

【総説】

犬と猫の心臓バイオマーカーの臨床的意義

堀 泰 智

酪農学園大学獣医学類伴侶動物内科学Ⅱ循環器科
(〒069-8501 江別市文京台緑町582)

はじめに

バイオマーカーとは血液や尿・分泌物中に含まれるタンパク質、ホルモン、酵素等の物質を測定して病気の診断に利用される物質を指す用語である。本総説でとりあげた心臓バイオマーカーとは、心臓で産生されるナトリウム利尿ペプチドなどの生理活性物質や心筋トロポニンのような心筋特異的蛋白の総称であり、心臓細胞の機能（負荷や傷害）を生化学的に評価することで、心疾患・心不全の病態を把握するための検査法である。現在では獣医療においても、心房性ナトリウム利尿ペプチド（Atrial Natriuretic Peptide；ANP）やB型ナトリウム利尿ペプチド（B-type Natriuretic Peptide；BNP）などを用いた心不全の診断的意義が多数報告され^[1-3]、心臓バイオマーカーは新たな心疾患・心不全の診断法として普及しつつある。また、近年では高感度心筋トロポニンI（cTnI）の測定系も確立されている。これらのマーカーを用いることでX線検査や心エコー図検査では解らなかった心臓の生化学的機能を特異的に評価し、様々な循環器疾患の病態を血液検査から理解できると期待される。本総説では、犬と猫の心臓バイオマーカーを臨床応用するために、著者がこれまでに取り組んできた基礎的・臨床的研究を中心にして概要をとりまとめた。

心臓バイオマーカーの種類と特徴

心房細胞には特殊な顆粒があり、これが形態学的に内分泌細胞のホルモン貯蔵顆粒と類似することが指摘されていたが、1980年代にANPのアミノ酸配列が同定された^[4]。このことは心臓の役割は「ポンプ器官として血液を全身に送り出すこと」という概念を一変させ、内分泌

器官としての心臓の研究が進められるきっかけになった。ANPは主に心房筋の分泌顆粒にプレホルモンとして貯蔵されており、心房筋の伸展刺激によって即座に血中へ分泌されるホルモンである^[5,6]。分泌時には生理活性を持つANPと生理活性を持たないN-terminal proANP（NT-proANP）に切断されて血中に放出される。

BNPはANPに次いで1988年にブタの脳から発見されたホルモンであり^[7]、ナトリウム利尿ペプチドファミリーの1つである。BNPは主に心室筋に局在し、心室筋の伸展刺激によってプレホルモンの産生が開始され、血中に放出されるホルモンである^[8-10]。ANPと同様に、血中には生理活性を持つBNPと生理活性を持たないN-terminal proBNP（NT-proBNP）に切断されて放出される。両ホルモンともナトリウム利尿作用および血管拡張作用を持つことが知られており、循環血液量や血圧を調節するための機構であると考えられる。

アッセイ系の評価

1) ANP

ANPは哺乳類間でのアミノ酸配列が非常に高く維持されており、これまでにヒト型とラット型の2つが報告されているが、ヒトでは12番目のアミノ酸がMetであるのに対して、ラットではIleと1つのアミノ酸が異なるだけである。したがって、ヒトANP測定キットが犬猫のANPに対して交差性を持つ可能性が高く、著者は様々な解析を通してヒトANP測定キットが犬猫のANP測定に対して臨床的に利用可能であることを確認した。犬の血液サンプルにおけるアッセイ内ならびにアッセイ間変動係数（coefficients of variance：CV値）はそれぞれ5.1%、1.7%であり^[11]、いずれもアッセイ系の測

