

Perfiles de síntesis y secreción de los péptidos natriuréticos durante la evolución de la hipertrofia cardíaca en ratas hipertensas DOCA-sal

Natriuretic Peptides Synthesis and Secretion Profiles during the Evolution of Cardiac Hypertrophy in DOCA-Salt Hypertensive Rats

CAROLINA S. CERRUDO¹, MARTÍN RODRÍGUEZ FERMEPIN¹, SUSANA CAVALLERO¹, SILVIA L. SAUCEDO¹, CECILIA M. HERTIG², BELISARIO E. FERNÁNDEZ¹

Recibido: 15/10/2010

Aceptado: 15/12/2010

Dirección para separatas:

Carolina S. Cerrudo
Facultad de Farmacia y Bioquímica.
Cátedra de Fisiopatología
Junín 956 - 5º Piso
(C1113AAD) Buenos Aires,
Argentina
Tel./Fax: 54 (011) 4964-8268
e-mail: cerrudocarolina@yahoo.
com.ar

RESUMEN

Durante el desarrollo de la hipertensión arterial, las interacciones entre las sobrecargas de presión y de volumen conducen a diferentes patrones de hipertrofia cardíaca y a un aumento de los péptidos natriuréticos (PN). Los perfiles de síntesis y secreción de ANP y BNP se han investigado en modelos de hipertensión arterial; sin embargo, aún no se ha estudiado la evolución diferencial de estos perfiles durante períodos agudos y crónicos de la hipertrofia cardíaca producida por sobrecarga de volumen. Por este motivo estudiamos ratas Sprague-Dawley con el modelo DOCA-sal a las 2, 4, 6 y 12 semanas, correlacionando la evolución de dichos perfiles con la hipertrofia cardíaca y la hipertensión arterial.

El grado de hipertrofia cardíaca se correlacionó positivamente con la expresión del ANP en el ventrículo izquierdo y con los niveles de ANP en plasma. La expresión del ANP aumentó a las 4 semanas de tratamiento, mientras que la de BNP se incrementó recién a las 6 semanas. Asimismo, el BNP plasmático se incrementó sólo en el grupo con 12 semanas de tratamiento, mientras que el ANP plasmático mostró un aumento a partir de las 2 semanas de tratamiento. Durante el desarrollo de la hipertrofia cardíaca producida en el modelo DOCA-sal, la síntesis y la secreción de los PN responden en forma diferencial, con incremento precoz del ANP. Además, el aumento de éste superó al de BNP en todos los grupos DOCA-sal, lo que permitiría considerar al ANP como un marcador más específico de la sobrecarga de volumen.

REV ARGENT CARDIOL 2011;79:493-499.

Palabras clave >

Péptidos natriuréticos auriculares - ANP - Hipertrofia cardíaca

Abreviaturas >

ANP Péptido natriurético auricular
ARNm Ácido ribonucleico mensajero
BNP Péptido natriurético tipo B
CNP Péptido natriurético tipo C
DOCA Desoxicorticosterona
DS DOCA-sal
PAD Peso de la aurícula derecha
PAI Peso de la aurícula izquierda

Pc Peso corporal
PC Peso del corazón
PN Péptido natriurético
PS Presión sistólica
PVD Peso del ventrículo derecho
PVI Peso del ventrículo izquierdo
RIA Radioinmunoensayo
RV Renovascular

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial puede producir diferentes patrones de remodelación ventricular como resultado de los procesos fisiopatológicos desencadenados a través de una interacción entre las sobrecargas de presión y de volumen. (1-3) En su fase inicial, la hipertrofia cardíaca implica un crecimiento adaptativo de los cardiomiocitos frente al aumento de la demanda funcional. (4) La transición a la hipertrofia patológica

involucra cambios estructurales y funcionales que se acompañan de una reprogramación molecular que retrotrae al fenotipo cardíaco fetal, con una producción mayor de péptidos natriuréticos (PN) por el corazón endocrino y paracrino. (5, 6)

La familia de los PN está constituida básicamente por tres hormonas peptídicas denominadas péptido natriurético auricular (ANP), péptido natriurético tipo B (BNP) y péptido natriurético tipo C (CNP). (7-9) Sus

¹ Cátedra de Fisiopatología, INFIBIOC (Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CONICET

² Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI)-CONICET; Argentina
Este trabajo resultó ganador del premio XXXVI Congreso Argentino de Cardiología

efectos fisiológicos están relacionados con la disminución de la presión arterial a través de la promoción de diuresis, natriuresis y vasodilatación. También ejercen efectos antiinflamatorios e inhiben la fibrosis y el crecimiento hipertrófico del miocardio. (10-12)

