

EL CORAZÓN ENDOCRINO Y EL PROCESO INFLAMATORIO

TSUNEO OGAWA, ADOLFO J. DE BOLD

University of Ottawa Heart Institute, Canadá

Resumen El corazón endocrino, a través de sus hormonas polipéptidas *atrial natriuretic factor* (ANF o ANP) y *brain natriuretic peptide* (BNP), contribuye a regular la precarga y la poscarga cardíacas. Otras importantes funciones se han descubierto recientemente incluyendo interacciones con el sistema inmunológico. Los niveles plasmáticos de BNP, no así los de ANF, aumentan durante un episodio de rechazo agudo del corazón alotransplantado pero retornan a niveles anteriores al episodio de rechazo después de un tratamiento exitoso del tal rechazo. Este fue el primer indicio que involucró el BNP y el sistema inmunológico. Otras patologías que tienen componentes inflamatorios también se ven acompañadas con cambios en la producción del BNP. El aumento del BNP tiene como base el aumento de la actividad transcripcional del gen inducida por citoquinas y sustancias relacionadas. *In vitro* se puede demostrar que este aumento tiende a modular la actividad inmunológica. Inflamación y cambios hemodinámicos co-existen en la mayoría de las enfermedades cardiovasculares y por ende, es posible que sea beneficioso medir las dos hormonas como biomarcadores de cambios de volumen intravascular (ANF) y de estos cambios más inflamación (BNP). Cambios en plasma de ANF relativamente más grandes que aquellos de BNP podrían indicar un deterioro hemodinámico, mientras que cambios importantes en BNP podrían ser indicativos de recrudescimiento del proceso inflamatorio.

Palabras clave: corazón endocrino, ANF, BNP, inflamación

Abstract *The endocrine heart and inflammation.* The endocrine heart produces the polypeptide hormones Atrial Natriuretic Factor (ANF or ANP) and Brain Natriuretic Peptide (BNP). Through the peripheral actions of these hormones the heart contributes to the regulation of the cardiac preload and afterload. More recently, new functions for these hormones have been described including the modulation of the immune response. Plasma levels of BNP but not those of ANF, increase following an acute rejection episode of a cardiac allotransplant but return to levels pre-rejection with successful treatment. This observation constitutes the first observation leading to characterizing the interactions of BNP with the immune response. Several other pathologies with an inflammatory component are now known to be associated with an increase in the production of BNP. Such an increase is due to an increase in the transcriptional activity of the BNP gene induced by cytokines and related substances. *In vitro* investigations have shown that an increase in BNP directly modulates immunological activity. Inflammation and hemodynamic changes co-exist in several cardiovascular diseases and therefore it may be beneficial to measure circulating levels of both ANF and BNP as biomarkers of changes in intravascular volume and of changes in intravascular volume plus inflammation, respectively. Changes in plasma ANF, that are relatively larger than those of BNP, might be an indication of hemodynamic deterioration while important changes in circulating BNP could indicate a worsening of the inflammatory process.

Key words: endocrine heart, ANF, BNP, inflammation

Los péptidos natriuréticos (PNs) asociados con el corazón endocrino son hormonas polipéptidas producidas mayormente por los cardiomiocitos del atrio del corazón en mamíferos y por los cardiomiocitos del atrio y ventrículos del feto mamífero y de vertebrados no mamíferos. Los PNs comparten un anillo de 17 aminoácidos formado por un puente disulfuro. Los PNs llamados factor natriurético

atrial (ANF o ANP) y *brain natriuretic peptide* (BNP) son los productos endocrinos principales cardíacos (cNPs). Un tercer péptido que conforma con la estructura de los cNPs: CNP, carece de la propiedad natriurética y se produce en forma constitutiva en varios tejidos periféricos y en el sistema nervioso central.