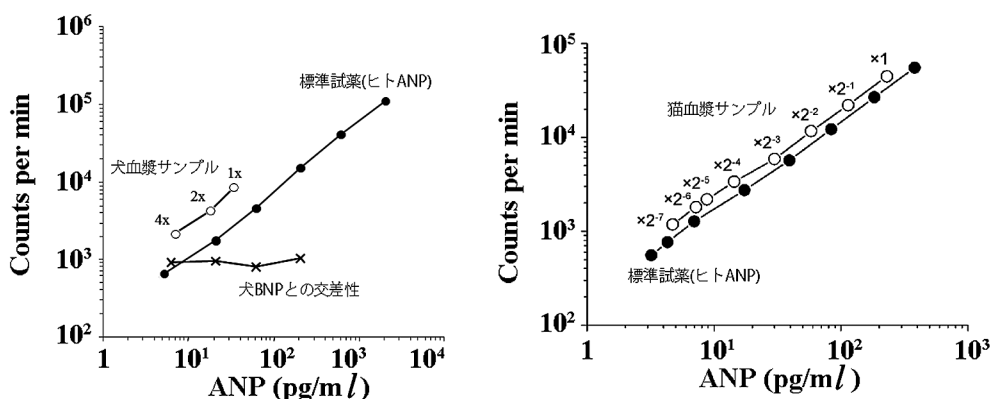


Fig. 1 犬および猫ANPのアッセイ系の基礎的解析

左図：犬血漿を2倍階段希釈した希釈試験では、サンプルの測定値(○)は標準試薬の検量線(●)と平行であった。このことから犬血漿にはANP測定に影響する阻害物質が含まれていないと考えられる。交差性試験(x)では、犬血漿に犬BNPを添加して測定しても、ANP測定値には影響しなかった。したがって、本アッセイ系は犬BNPの影響を受けないと考えられる。

右図：猫血漿を2倍階段希釈した希釈試験では、サンプルの測定値(○)は標準試薬の検量線(●)と平行であった。このことから猫血漿にはANP測定に影響する阻害物質が含まれていないと考えられる。

定誤差(精度)は実用的であると判断可能な結果であった。また、添加回収試験や希釈試験においても良好な結果が得られ、犬BNPに対する交差性は認められなかったことから(Fig. 1)、犬のANP測定に対する正確性や精度は高く、臨床応用が可能であると考えられた。同様に、猫のANPアッセイ系の信頼性の基礎的解析では、猫の血液サンプルにおけるアッセイ内ならびにアッセイ間CV値はそれぞれ1.5%、2.5%であり、希釈試験においても良好な結果が得られた^[12](Fig. 1)。これらのことから、猫においてもANPアッセイ系の正確性や精度は実用的であると判断した。

2) BNP

BNPは32アミノ酸からなるペプチドホルモンであり、ANPと同様にナトリウム利尿ならびに血管拡張作用を持つことが知られている。BNPならびにNT-proBNPの塩基配列は動物種差が大きく^[8]、ヒト用の検査試薬では犬・猫のBNPならびにNT-proBNPを測定することができないため、犬専用の抗体を用いて測定されている。希釈試験や交差性試験は実施していないが、犬の血液サンプルにおけるアッセイ内ならびにアッセイ間CV値はそれぞれ4.2%、6.6%であり^[13]、ANPと同様にアッセイ系の精度は許容範囲の結果であった。

犬の心臓バイオマーカーの基礎的検討

1) 容量負荷と心臓バイオマーカー

犬の後天性心疾患に最も多い僧帽弁閉鎖不全症は容量負荷疾患であり、僧帽弁逆流による心拍出量の低下と血

液うっ滞による左室拡張末期容積・圧の増加を引き起こす。また、病態の進行に伴って左心房圧が上昇し、左心房の拡大は本疾患の重要な重症度・予後判定因子であることが示されている^[14]。現在、僧帽弁閉鎖不全症犬における重症度の判定は、心エコー図検査を用いて評価することがゴールドスタンダードとなっている。しかし、心エコー図検査の技術習得には時間と労力を要し、また、検者間でのバラつきが生じやすいという制約があることから、一般開業医でも簡単にできる検査法の確立が必要である。

肺動脈楔入圧(PCWP)は左心房圧と一致した変動を示すことから、うっ血性左心不全の指標となっている血行力学的指標であり、著者は容量負荷モデルにおけるPCWPとANPおよびNT-proBNPの関係に注目し基礎的研究を行った^[11,13,15,16]。PCWPは容量負荷の増加によって有意に上昇し、容量負荷の低下によって有意に低下した(Fig. 2)。この時、ANPおよびNT-proBNPは容量負荷によって上昇したが、ANPはNT-proBNPと比べて顕著に上昇した(Fig. 2)。一方、容量負荷の低下によってANPは有意に減少したが、NT-proBNPに有意な変化はみられなかった(Fig. 2)。さらに、ANPとPCWPの間には有意な相関関係が認められたが、NT-proBNPとPCWPの間には相関関係が認められなかった。これらのことから犬ANPは急性容量負荷の変化をリアルタイムに反映する指標であることが示唆された。