La administración de desoxicorticosterona (DOCA) en combinación con una dieta alta en sal más nefrectomía unilateral induce una forma de hipertensión arterial con niveles bajos de renina, que conduce a hipertrofia y remodelación cardíacas, disfunción endotelial, proteinuria y glomerulosclerosis. (13) La hipertensión desarrollada se caracteriza por expansión del volumen sanguíneo e incremento del volumen minuto cardíaco con la consecuente sobrecarga de volumen. (14)

La síntesis y la secreción de PN se han estudiado ampliamente en diversos modelos de hipertensión arterial como el DOCA-sal (DS), la coartación aórtica y los modelos nefrogénicos, 2 riñones-1 clip y 1 riñón-1 clip. (15-23) Asimismo, se ha postulado su utilidad como biomarcadores de sobrecarga hemodinámica y de gravedad y evolución en diferentes miocardiopatías. (23-26) Sin embargo, no se han establecido claramente los perfiles de expresión, síntesis y secreción cardíaca de los PN a lo largo de la evolución crónica del proceso hipertensivo en el modelo DS, en el que predomina la sobrecarga de volumen.

De acuerdo con estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar en forma cronológica los perfiles de secreción y la variación de la expresión del ARNm del ANP y el BNP en ese modelo, correlacionando las modificaciones encontradas con la evolución de la hipertensión arterial y la hipertrofia cardíaca.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y procedimientos quirúrgicos

Se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho de 180-200 g de peso. Los animales se mantuvieron a temperatura controlada ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas (luz de 07:00 a 19:00) y con libre acceso a la bebida y dieta estándar. Los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con las normas internacionales recomendadas por la Asociación Argentina de Ciencia y Tecnología de Animales de Laboratorio (AACyTAL).

Ratas sometidas a nefrectomía izquierda se estudiaron con el modelo de hipertensión DOCA-sal (DS) a las 2 (DS2), 4 (DS4), 6 (DS6) y 12 (DS12) semanas de tratamiento a través de la administración semanal de desoxicorticosterona (DOCA, 30 mg/kg) por vía subcutánea y el suministro de NaCl 1% como agua de bebida. También se estudiaron sus respectivos grupos controles (sham), denominados Sh2, Sh4, Sh6 y Sh12, a los que se les practicó el acto quirúrgico simulado de apertura y cierre por planos y se administró vehículo y agua como bebida.

Determinación de la presión sistólica

La presión sistólica (PS) se determinó por el método indirecto en la cola de ratas conscientes a las 2, 4, 6 y 12 semanas de tratamiento ($n = 10-19$). Las determinaciones se realizaron utilizando un polígrafo Grass 7B entre las 09:00 y las 13:00 horas luego de 3 días de entrenamiento.

Procesamiento de las muestras de plasma y tejidos

Al cabo de las 2, 4, 6 y 12 semanas se recolectaron muestras de sangre en tubos plásticos con EDTA 15% P/V, por punción de la vena cava inferior a nivel abdominal, para la posterior obtención del plasma. Luego, por esta vía, se inyectó una solución de KCl 1M para inducir arresto diastólico. Se extrajeron los corazones, se lavaron en solución de *buffer* fosfato ($\text{pH} = 7,4$), se secaron y se pesaron. Se disecaron las cavidades cardíacas, se pesaron y se conservaron a -70°C hasta su procesamiento. El *septum* interventricular y el interauricular se incluyeron junto con las cavidades izquierda ventricular y auricular, respectivamente ($n = 10-19$).

Para evaluar la hipertrofia cardíaca se determinaron los pesos: corporal (Pc), del corazón (PC), de los ventrículos izquierdo (PVI) y derecho (PVD) y de las aurículas izquierda (PAI) y derecha (PAD). De esta manera se determinaron los índices de hipertrofia cardíaca (PC/Pc) y los de hipertrofia de cada cavidad (PVI/Pc, PVD/Pc, PAI/Pc, PAD/Pc).

Extracción de ARN y análisis mediante Northern blot

El ARN total se extrajo con Trizol (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) a partir de muestras de aurículas ($n = 4-8$) y ventrículos ($n = 4-8$) y se analizó por *Northern blot*. (16) Se utilizaron las siguientes sondas: 1) un fragmento de ADNc *HindIII/BamHI* de 600 pb de ANP de rata, 2) un fragmento de ADNc *HindIII/XbaI* de 600 pb de BNP de ratón y 3) un fragmento de ADNc *EcoRI* de 1,2 kb de GAPDH humano. La intensidad de las bandas de ANP y BNP se normalizó con respecto a la del ARNm de GAPDH.

Extracción y radioinmunoensayo de ANP y BNP a partir de las muestras de plasma

El ANP y el BNP plasmáticos se extrajeron según Sarda y colaboradores (27, 28) ($n = 4-8$). El radioinmunoensayo (RIA) se realizó utilizando *kits* comerciales para ANP y BNP-45 de rata (Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Burlingame, CA, USA).