Desde el punto de vista hemodinámico clásico, el corazón endocrino regula la precarga y la poscarga cardíaca dada su influencia en la regulación del fluido extracelular a través de acciones en sus blancos fisiológicos que incluyen los riñones, el sistema renina-angiotensina-aldosterona y los tonos simpáticos y parasimpáticos. Sin embargo, otros importantes blancos de acción se han descubierto desde la descripción del descubrimiento del corazón endocrino^{1, 2}.

Recibido: 21-V-2013

Aceptado: 10-VII-2013

Dirección postal: Dr. Adolfo J. de Bold, Cardiovascular Endocrinology Laboratory, University of Ottawa Heart Institute, 40 Ruskin St., Ottawa, Ontario K1Y 4W7, Canada
Fax: (1-613) 761-4265 e-mail: adebold@ottawaheart.ca

cNPs y el rechazo agudo del corazón alotrasplantado human

Mientras investigábamos los niveles en sangre de los cNPs en humanos que habían recibido un trasplante cardíaco, encontramos que durante un episodio de rechazo agudo, los niveles en sangre de BNP pero no los del ANF³ aumentaban significativamente por sobre los niveles observados antes de que se produjera el episodio de rechazo agudo. Esta fue la primera vez que se observaba una regulación descoordinada del ANF y el BNP. Un tratamiento exitoso de tal episodio resultaba en un retorno de los niveles plasmáticos de BNP a los observados antes del rechazo.

En un estudio⁴ donde investigamos 69 pacientes trasplantados, encontramos que los niveles plasmáticos de BNP y amino-terminal proBNP (NT-proBNP) eran significativamente más altos en aquellos pacientes con biopsias de endocardio grado 3 de acuerdo con la clasificación de la *International Society of Heart and Lung Transplantation* (ISHLT) que aquellos con biopsias de ISHLT grados 0-2. En esta investigación también se vio que los valores plasmáticos de ANF no cambiaban. Otros estudios han señalado una asociación entre los niveles plasmáticos de BNP y el grado de rechazo celular⁵⁻¹¹. No así otros estudios que intentaron encontrar niveles absolutos de BNP plasmático indicativos de rechazo¹²⁻¹⁶. Muy posiblemente, la explicación sobre esta discrepancia reside en que en nuestras investigaciones³ el incremento de BNP durante un episodio de rechazo agudo se comparaba con los valores correspondientes antes del episodio en el mismo paciente y de allí que se podía visualizar la influencia del rechazo sobre los niveles plasmáticos individuales de BNP. Otro estudio ha confirmado este punto de vista¹⁷ y significa que para que los niveles de BNP sean útiles para diagnosticar y pronosticar rechazo del corazón trasplantado, la historia y evolución de los niveles plasmáticos de BNP en el paciente individual debe ser conocidas y determinadas en visitas de evaluación.

Teniendo en cuenta que el tratamiento exitoso de rechazos agudos que se obtuvo usando el anticuerpo monoclonal OKT3 que es dirigido contra linfocitos T y que tal tratamiento llevaba los niveles plasmáticos de BNP a niveles pre-rechazo³, adelantamos la hipótesis que la activación de citoquinas era responsable por el aumento específico del BNP plasmático durante tal episodio de rechazo. En efecto, experimentos *in vitro* usando cardiomiocitos ventriculares de corazón neonatal de ratas demostraron que las citoquinas pro-inflamatorias factor de necrosis alfa (TNF α) y la interleuquina-1 beta (IL-1 β) inducen un incremento significativo en el BNP mRNA y en su secreción, lo cual no ocurría con el ANF.

La inhibición de señales por la quinasa p38 MAP usando SB203580 abolió totalmente el incremento de BNP mRNA, la actividad del promotor del gen de BNP y

la secreción que era inducida por la IL-1 β - y el TNF- α . Además, el medio condicionado obtenido de la reacción unidireccional de linfocitos (MLR) mezclados, la cual es un modelo *in vitro* de inmunidad del trasplante, también incrementó la expresión y secreción del BNP pero no la del ANF¹⁸.