2) 圧負荷と心臓バイオマーカー

容量負荷疾患に対して、圧負荷疾患には大動脈弁狭窄

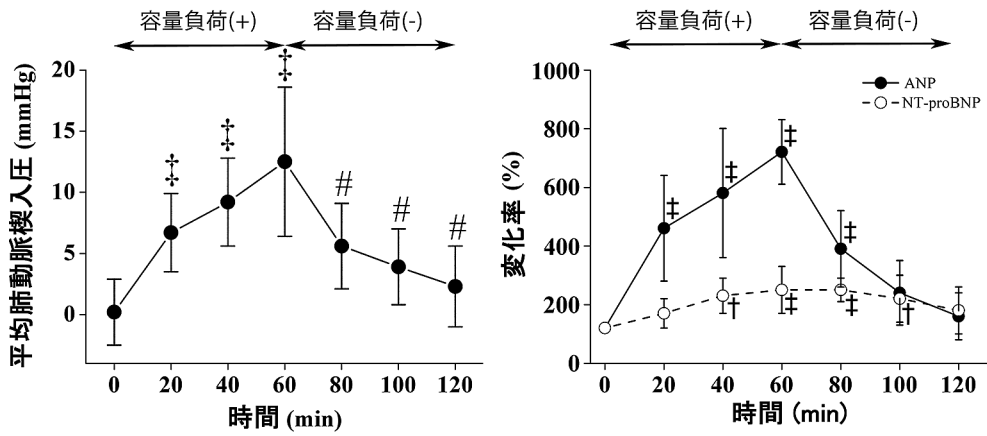


Fig. 2 容量負荷に対するバイオマーカーの反応

全身麻酔下の健康犬 (n = 6) を用いた。急速大量輸液によって容量負荷を加え、その後輸液を停止するとともにフロセミドを投与し容量負荷を減じた。

左図：平均肺動脈楔入圧の変化

右図：血中 ANP ならびに NT-proBNP 濃度の変化率

† ; P < 0.01 vs 0 min, ‡ ; P < 0.001 vs 0 min, § ; P < 0.05 vs 60 min, # ; P < 0.001 vs 60 min

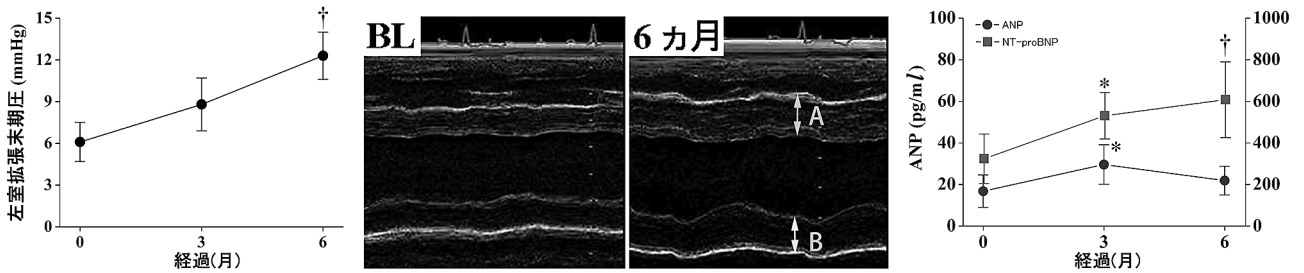


Fig. 3 圧負荷に対するバイオマーカーの反応

健康犬 (n = 6) を用い、全身麻酔下で大動脈を拘縮し大動脈狭窄モデルを作成した。

研究では試験前と処置後3カ月・6カ月に各種検査を行った。

左図：左室拡張末期圧の変化

中図：モデル作成前後におけるMモード検査所見の変化

試験前と比べ、6カ月後には心室中隔壁 (A 矢印) ならびに左室自由壁 (B 矢印) が肥厚している

右図：血中 ANP ならびに NT-proBNP 濃度の変化

* ; P < 0.05 vs baseline (0), † ; P < 0.01 vs baseline (0)