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como media $\pm$ error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la prueba de la *t* para realizar las comparaciones entre las medias de los grupos sham y los grupos DS a las distintas semanas de tratamiento. Se empleó también el test de ANOVA de un factor para comparar las medias de los distintos grupos experimentales entre sí (grupos DS a las distintas semanas) con el *software* GraphPad InstatTM (GraphPad Software Inc., San Diego, California, USA) y realizando la posprueba de Tukey-Kramer. Para estudiar correlaciones se utilizó la correlación de Pearson (*r*). Se consideraron significativos valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Evolución temporal de la hipertensión arterial y de la hipertrofia cardíaca

Se observó un incremento de la PS en los grupos experimentales con respecto a los sham a partir de las 2 semanas de tratamiento (153 mm Hg). Este aumento fue variando hasta las 6 semanas, luego de lo cual se estabilizó, con valores similares entre las 6 y las 12 semanas de tratamiento (Figura 1 a).

Si bien todos los grupos DS desarrollaron hipertrofia cardíaca a partir de las 2 semanas de tratamiento (evaluada mediante la relación PC/Pc), a partir de la cuarta semana se observó un incremento dependiente del tiempo (Figura 1 b).

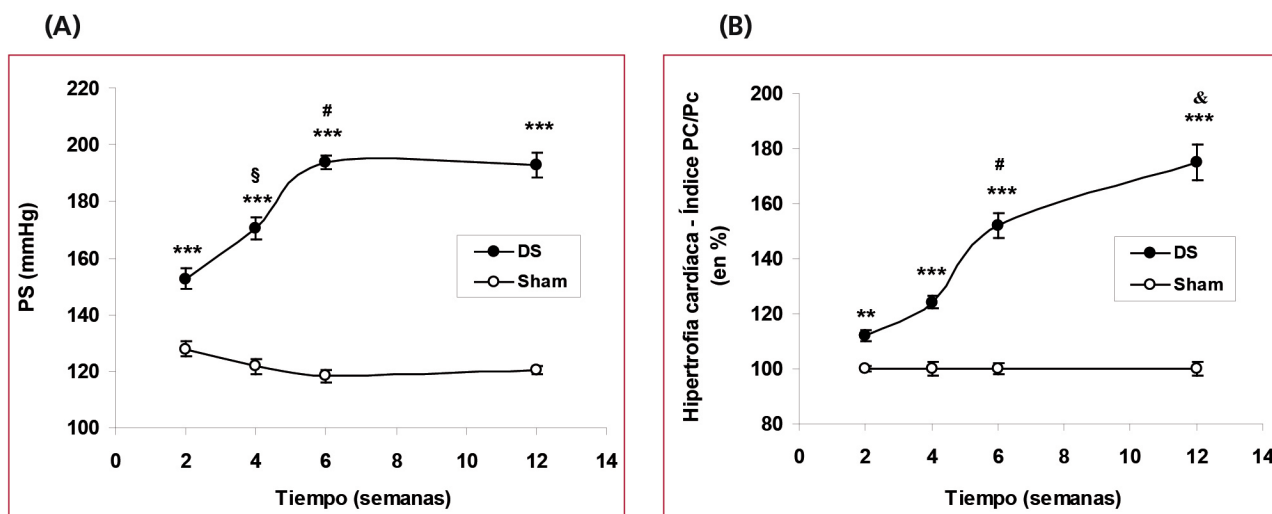


Fig. 1. Variación de la presión sistólica (PS) (panel a) y variación de la hipertrofia cardíaca, determinada por el índice peso corporal/peso del corazón (PC/Pc) (panel b), en función del tiempo de tratamiento (n = 10-19). Panel a: Los valores están expresados como la media $\pm$ EEM. Panel b: Los valores están expresados en porcentaje con respecto al sham correspondiente. * $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$ vs. sham correspondiente; § $p < 0,05$ vs. DS2; # $p < 0,05$ vs. DS4; & $p < 0,05$ vs. DS6.

Cuando se determinaron los índices relativos de crecimiento hipertrófico de las cavidades cardíacas (Tabla 1), se observó que la respuesta hipertrófica en el ventrículo izquierdo (PVI/Pc) se manifestó tempranamente a partir de las 2 semanas, se mantuvo estable a las 4 y 6 semanas y se incrementó de manera notoria a las 12 semanas. Respecto del ventrículo derecho, el índice PVD/Pc tuvo un incremento más tardío, observándose un aumento significativo recién a las 6 y 12 semanas, con valores mayores en el último período. Por su parte, la remodelación auricular se manifestó en la aurícula izquierda (índice PAI/Pc) a partir de las 4 semanas y en la aurícula derecha (índice PAD/Pc) a partir de las 6 semanas; ambos índices mostraron un aumento dependiente del tiempo (Tabla 1).