En el estudio de trasplantados mencionado anteriormente⁴ no detectamos que los niveles plasmáticos de IL-1 β o TNF- α aumentaran como lo hacía el BNP durante los episodios de rechazo agudo y tampoco tenía el medio condicionado de la reacción MLR niveles detectables de estas citoquinas, lo que sugería que había otras sustancias responsables por el aumento de la expresión del BNP. Sin embargo, estudios llevados a cabo en biopsias de endocardio durante episodios de rechazo agudo han demostrado que la expresión genética de la IL-1 β y del TNF- α está incrementada, lo que sugiere que los niveles plasmáticos de estas citoquinas no reflejan los niveles existentes *in situ*^{19, 20}.

En un estudio llevado a cabo para investigar si otras citoquinas o factores estaban relacionados con la regulación del BNP durante el rechazo agudo del corazón trasplantado, analizamos por *array* de citoquinas plasmáticas de pacientes con y sin rechazo. Encontramos que *Regulated on Activation, Normal T Expressed and Secreted* (RANTES), *Neutrophil Activating Protein-2* (NAP-2), and *Insulin Growth Factor Binding Protein-1* (IGFBP-1) tenían correlaciones significativas con el BNP pero no con el ANF. Estas observaciones se pudieron repetir *in vitro*²¹.

En un estudio por PCR²² en el que se usaron 316 biopsias endocárdicas, se encontró un incremento de RANTES relacionado con rechazo ISHLT grados 2 y 3 que retornó a valores normales después de tratamiento con esteroides. En otro estudio¹⁰ la expresión de 5000 genes fue estudiada por *array* y se relacionó la expresión elevada de BNP asociada con genes involucrados en el remodelado cardíaco, injuria vascular, inflamación y procesos relacionados con el alotrasplante.

BNP y el sistema inmune

Las observaciones descritas en los párrafos anteriores nos llevaron a preguntar si el BNP tendría un efecto sobre el proceso inflamatorio. Para comprobar si este era el caso estudiamos el fenómeno usando la reacción MLR²³. Primero se encontró que la expresión del receptor de PNs tipo A era mayor en la mezcla de linfocitos (MLR) de ratas Brown Norway y Lewis que en los linfocitos de las ratas individuales. La adición de ANF o BNP a la reacción MLR condujo a una disminución significativa de la proliferación que normalmente se ve en este tipo de reacción. Observaciones de otros laboratorios también están en línea con un papel inmunomodulatorio para los cNPs. BNP es sintetizado y segregado por macrófagos y células T que se encuentran infiltrando el miocardio en la

insuficiencia cardíaca y se encontró que tiene propiedades inmunomoduladoras sobre una línea de células derivadas de monocitos humanos demostradas en la producción de oxígeno y nitrógeno reactivos, leucotrieno B₄, prostaglandina E₂, IL-10 y movilidad celular²⁴. Además, el BNP induce apoptosis vía mecanismos asociados con caspasa 3 de células CD8⁺T obtenidas de pacientes trasplantados²⁵. Estos estudios demuestran que, si bien el ANF y el BNP pueden modular la respuesta inmunológica –algo que es de esperar ya que estas dos hormonas comparten el receptor de PN tipo A-, es el BNP el que lleva a cabo esta modulación en virtud de su regulación por varias especies neurohumorales involucradas en la respuesta inmune.

Estudios sobre el BNP circulante en artritis reumatoide (AR) han demostrado altos niveles plasmáticos de amino terminal (NT)-proBNP, proteína C reactiva y TNF α en pacientes sin insuficiencia cardíaca, lo que sugiere que el aumento de NT-proBNP es debido al proceso inflamatorio²⁶. En otro estudio, pacientes con AR sin historia de enfermedad cardíaca mostraron niveles de BNP plasmático más altos que controles²⁷.

En conjunto, los estudios citados implican sin duda alguna a los cPNs con el sistema inmune.