症や肺動脈弁狭窄症、肺高血圧症があげられ、これらの疾患では血液の駆出抵抗によって収縮期の心室壁に機械的負荷がかかり、長期的には心室壁の肥厚 (求心性肥大) と心機能の低下を引き起こす。狭窄性疾患の場合には心エコー図検査を用いた圧較差の測定から間接的に重症度を評価することが可能である。しかし、前述のとおり心エコー図検査には技術的な制約があることから、著者は大動脈狭窄モデルを作成し左心室の圧負荷に対する ANP および NT-proBNP の変動を解析した^[11]。大動脈狭窄によって、左心室拡張末期圧ならびに左心室壁厚は継時的に増加した (Fig. 3)。容量負荷疾患モデルと異なり ANP は一過性に増加したが、6カ月後まで顕著な変化を示さなかった (Fig. 3)。一方、NT-proBNP は経過と共に上昇し (Fig. 3)、左室拡張末期圧ならびに左

心室壁厚と有意な相関を示した。これらのことから犬 NT-proBNP は慢性的な心室圧負荷によって、臨床徴候が発現する以前から上昇することが明らかとなった。

3) 左心不全犬における ANP の臨床的検討

ANP は容量負荷に対する PCWP の変化と一致していることから^[15]、著者は僧帽弁閉鎖不全症を中心とする左心不全犬の重症度評価には ANP 測定が有用であると考へ、以下の臨床研究を行った。僧帽弁閉鎖不全症を中心とする左心不全犬 (78頭) において、血中 ANP 濃度は重症度に一致して上昇しており (Fig. 4)、左心房拡大の指標である大動脈/左心房径 (LA/Ao) 比と有意な相関を示した^[16]。健康犬の血中 ANP 濃度は $16.4 \pm 7.8 \text{ pg/ml}$ であったのに対し、肺水腫を伴う心不全犬 (ISACHC クラス IIIb) では $179.8 \pm 87.8 \text{ pg/ml}$ であった^[13]。次に、

Receiver Operating Characteristic (ROC) 解析を用いて診断基準値を解析したところ、ANP > 25 pg/mlとした時の心疾患診断のための感度・特異度はそれぞれ91.0%、94.7% (AUC : 0.97)であった。さらに、ISACHCクラスⅢbを診断するための血中ANP濃度のカットオフ値を100 pg/mlとした時の感度・特異度はそれぞれ81.0%、81.1% (AUC : 0.87)であり、ANP > 100 pg/ml以上であれば重度な心不全(肺水腫)に至るリスクの高いことが推察された^[13]。

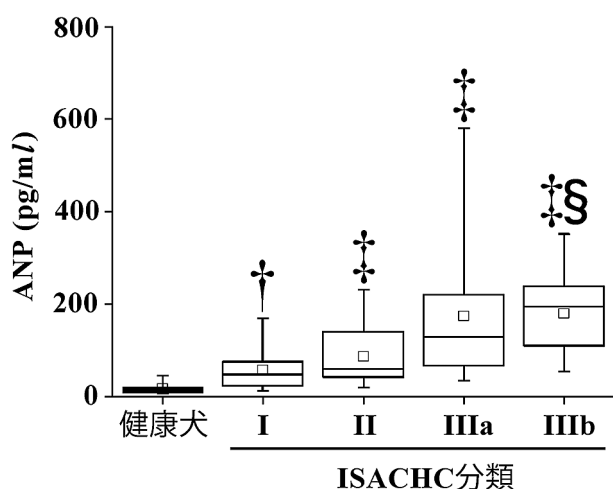


Fig. 4 左心疾患犬の重症度評価

血中ANP濃度は心不全の重症度に一致して上昇している。健康犬と比較してISACHC I、II、Ⅲの血中ANP濃度は有意に高値を示した。ISACHC Ⅲの血中ANP濃度はISACHC Iと比較して有意に高値を示した。