Expresión del ARNm del ANP y BNP en el ventrículo izquierdo

El ARNm de ANP se incrementó en forma moderada en el ventrículo izquierdo a partir de las 2 semanas y alcanzó valores estadísticamente significativos a las 4 semanas; a partir de este momento, la expresión del ARNm evidenció un incremento dependiente del tiempo (Figura 2 a). Por su parte, los cambios en la expresión de BNP fueron más moderados y se verificaron más tardíamente con incrementos estadísticamente significativos sólo en los grupos DS6 y DS12; la expresión fue mayor a las 12 semanas (Figura 2 b).

Perfil de secreción de ANP y de BNP en plasma

El BNP plasmático aumentó significativamente en el modelo DS sólo a las 12 semanas de tratamiento (Figura 3 a). Sin embargo, el incremento del ANP plasmático fue más precoz, observándose aumentos a partir de las 2 semanas de tratamiento (Figura 3 b).

Tabla 1. Hipertrofia de las diferentes cavidades cardíacas

Hipertrofia de las cavidades cardíacas (expresado en %)				
Grupos	PVI/Pc	PVD/Pc	PAI/Pc	PAD/Pc
Sh2	100 $\pm$ 3,5	100 $\pm$ 7,8	100 $\pm$ 6,4	100 $\pm$ 7,8
DS2	112 $\pm$ 1,6*	109 $\pm$ 9,6	115 $\pm$ 4,1	110 $\pm$ 4,8
Sh4	100 $\pm$ 3,5	100 $\pm$ 4,8	100 $\pm$ 3,7	100 $\pm$ 5,9
DS4	128 $\pm$ 4,3**	102 $\pm$ 4,2	125 $\pm$ 5,9**	107 $\pm$ 4,6
Sh6	100 $\pm$ 1,9	100 $\pm$ 3,2	100 $\pm$ 3,7	100 $\pm$ 5,6
DS6	130 $\pm$ 6,9**	136 $\pm$ 9,1*	144 $\pm$ 6,7*	126 $\pm$ 4,6*
Sh12	100 $\pm$ 2,6	100 $\pm$ 2,8	100 $\pm$ 2,2	100 $\pm$ 3,3
DS12	164 $\pm$ 11,1***	141 $\pm$ 9,9**	184 $\pm$ 10,7***&	173 $\pm$ 11,3***

Los valores están expresados en porcentaje con respecto al sham correspondiente como la media $\pm$ EEM. PVI/Pc: Peso del ventrículo izquierdo/peso corporal. PVD/Pc: Peso del ventrículo derecho/peso corporal. PAI/Pc: Peso de la aurícula izquierda/peso corporal. PAD/Pc: Peso de la aurícula derecha/peso corporal. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ y *** $p < 0,001$ vs. sham correspondiente; & $p < 0,05$ vs. DS6.

Correlaciones entre presión sistólica, hipertrofia y expresión de péptidos natriuréticos

Cuando se determinaron las correlaciones entre el índice de hipertrofia cardíaca, la expresión y la secreción de PN, se encontró una correlación positiva durante los períodos estudiados entre la hipertrofia cardíaca y la expresión de ANP en el ventrículo izquierdo (r : 0,9923; $p < 0,0008$; Figura 4 a), así como entre el índice de hipertrofia cardíaca y los niveles de ANP en plasma (r : 0,9716; $p < 0,0057$; Figura 4 b). Sin embargo, el desarrollo de hipertrofia cardíaca no se correlacionó con la expresión de BNP ni con sus niveles plasmáticos (Figura 4 c y d).