Regulación del gen del BNP a nivel transcripcional en inflamación

El hecho de que el incremento de expresión del BNP en cultivos de cardiomiocitos por el TNF- α y la IL-1 β puede ser bloqueado por la actinomicina D¹⁸ sugiere que el efecto de las citoquinas ocurre a nivel transcripcional. En experimentos en los que se usaron cultivos primarios de cardiomiocitos, transfección de un segmento del promotor de 2.2 kb acoplado a un reportador luciferasa seguido de incubación con TNF- α y IL-1 β resultó en la activación del reportador. El inhibidor SB 203580 de la MAP quinasa p38 inhibió completamente la activación²⁸. En este estudio, mutación de un elemento M-CAT localizado a -97 bp redujo la estimulación por IL-1 β del promotor en solo 60%, lo que sugiere que hay otros elementos involucrados en la estimulación por esta citoquina. La mutación de elementos tales como GATA, situado a -87 bp y M-CATA a -124 bp no afectó la actividad inducida por IL-1 β . La citoquina pro-inflamatoria IL-6 también estimuló la síntesis y secreción de BNP *in vitro* las que fueron inhibidas por actinomicina D²⁹.

El BNP en la miocarditis autoinmune

La inmunización de ratas con cadena pesada de la miosina produce una respuesta aguda autoinmune que tiene características histopatológicas en común con la miocarditis de células gigantes en humanos. En este

modelo de miocarditis, macrófagos y células T CD4⁺ son componentes claves en el desarrollo de la enfermedad³⁰.

En este modelo experimental, TNF- α y IL-1 β mRNA son inducidos en los ventrículos 19 días después de la inmunización y el cociente de peso de corazón a peso corporal se incrementa. Microscópicamente se ve un infiltrado mononuclear y necrosis³¹.

Usando este modelo de miocarditis autoinmune encontramos que los niveles de BNP en plasma incrementan pero no así los de ANF, en una manera reminiscente de lo observado en casos de rechazo agudo de corazón en humanos y sugiriendo que un incremento de los niveles de BNP en plasma sin cambios en los niveles de ANF es indicativo de inflamación *in vivo*³².

El BNP en la sepsis y después de la administración de lipopolisacárido (LPS)

Varias publicaciones indican que los niveles plasmáticos de ANF o BNP incrementan en sepsis o en *shock séptico*³³⁻³⁶. El incremento en cNPs circulantes se debe en parte a disfunción cardíaca, ya que estos niveles están inversamente relacionados a la función cardíaca³⁷⁻³⁹. Sin embargo, se encuentran niveles elevados de BNP en plasma incluso cuando la función cardíaca está preservada^{35, 40, 41}.

Administración de LPS, que es el principal componente bacteriano responsable por la respuesta inmune a la infección por bacterias Gram negativas, a humanos sanos, incrementa el NT-proBNP sin cambios simultáneos en el pulso o la presión arterial⁴² y, en el paciente séptico sin disfunción sistólica, los niveles en BNP plasmático correlacionan con los niveles de CRP e IL-1³⁵. Estos hallazgos son indicaciones adicionales que muestran que los niveles elevados de BNP se encuentran asociados con el proceso inflamatorio con o sin disfunción cardíaca.

Como índice pronóstico de muerte cardíaca, el BNP plasmático fue mejor que el ⁴³. NT-pro BNP plasmático predice aquellos que no sobreviven a una sepsis grave⁴⁴.

En nuestro laboratorio investigamos el mecanismo por el cual el LPS afecta los niveles de expresión de los cNPs usando ratas que fueron inyectadas con esta toxina⁴⁵. Las ratas tratadas de esta manera mostraron un incremento de los niveles en sangre de BNP y de ANF, aunque el aumento de BNP fue mayor que el de ANF. La expresión de BNP en tejido cardíaco aumentó notablemente mientras que la del ANF no lo hizo y no hubo correlación entre los valores del ANF y el BNP. La expresión de MCP-1, MMP-8, TIMP-1, CINC-1, TNF α , ICAM-1 and MIP-3 se correlacionó con la expresión del BNP pero no con la del ANF.

Finalmente, la activación transcripcional del BNP por LPS es mediada por elementos GATA⁴⁶.

