnochetti T, Nauti A, et al. Biological variation of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in healthy individuals. *Clin Chem.* 2003;49:1554-1555.
 121. O'Hanlon R, O'Shea P, Ledwidge M, et al. The biologic variability of B-type natriuretic peptide and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in stable heart failure patients. *J Cardiol Fall.* 2007;13:50-55.
 122. Colucci WS, Elkayam U, Horton DP, et al. Intravenous nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure. *N Engl J Med.* 2000;343:246-253.
 123. Chen HH, Grantham JA, Chirger JA, et al. Subcutaneous administration of brain natriuretic peptide in experimental heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:1706-1712.
 124. Chen HH, Huntley BK, Schirger JA, et al. Maximizing the renal cyclic 3'5'-guanosine monophosphate system with type V phosphodiesterase inhibition and exogenous natriuretic peptide: A novel strategy to improve renal function in experimental overt heart failure. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(10):2742-2747.
 125. Lainchbury JG, Burnnett JC Jr, Meyer D, et al. Effects of natriuretic peptides on load and myocardial function in normal and heart failure dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;278:H33-40.