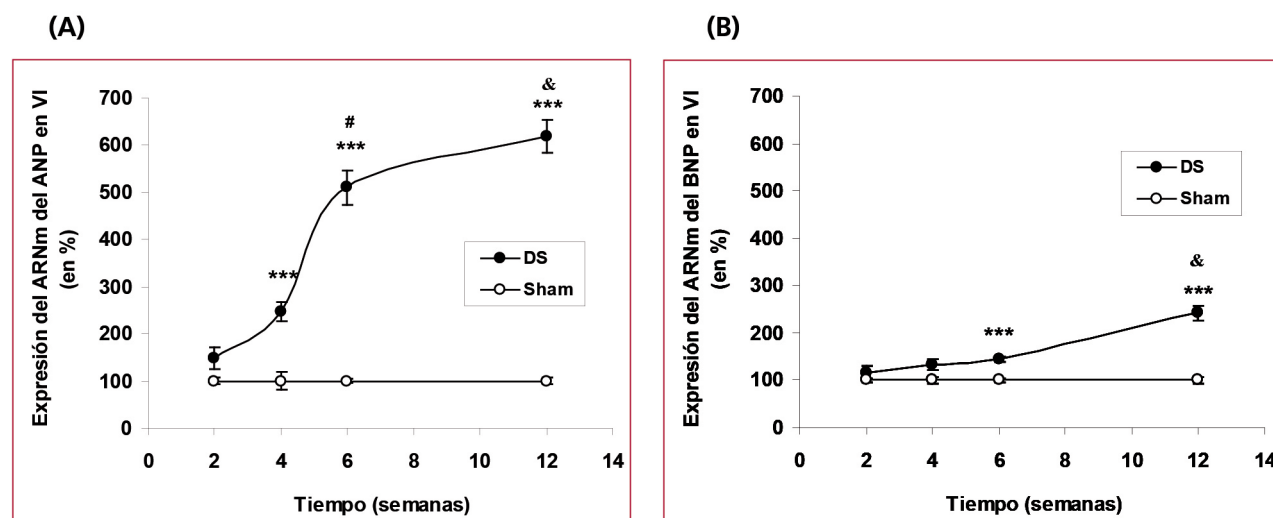


Fig. 2. Expresión de péptidos natriuréticos en el ventrículo izquierdo (VI). Expresión de ARNm de ANP en el VI (panel a), expresión de ARNm de BNP en el VI (panel b) en función del tiempo de tratamiento. Todos los valores están expresados en porcentaje con respecto a los sham correspondientes como la media $\pm$ EEM ($n = 4-8$). * $p < 0,05$ y *** $p < 0,001$ vs. sham correspondiente; # $p < 0,05$ vs. DS4; & $p < 0,01$ vs. DS6.

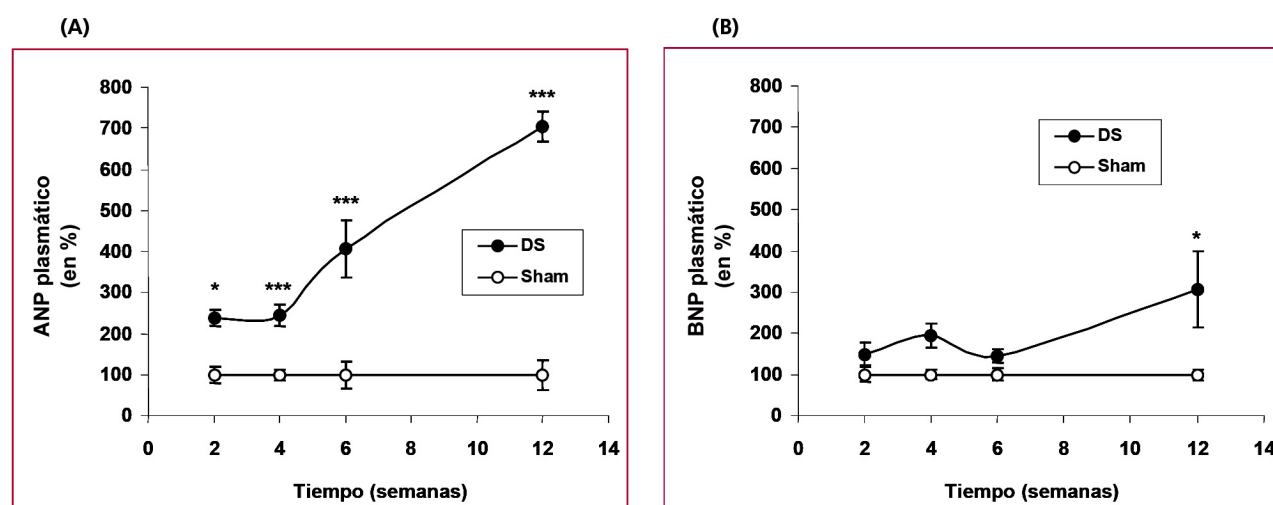


Fig. 3. Concentración de ANP (panel a) y BNP (panel b) en plasma en función del tiempo de tratamiento. Paneles a y b: Los valores están expresados en porcentaje con respecto a los sham correspondientes como la media $\pm$ EEM ($n = 4-8$). * $p < 0,05$ y *** $p < 0,001$ vs. sham correspondiente.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo evaluamos el curso temporal de la síntesis y la secreción de los PN, ANP y BNP, en relación con el grado de hipertrofia cardíaca desarrollada en respuesta a la sobrecarga de volumen en el modelo de hipertensión DS. La elevación de la PS inducida por el tratamiento DS se manifestó rápidamente y tuvo un comportamiento dependiente del tiempo hasta las 6 semanas, observándose a las 12 semanas valores simi-

lares. Sin embargo, el grado de hipertrofia del corazón aumentó progresivamente y en forma dependiente del tiempo hasta las 12 semanas. Estos resultados sugieren que en este modelo experimental la hipertrofia cardíaca desarrollada no está relacionada en su totalidad con el incremento de la PS, lo cual concuerda con los datos hallados por Brown y colaboradores, (29) quienes estudiaron ratas con 4 y 8 semanas de tratamiento DS.