Influencia de la inflamación en el uso de los cNPs como biomarcadores

Aunque el ANF y el BNP son regulados diferencialmente en enfermedades que se acompañan con inflamación, estas hormonas son reguladas en forma coordinada en otras afecciones cardiovasculares tales como la insuficiencia cardíaca congestiva, isquemia cardíaca y en la enfermedad cardíaca hipertensiva⁴⁷. En la insuficiencia cardíaca congestiva, TNF- α , IL-1 β y IL-6 aumentan en sangre junto al aumento de la clasificación funcional de la NYHA⁴⁸ lo que indica que la inflamación está involucrada en la mayoría de estas entidades cardiovasculares que se acompañan con cambios hemodinámicos y hormonales. El hecho que BNP sea más influenciado por el proceso inflamatorio que el ANF puede que sea la razón por la que en muchos estudios los niveles de BNP plasmático son marginalmente mejores biomarcadores de pronóstico y diagnóstico que los niveles de ANF. Este concepto se debe tener en cuenta, porque inflamación y cambios hemodinámicos coexisten en la mayoría de las enfermedades cardiovasculares y por ende, es posible que sea beneficioso medir las dos hormonas. Los cambios en plasma de ANF relativamente más grandes que aquellos de BNP podrían indicar un deterioro hemodinámico, mientras que cambios importantes en BNP podrían ser indicativos de recrudescimiento del proceso inflamatorio. Debido a que las intervenciones terapéuticas en estas dos condiciones son diferentes, parecería que la medición simultánea de cNPs está indicada para evaluar al paciente más precisamente.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar.