† $P < 0.01$ vs. 健康犬; ‡ $P < 0.001$ vs. 健康犬; § $P < 0.01$ vs. ISACHC I

4) 肺動脈弁狭窄症におけるNT-proBNPの臨床的検討

肺動脈弁狭窄症は犬の先天性心疾患の中では比較的多く発生する疾患であり、右心系の圧負荷を招き進行すると右心不全に至る疾患である。著者は過去に心臓バイオマーカーが心室圧負荷疾患モデルの病態を反映することを明らかにしたが^[11]、自然発生の圧負荷疾患における心臓バイオマーカーの臨床的有用性は解明されていなかったことから、肺動脈弁狭窄症の犬(30頭)を対象にNT-proBNPの変化を解析した。犬の血中NT-proBNP濃度は肺動脈弁狭窄症の臨床的重症度に一致して上昇しており、さらに、ドプラ検査から算出した肺動脈圧較差(血行動態的重症度)と有意な相関を示した(Fig. 5)^[17]。肺動脈弁狭窄症を診断するためのカットオフ値は > 764 pmol/lであり、感度・特異度はそれぞれ76.2%、81.8%であった (AUC : 0.83)。NT-proBNPは肺動脈弁狭窄症犬の肺動脈弁圧較差を反映しており、圧負荷疾患におけるスクリーニング検査として有用であることが示唆された。

5) 治療効果の判定

心不全によって心臓バイオマーカーが上昇するならば、理論的には、治療によって負荷が減少すると血中濃度も低下することが推察される。心臓バイオマーカーを心不全の治療効果の指標として利用することができれば、個々の症例における病態の把握や薬剤の選択にも役立つが、心不全の治療効果と心臓バイオマーカーの関連性についての報告は皆無であった。このことから著者は、根治可能な先天性心疾患である動脈管開存症(9頭)を対

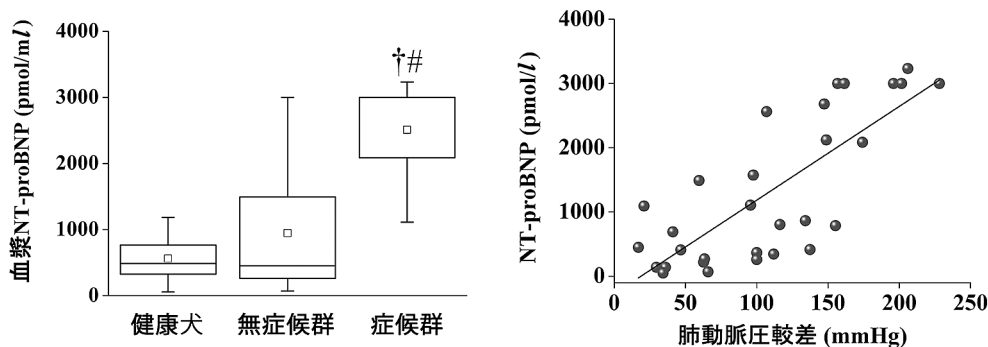


Fig. 5 肺動脈弁狭窄症犬の血中NT-proBNP濃度の変化

対象は無処置の肺動脈弁狭窄症の犬 (n = 30) であった。

臨床徴候(咳、失神、運動不耐)に基き、無症候群 (n = 23) と症候群 (n = 7) に分けた。

左図: 各群における血中NT-proBNP濃度の変化

$P < 0.01$ vs 無症候群, † $P < 0.01$ vs 健康犬

右図: 肺動脈圧較差と血中NT-proBNP濃度の相関関係

肺動脈圧較差は超音波ドプラ検査から肺動脈弁血流速度を記録し、ベルヌーイの簡易式を用いて算出した

肺動脈圧較差と血中NT-proBNP濃度には有意な相関関係が認められた ($r = 0.78$, $P < 0.0001$)

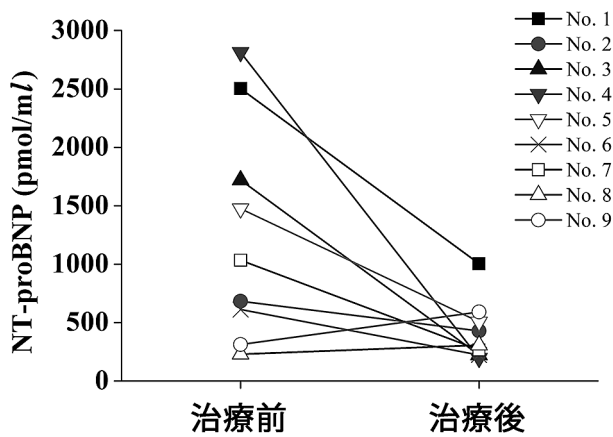


Fig. 6 動脈管開存症の治療前後における血中NT-proBNP濃度の変化

対象は動脈管開存症の犬 (n=9) であった。8頭はジャクソン変法によって、1頭はインターベンションによって治療した。術後の再検査までの期間は10~47日(平均27日)であった。治療後の血中NT-proBNP濃度は治療前と比べて有意に低下した ($P<0.05$)。