Se sugiere que el ANP ventricular se sintetiza y segrega a la circulación en proporción al grado de hi-

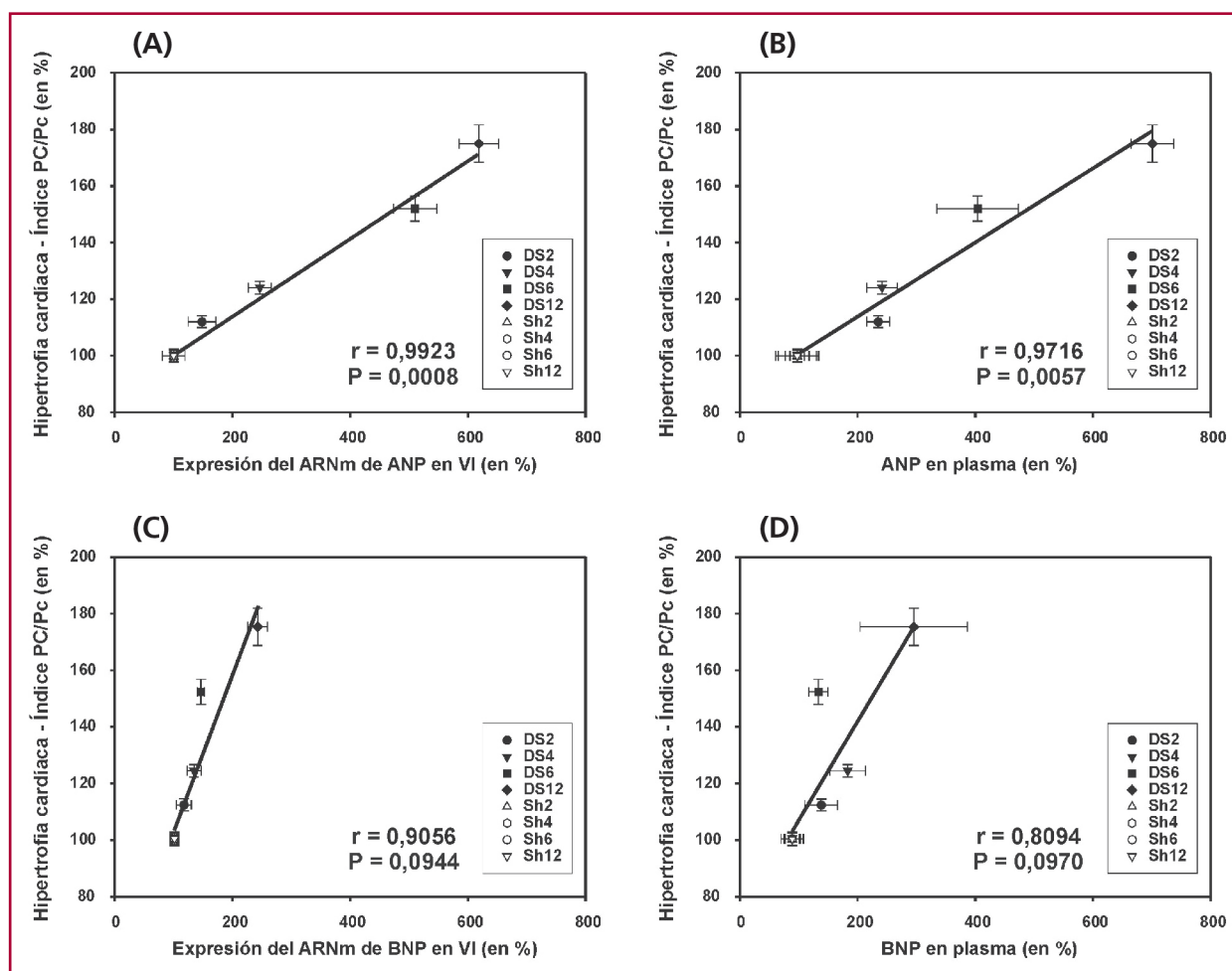


Fig. 4. Correlación entre la hipertrofia cardíaca y la expresión de ANP en el VI (panel **a**), de ANP en plasma (panel **b**), de la expresión de BNP en el VI (panel **c**) y de BNP en plasma (panel **d**). Cada punto del gráfico representa la media $\pm$ EEM para cada grupo.

pertrofia. (30) Coincidentemente, nuestros resultados indican que a mayor tiempo de tratamiento se produjo una hipertrofia mayor del corazón y un aumento mayor en la expresión del ARNm de ANP en el ventrículo izquierdo. Esto se evidenció por la correlación positiva entre la expresión ventricular de ANP y el índice de hipertrofia cardíaca.