Bibliografía

- McGrath MF, de Bold AJ. Determinants of natriuretic peptide gene expression. *Peptides* 2005; 26: 933-43.
- McGrath MF, de Bold ML, de Bold AJ. The endocrine function of the heart. *Trends Endocrinol Metab* 2005; 16: 469-77.
- Masters RG, Davies RA, Veinot JP, Hendry PJ, Smith SJ, de Bold AJ. Discoordinate modulation of natriuretic peptides during acute cardiac allograft rejection in humans. *Circulation* 1999; 100: 287-91.
- Ogawa T, Veinot JP, Davies RA, et al. Neuroendocrine profiling of humans receiving cardiac allografts. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 1046-54.
- Almenar L, Hervas I, Martinez-Dolz L, et al. The value of brain natriuretic peptide for the diagnosis of heart transplant rejection. *Transplant Proc* 2002; 34: 174-5.
- Arnau-Vives MA, Almenar L, Hervas I, et al. Predictive value of brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart transplant rejection. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23: 850-6.
- Gardner RS, Chong KS, Murday AJ, Morton JJ, McDonagh TA. N-terminal brain natriuretic peptide is predictive of death after cardiac transplantation. *Heart* 2006; 92: 121-3.
- Hammerer-Lercher A, Mair J, Antretter H, et al. B-type natriuretic peptide as a marker of allograft rejection after heart transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 1444.
- Lindblade CL, Chun DS, Darragh RK, Caldwell RL, Murphy DJ, Schamberger MS. Value of plasma B-type natriuretic peptide as a marker for rejection in pediatric heart transplant recipients. *Am J Cardiol* 2005; 95: 909-11.
- Mehra MR, Uber PA, Walther D, et al. Gene expression profiles and B-type natriuretic peptide elevation in heart transplantation: more than a hemodynamic marker. *Circulation* 2006; 114: 21-6.
- Rossano JW, Denfield SW, Kim JJ, et al. B-type natriuretic peptide is a sensitive screening test for acute rejection in pediatric heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27: 649-54.
- Park MH, Scott RL, Uber PA, Harris BC, Chambers R, Mehra MR. Usefulness of B-type natriuretic peptide levels in predicting hemodynamic perturbations after heart transplantation despite preserved left ventricular systolic function. *Am J Cardiol* 2002; 90: 1326-9.
- Klingenberg R, Koch A, Gleissner C, et al. Determinants of B-type natriuretic peptide plasma levels in the chronic phase after heart transplantation. *Transpl Int* 2005; 18: 169-76.
- O'Neill JO, McRae AT, III, Troughton RW, et al. Brain natriuretic peptide levels do not correlate with acute cellular rejection in De Novo orthotopic heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 416-20.
- Cuppoletti A, Roig E, Perez-Villa F, et al. Value of NT-proBNP determinations in the follow-up of heart transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37: 4033-5.
- Hervas I, Arnau MA, Almenar L, et al. Ventricular natriuretic peptide (BNP) in heart transplantation: BNP correlation with endomyocardial biopsy, laboratory and hemodynamic measures. *Lab Invest* 2004; 84: 138-45.
- Kittleston MM, Skojec DV, Wittstein IS, et al. The change in B-type natriuretic peptide levels over time predicts significant rejection in cardiac transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2009; 28: 704-9.
- Ma KK, Ogawa T, de Bold AJ. Selective upregulation of cardiac brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels by pro-inflammatory cytokines and by conditioned medium derived from mixed lymphocyte reactions via p38 MAP kinase. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36: 505-13.
- Ramsperger-Gleixner M, Spriewald BM, Tandler R, et al. Increased transcript levels of TNF-alpha, TGF-beta, and granzyme B in endomyocardial biopsies correlate with allograft rejection. *Exp Clin Transplant* 2011; 9: 387-92.
- Seto T, Kamijo S, Wada Y, et al. Upregulation of the apoptosis-related inflammasome in cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29: 352-9.
- Meirovich YF, Veinot JP, de Bold ML, et al. Relationship between natriuretic peptides and inflammation: proteomic evidence obtained during acute cellular cardiac allograft rejection in humans. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27: 31-7.
- Fahmy NM, Yamani MH, Starling RC, et al. Chemokine and receptor-gene expression during early and late acute rejection episodes in human cardiac allografts. *Transplantation* 2003; 75: 2044-7.
- de Bold ML, Etchepare A, Martinuk A, de Bold AJ. Cardiac hormones ANF and BNP modulate proliferation in the unidirectional mixed lymphocyte reaction. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29: 323-6.
- Chiurchiu V, Izzi V, D'Aquilio F, Carotenuto F, Di NP, Baldini PM. Brain natriuretic peptide (BNP) regulates the production of inflammatory mediators in human THP-1 macrophages. *Regul Pept* 2008; 148: 26-32.
- Shaw SM, Critchley WR, Puchalka CM, Williams SG, Yonan N, Fildes JE. Brain natriuretic peptide induces CD8+ T cell death via a caspase 3 associated pathway—implications following heart transplantation. *Transpl Immunol* 2012; 26: 119-22.