象に、心不全の治療効果と心臓バイオマーカーの関連について解析を行った。症例はジャクソン変法またはインターベンションによって治療され、治療後には短絡血流が消失し、臨床徴候および心拡大の改善がみられた。血中NT-proBNP濃度は治療前に 1376 ± 916 pmol/lであったが、治療後には 412 ± 264 pmol/lまで低下した (Fig. 6) [18]。このことから心臓バイオマーカーは心不全犬の治療効果の評価法としても有用であることが示唆された。しかし、僧帽弁閉鎖不全症をはじめ多くの根治不可能な心疾患では、心臓バイオマーカーが常に内科療法に対する治療効果の指標になるとは限らない可能性がある。

まとめ

ANPの特徴は心房筋の伸展刺激に対して鋭敏に反応し、血中へ放出されることであり、筆者らは、容量負荷モデル犬の血中ANP濃度はPCWPと一致して増減し、強い相関関係がみられることを明らかにしている [11,16]。ヒト心不全患者におけるANPの血中濃度は健常人よりも上昇しており [19,20]、心血管系疾患の診断や心不全死のリスク評価・予後評価などへの応用が期待されている。著者の研究では、血中ANP濃度は僧帽弁閉鎖不全症犬の重症度に一致して血中濃度が上昇しており、左心房サイズ (LA/Ao比) と有意に相関することが明らかとなった [13]。これらのことから、犬においても血中ANP濃度は容量負荷疾患による左心房圧の変化に反応し、血中濃度が調節されていると考えられる。これらの結果は、血中ANP濃度の測定は僧帽弁閉鎖不全症犬のうっ血徴候

(左心房拡大) を知る手掛かりとなる。加えて、ROC解析では、ANPの測定値からうっ血性左心不全を診断するための基準値が明らかとなった。重度な心不全 (ISACHCクラスⅢ) を診断するための血中ANP濃度のカットオフ値を100 pg/mlとした時の感度・特異度はそれぞれ81.0%、81.1% (AUC: 0.87) であり、ANP>100 pg/ml以上であれば重度な心不全 (肺水腫) に至る可能性の高いことが推察される [13]。一方、心不全には至っていない心疾患犬 (ISACHCクラスⅠ~Ⅱ) の血中ANP濃度は大半が100 pg/ml未満であり、僧帽弁閉鎖不全症に罹患している症例でも血中ANP濃度が50 pg/ml未満の場合がうっ血徴候が極めて少なく重症度は軽度であると診断することが可能である。

興味深いことに、血中ANP濃度と血中BNP濃度はパラレルに変化しないケースがあり、ヒト心不全患者や心疾患モデル動物ではANPとBNPの分泌パターンが異なっていることが報告されている [20-22]。健常人に対して、血圧に変化がない程度の急速輸液 (急性容量負荷) を行うと、血中ANP濃度は有意に上昇したが、血中BNP濃度は変化しなかった [21,22]。また、豚の心房ペースングによって誘発した急性心不全モデルにおいては、血中ANP濃度は左心房圧の急激な上昇に一致して増加するが、血中BNP濃度は左心房圧の上昇にも関わらず24時間をかけて徐々に上昇した [23]。BNPの合成は心室筋の伸展刺激によって開始されるため血中濃度に反映されるまでは数時間を要し [24,25]、著者の研究においても急性容量負荷による血中ANP濃度の増加は顕著であったが、血中NT-proBNP濃度の増加は緩徐であった [13]。一方、心室負荷による血中ANP濃度の変化は小さかったが、血中NT-proBNP濃度の増加は顕著であった [11]。さらに、左心房圧・左心室圧の上昇しているヒト拡張型心筋症患者ではANPもBNPも上昇しているが、左心房圧のみ上昇している僧帽弁狭窄症患者ではANPのみ顕著に上昇していることが報告されている [20]。これらの結果から、血中ANP濃度は心房の伸展刺激 (特に容量負荷) を反映しており、血中BNPならびにNT-proBNP濃度は心室筋の伸展刺激を反映していることが示唆される。