Por otra parte, ante la sobrecarga, el corazón responde de manera diferencial en relación con la expresión y la secreción de PN. Mientras que para el BNP responde en forma tardía con cambios moderados de la expresión, la respuesta del ANP no sólo se manifiesta más precozmente, sino que alcanza una magnitud mayor. En el ventrículo izquierdo, el ANP comenzó a aumentar gradualmente a partir de las 2 semanas, alcanzó valores significativos a las 4 semanas y se incrementó en forma dependiente del tiempo hasta las 12 semanas. En cambio, el aumento de BNP se manifestó a las 6 semanas de tratamiento, con un incremento mayor hacia las 12 semanas. En conse-

cuencia, la expresión de BNP no se correlacionó con el grado de hipertrofia e hipertensión desarrolladas, como ocurrió en el caso del ANP.

Se describió que ante una sobrecarga de volumen o de presión, el corazón endocrino responde con la producción y secreción diferencial de PN, según los cambios sean subagudos, agudos o crónicos. El ANP incrementó su expresión más precozmente que el BNP en el ventrículo izquierdo. A pesar de ello, como la expresión del BNP se encuentra estrechamente relacionada con la falla cardíaca, cuando el tratamiento se extiende durante 12 semanas el BNP aumenta su expresión, pero lo hace con valores mucho menores que los registrados para el ANP. Por lo tanto, es posible sugerir que el ANP responde en forma selectiva a la causa etiológica, la sobrecarga de volumen, además de relacionarse con la hipertrofia cardíaca. Al comparar estos resultados con los obtenidos anteriormente, (31) cuando estudiamos el modelo renovascular (RV) 1 riñón-1 clip (con predominio de sobrecarga de pre-

sión), observamos que en el modelo RV la expresión del BNP aumentó precozmente a las 2 semanas de tratamiento, mientras que el ANP se incrementó en forma significativa a las 6 semanas. Entonces, durante la evolución del tratamiento hipertensivo, la expresión de los PN respondería de un modo diferencial al tipo de tratamiento aplicado, con un incremento precoz del ANP en el modelo DS y del BNP en el modelo RV en estadios tempranos.

Finalmente, el aumento de la síntesis y la secreción del ANP, en valores absolutos y porcentuales, superó a los del BNP en todos los grupos DS; ello, sumado a que dichos incrementos se produjeron más tempranamente, permitiría considerar al ANP como un marcador más específico de la sobrecarga de volumen.

SUMMARY

Natriuretic Peptides Synthesis and Secretion Profiles during the Evolution of Cardiac Hypertrophy in DOCA-Salt Hypertensive Rats

The interactions between pressure and volume overload that occur in hypertension lead to different patterns of cardiac hypertrophy and to increase in natriuretic peptides (NPs). The profiles of ANP and BNP synthesis and secretion have been investigated in models of hypertension; however, the different evolution of these profiles during the acute and chronic periods of pressure overload-induced cardiac hypertrophy is still unknown. For this reason, we studied DOCA-salt treated Sprague-Dawley rats at weeks 2, 4, 6 and 12 and correlated the evolution of these profiles with cardiac hypertrophy and hypertension.

Cardiac hypertrophy had a positive correlation with ANP expression in the left ventricle and with ANP plasma levels. BNP expression increased after 4 weeks of treatment while ANP increased significantly after 6 weeks. In addition, BNP plasma levels increased only in the group treated for 12 weeks, while ANP plasma levels increased from week 2. NP secretion has a differential response in the early stages of the development of cardiac hypertrophy induced by the DOCA-salt model, with an early increase in ANP. As ANP levels were exceeded to those of BNP in all the DOCA-salt groups, ANP might be considered a more specific marker of volume overload.