26. Solus J, Chung CP, Oeser A, et al. Amino-terminal fragment of the prohormone brain-type natriuretic peptide in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 2662-9.
27. Armstrong DJ, Gardiner PV, O'Kane MJ. Rheumatoid arthritis patients with active disease and no history of cardiac pathology have higher brain natriuretic peptide (BNP) levels than patients with inactive disease or healthy control subjects. *Ulster Med J* 2010; 79: 82-4.
28. He Q, LaPointe MC. Interleukin-1beta regulation of the human brain natriuretic peptide promoter involves Ras-, Rac-, and p38 kinase-dependent pathways in cardiac myocytes. *Hypertension* 1999; 33: 283-9.
29. Xia WJ, Huang YY, Chen YL, Chen SL, He JG. Acute myocardial ischemia directly modulates the expression of brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels via inflammatory cytokines. *Eur J Pharmacol* 2011; 670: 7-12.
30. Kodama M, Zhang S, Hanawa H, Shibata A. Immunohistochemical characterization of infiltrating mononuclear cells in the rat heart with experimental autoimmune giant cell myocarditis. *Clin Exp Immunol* 1992; 90: 330-5.
31. Okura Y, Yamamoto T, Goto S, et al. Characterization of cytokine and iNOS mRNA expression in situ during the course of experimental autoimmune myocarditis in rats. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 491-502.
32. Ogawa T, Veinot JP, Kuroski de Bold ML, Georgalis T, de Bold AJ. Angiotensin II receptor antagonism reverts the selective cardiac BNP upregulation and secretion observed in myocarditis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294: H2596-603.
33. Chua G, Kang-Hoe L. Marked elevations in N-terminal brain natriuretic peptide levels in septic shock. *Crit Care* 2004; 8: R248-50.
34. Nikolaou NI, Goritsas C, Dede M, et al. Brain natriuretic peptide increases in septic patients without severe sepsis or shock. *Eur J Intern Med* 2007; 18: 535-41.
35. Shor R, Rozenman Y, Bolshinsky A, et al. BNP in septic patients without systolic myocardial dysfunction. *Eur J Intern Med* 2006; 17: 536-40.
36. Withaut R, Busch C, Fraunberger P, et al. Plasma atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide are increased in septic shock: impact of interleukin-6 and sepsis-associated left ventricular dysfunction. *Intensive Care Med* 2003; 29: 1696-702.
37. Charpentier J, Luyt CE, Fulla Y, et al. Brain natriuretic peptide: A marker of myocardial dysfunction and prognosis during severe sepsis. *Crit Care Med* 2004; 32: 660-5.
38. Hartemink KJ, Twisk JW, Groeneveld AB. High circulating N-terminal pro-B-type natriuretic peptide is associated with greater systolic cardiac dysfunction and nonresponsiveness to fluids in septic vs nonseptic critically ill patients. *J Crit Care* 2011; 26: 108.e1-e8.
39. Roch A. What does high NT-proBNP mean in septic shock patients? A part of the puzzle. *Crit Care* 2007; 11: 122.
40. Burjonrappa SC, Tong AT, Xiao LC, Johnson MM, Yusuf SW, Lenihan DJ. Cancer patients with markedly elevated B-type natriuretic peptide may not have volume overload. *Am J Clin Oncol* 2007; 30: 287-93.
41. Maeder M, Ammann P, Kiowski W, Rickli H. B-type natriuretic peptide in patients with sepsis and preserved left ventricular ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2005; 7: 1164-7.
42. Vila G, Resl M, Stelzeneder D, et al. Plasma NT-proBNP increases in response to LPS administration in healthy men. *J Appl Physiol* 2008; 105: 1741-5.
43. Yucel T, Memis D, Karamanlioglu B, Sut N, Yuksel M. The prognostic value of atrial and brain natriuretic peptides, troponin I and C-reactive protein in patients with sepsis. *Exp Clin Cardiol* 2008; 13: 183-8.
44. Brueckmann M, Huhle G, Lang S, et al. Prognostic value of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with severe sepsis. *Circulation* 2005; 112: 527-34.
45. Ogawa T, de Bold AJ. Uncoordinated regulation of atrial natriuretic factor and brain natriuretic peptide in lipopolysaccharide-treated rats. *Biomarkers* 2012; 17: 140-9.
46. Tomaru KK, Arai M, Yokoyama T, et al. Transcriptional activation of the BNP gene by lipopolysaccharide is mediated through GATA elements in neonatal rat cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34: 649-59.
47. Ramos H, de Bold AJ. Gene expression, processing and secretion of natriuretic peptides: physiologic and diagnostic implications. *Heart Failure Clinics* 2006; 2: 255-68.
48. Testa M, Yeh M, Lee P, et al. Circulating levels of cytokines and their endogenous modulators in patients with mild to severe congestive heart failure due to coronary artery disease or hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 964-71.

Human beings are incalculable and he is a fool who tells himself that he knows what a man is capable of.

Los seres humanos son incalculables y es tonto el que piensa que sabe todo lo de que un hombre es capaz.

William Somerset Maugham

The Book-Bag. En: Great English Short Stories edited by Christopher Isherton, New York: Dell, 1957, p 306