現在の研究課題

心筋トロポニンBは心筋の収縮制御に関わる蛋白であり、心筋収縮の抑制に関わるトロポミオシンに類似した物質が存在することから1965年に江橋氏らによって発見された [26]。心臓バイオマーカーはヒトの心筋梗塞診断を目的として発展してきた経緯があり、当初はクレアチンキ

ナーゼを用いて心筋梗塞を評価していたが、1990年前後に心筋特異的なトロポニンに対するアッセイ系が開発され、臨床分野でも利用され始めた。心筋トロポニンと骨格筋トロポニンは遺伝的に異なる構造であり、心筋トロポニンのアッセイ系は骨格筋トロポニンに反応しないため、心筋特異的な傷害を評価することが可能である。動物種差は比較的少なく、ヒト心筋トロポニン (cTnTやcTnI) の試薬を用いて犬および猫の心筋トロポニンを測定できることを確認している。

cTnIは心筋傷害の指標であることが考えられるため、心筋症や心筋炎を疑う症例での臨床応用が期待される。しかし、現状ではエビデンスが不足しており、犬および猫における心筋傷害の診断基準値は確立されておらず、早急なデータ収集・解析が求められている。現在、著者は犬および猫において心臓バイオマーカーを用いた循環器スクリーニング検査を通して、心疾患の早期診断法の確立を目的とした症例データの収集を行っている。

総 括

心臓バイオマーカーは心エコー図検査のように特定の心疾患の診断法ではないが、心臓バイオマーカーの特徴は循環器専門医でなくても採血するだけで簡単に検査が行え、心不全評価のための客観的な情報が入手できる点である。心臓バイオマーカーは心筋細胞レベルでの様々な生化学的異常を反映する検査法であることから、心不全の診断、重症度評価、予後評価、治療効果の指標など幅広い臨床応用が可能になると期待している。

引用文献

- [1] DeFrancesco TC, Rush JE, Rozanski EA, Hansen BD, Keene BW, Moore DT, Atkins CE: Prospective clinical evaluation of an ELISA B-type natriuretic peptide assay in the diagnosis of congestive heart failure in dogs presenting with cough or dyspnea, *J Vet Intern Med*, 21, 243-250 (2007)
- [2] Prosek R, Sisson DD, Oyama MA, Solter PF: Distinguishing cardiac and noncardiac dyspnea in 48 dogs using plasma atrial natriuretic factor, B-type natriuretic factor, endothelin, and cardiac troponin-I, *J Vet Intern Med*, 21, 238-242 (2007)
- [3] Rutten FH, Cramer MJ, Zuithoff NP: Comparison of B-type natriuretic peptide assays for identifying heart failure in stable elderly patients with a clinical diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease, *Eur J Heart Fail*, 9, 651-659 (2007)
- [4] Kangawa K, Matsuo H: Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha-hANP), *Biochem Biophys Res Commun*, 118, 131-139 (1984)
- [5] Maeda K, Tsutamoto T, Wada A, Mabuchi N, Hayashi M, Hisanaga T, Kamijo T, Kinoshita M: Insufficient secretion of atrial natriuretic peptide at acute phase of myocardial infarction, *J Appl Physiol*, 89, 458-464 (2000)
- [6] Moe GW, Grima EA, Wong NL, Howard RJ, Armstrong PW: Plasma and cardiac tissue atrial and brain natriuretic peptides in experimental heart failure, *J Am Coll Cardiol*, 27, 720-727 (1996)
- [7] Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H: A new natriuretic peptide in porcine brain, *Nature*, 332, 78-81 (1988)
- [8] Asano K, Murakami M, Endo D, Kimura T, Fujinaga T: Complementary DNA cloning, tissue distribution, and synthesis of canine brain natriuretic peptide, *Am J Vet Res*, 60, 860-864 (1999)
- [9] Ruskoaho H: Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure, *Endocr Rev*, 24, 341-356 (2003)
- [10] Seilhamer JJ, Arfsten A, Miller JA, Lundquist P, Scarborough RM, Lewicki JA, Porter JG: Human and canine gene homologs of porcine brain natriuretic peptide, *Biochem Biophys Res Commun*, 165, 650-658 (1989)
- [11] Hori Y, Tsubaki M, Katou A, Ono Y, Yonezawa T, Li X, Higuchi SI: Evaluation of NT-pro BNP and CT-ANP as markers of concentric hypertrophy in dogs with a model of compensated aortic stenosis, *J Vet Intern Med*, 22, 1118-1123 (2008)
- [12] Heishima Y, Hori Y, Chikazawa S, Kanai K, Hoshi F, Itoh N: Influence of storage conditions on in vitro stability of atrial natriuretic peptide and of anesthesia on plasma atrial natriuretic peptide concentration in cats, *Am J Vet Res*, 77, 854-859 (2016)
- [13] Hori Y, Yamano S, Kanai K, Hoshi F, Itoh N, Higuchi S: Clinical implications of measurement of plasma atrial natriuretic peptide concentration in dogs with spontaneous heart disease, *J Am Vet Med Assoc*, 239, 1077-1083 (2011)
- [14] Borgarelli M, Savarino P, Crosara S, Santilli RA,