Key words > Atrial Natriuretic Peptides - ANP - Cardiac Hypertrophy

BIBLIOGRAFÍA

- Devereux RB, Roman MJ, Ganau A, de Simone G, Okin PM, Kligfield P. Cardiac and arterial hypertrophy and atherosclerosis in hypertension. *Hypertension* 1994;23:802-9.
- Muiesan ML, Salvetti M, Monteduro C, Bonzi B, Paini A, Viola S, et al. Left ventricular concentric geometry during treatment adversely affects cardiovascular prognosis in hypertensive patients. *Hypertension* 2004;43:731-8.
- Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA. Controversies in ventricular remodelling. *Lancet* 2006;367:356-67.
- Khan MG. Encyclopedia of Heart Diseases. 2005. Cap: Hypertrophy of the heart. p. 493-99.
- Chien KR, Zhu H, Knowlton KU, Miller-Hance W, van-Bilsen M, O'Brien TX, et al. Transcriptional regulation during cardiac growth and development. *Annu Rev Physiol* 1993;55:77-95.
- Yokota N, Bruneau BG, Fernández BE, Kuroski de Bold ML, Piazza LA, et al. Dissociation of cardiac hypertrophy, myosin heavy chain isoform expression and natriuretic peptide production in DOCA-salt rats. *Am J Hypertens* 1995;8:301-10.
- Brown LA, Rutherford RA, Nunez DJ, Wharton J, Lowe DG, Wilkins MR. Downregulation of natriuretic peptide C-receptor protein in the hypertrophied ventricle of the aortovenocaval fistula rat. *Cardiovasc Res* 1997;36:363-71.
- Silberbach M, Roberts CT Jr. Natriuretic peptide signalling: molecular and cellular pathways to growth regulation. *Cell Signal* 2001;13:221-31.
- Pandey KN. Biology of natriuretic peptides and their receptors. *Peptides* 2005;26:901-32.
- de Bold AJ, Bruneau BG, Kuroski de Bold ML. Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart. *Cardiovasc Res* 1996;31:7-18.
- Gardner DG. Natriuretic peptides: markers or modulators of cardiac hypertrophy? *Trends Endocrinol Metab* 2003;14:411-6.
- McGrath MF, de Bold ML, de Bold AJ. The endocrine function of the heart. *Trends Endocrinol Metab* 2005;16:469-77.
- Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: from Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc Res* 1998;39:77-88.
- Lerman LO, Chade AR, Sica V, Napoli C. Animal models of hypertension: An overview. *J Lab Clin Med* 2005;146:160-73.
- Ogawa T, Linz W, Stevenson M, Bruneau BG, Kuroski de Bold ML, Chen JH, et al. Evidence for load-dependent and load-independent determinants of cardiac natriuretic peptide production. *Circulation* 1996;93:2059-67.
- Su X, Brower G, Janicki JS, Chen YF, Oparil S, Dell'Italia LJ. Differential expression of natriuretic peptides and their receptors in volume overload cardiac hypertrophy in the rat. *J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1927-36.
- Dobrzynski E, Wang C, Chao J, Chao L. Adrenomedullin gene delivery attenuates hypertension, cardiac remodeling, and renal injury in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Hypertension* 2000;36:995-1001.
- Bianciotti LG, de Bold AJ. Modulation of cardiac natriuretic peptide gene expression following endothelin type A receptor blockade in renovascular hypertension. *Cardiovasc Res* 2001;49:808-16.
- Morgan T, Aubert JF, Brunner H. Interaction between sodium intake, angiotensin II, and blood pressure as a cause of cardiac hypertrophy. *Am J Hypertension* 2001;14:914-20.
- Bianciotti LG, de Bold AJ. Natriuretic peptide gene expression in DOCA-salt hypertension after blockade of type B endothelin receptor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:H1127-34.
- Capuano V, Ruchon Y, Antoine S, Sant MC, Renaud JF. Ventricular hypertrophy induced by mineralocorticoid treatment or aortic stenosis differentially regulates the expression of cardiac K⁺ channels in the rat. *Mol Cell Biochem* 2002;237:1-10.
- Kvist S, Mulvany MJ. Contrasting regression of blood pressure and cardiovascular structure in declipped renovascular hypertensive rats. *Hypertension* 2003;41:540-5.
- Cavallero S, González GE, Puyó AM, Rosón MI, Pérez S, Morales C, et al. Atrial natriuretic factor behaviour and myocyte hypertrophic profile in combined pressure and volume-induced cardiac hypertrophy. *J Hypertens* 2007;25:1940-50.
- Scaglione J, Puyó AM, Dupuy HA, Postan M, Fernández BE. Behavior of atrial natriuretic factor in an experimental model of Trypanosoma cruzi infection in rats. *J Parasitol* 2001;87:923-6.
- Ruskoaho H. Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure. *Endocrine Rev* 2003;24:341-56.
- Puyó AM, Scaglione J, Auger S, Cavallero S, Postan M, Fernández BE. Natriuretic peptides as prognostic and diagnostic markers in Chagas' disease. *Regul Pept* 2005;128:203-10.
- Sarda IR, de Bold ML, de Bold AJ. Optimization of atrial natriuretic factor immunoassay. *Clin Biochem* 1989;22:11-5.
- Puyó AM, Scaglione J, Auger S, Cavallero S, Donoso AS, Dupuy HA, et al. Atrial natriuretic factor as marker of myocardial compromise in

Chagas' disease. *Regul Pept* 2002;105:139-43.

29. Brown L, Ooi SY, Lau K, Sernia C. Cardiac and vascular responses in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000;27:263-9.

30. An MR, Cheng Y, Kang D, Nam S, Lee J. Augmented expression of cardiac atrial natriuretic peptide system in hypertensive rats. *J Korean Med Sci* 1999;14:497-501.

31. Cerrudo CS, Cavallero S, Rodríguez Fermepin M, Hertig CM, Fernández BE. Participación de los péptidos natriuréticos en la hipertensión renovascular y su correlación con la evolución de la hipertrofia de miocardio. *Rev Argent Cardiol* 2010;78:339-45.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen potenciales conflictos de intereses.

Agradecimientos

Este estudio se realizó gracias al aporte de la Universidad de Buenos Aires (UBACyT B607 y B014), el CONICET (PIP 6161) y la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT PICT 05-13775).