- Chiavegato D, Poggi M, Bellino C, La Rosa G, Zanatta R, Haggstrom J, Tarducci A: Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease, *J Vet Intern Med*, 22, 120-128 (2008)
- [15] Hori Y, Sano N, Kanai K, Hoshi F, Itoh N, Higuchi S: Acute cardiac volume load-related changes in plasma atrial natriuretic peptide and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in healthy dogs, *Vet J*, 185, 317-321 (2010)
- [16] Hori Y, Ukai Y, Uechi M, Hoshi F, Higuchi S: Relationships between velocities of pulmonary venous flow and plasma concentrations of atrial natriuretic peptide in healthy dogs, *Am J Vet Res*, 69, 465-470 (2008)
- [17] Kobayashi K, Hori Y, Chimura S: Plasma N-Terminal Pro B-Type Natriuretic Peptide Concentrations in Dogs with Pulmonic Stenosis, *J Vet Med Sci*, 76, 827-831 (2014)
- [18] Aramaki Y, Chimura S, Hori Y, Eguchi T: Therapeutic changes of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations in 9 dogs with patent ductus arteriosus, *J Vet Med Sci*, 73, 83-88 (2011)
- [19] Morello AM, Januzzi JL: Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide: a biomarker for diagnosis, prognosis and management of heart failure, *Expert Rev Mol Diagn*, 6, 649-662 (2006)
- [20] Yoshimura M, Yasue H, Okumura K, Ogawa H, Jougasaki M, Mukoyama M, Nakao K, Imura H: Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure, *Circulation*, 87, 464-469 (1993)
- [21] Lang CC, Choy AM, Turner K, Tobin R, Coutie W, Struthers AD: The effect of intravenous saline loading on plasma levels of brain natriuretic peptide in man, *J Hypertens*, 11, 737-741 (1993)
- [22] Wambach G, Koch J: BNP plasma levels during acute volume expansion and chronic sodium loading in normal men, *Clin Exp Hypertens*, 17, 619-629 (1995)
- [23] Qi W, Kjekshus J, Hall C: Differential responses of plasma atrial and brain natriuretic peptides to acute alteration in atrial pressure in pigs, *Scand J Clin Lab Invest*, 60, 55-63 (2000)
- [24] Maczewski M, Mackiewicz U: Plasma brain natriuretic peptide correlates with infarct size but not with subsequent remodeling in the rat heart, *Cardiovasc Pathol*, 16, 79-84 (2007)
- [25] Magga J, Vuolteenaho O, Tokola H, Marttila M, Ruskoaho H: Involvement of transcriptional and posttranscriptional mechanisms in cardiac overload-induced increase of B-type natriuretic peptide gene expression, *Circ Res*, 81, 694-702 (1997)
- [26] Ebashi S, Kodama A: A new protein factor promoting aggregation of tropomyosin, *J Biochem*, 58, 107-108 (1965)