

XIV Congreso Andaluz de Veterinarios

Uso de NT-proBNP y Troponina Cardíaca I para el estudio de alteraciones miocárdicas en perros con leishmaniosis azoémicos y no azoémicos

AUTORES: Javier Salado Tato*, Rafael Barrera Chacón*, Luis Carlos Gómez Nieto*, Silvia Belinchón Lorenzo*, Luis Gómez Gordo*, Javier Galapero Arroyo*, José Ignacio Cristóbal Verdejo*, Lucía Beatriz Castellero Gómez*, Francisco Javier Duque Carrasco* – * Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura

RESUMEN

La leishmaniosis canina es una enfermedad sistémica producida por el protozoo *Leishmania infantum*. Esta enfermedad afecta a diferentes órganos y tejidos. Sin embargo, no existen muchos estudios acerca del daño miocárdico que produce. La valoración de los niveles de NT-proBNP y troponina I, biomarcadores de estrés celular miocárdico y daño miocárdico respectivamente, en perros con leishmaniosis podrían ayudar a apreciar la existencia de alteraciones en el corazón.

El objetivo del presente estudio prospectivo fue evaluar y comparar las concentraciones de NT-proBNP y troponina I, con el fin de obtener información acerca del daño miocárdico en perros con leishmaniosis en diferentes fases de la enfermedad. Para ello, se incluyó una población de 19 perros, los cuales se dividieron en 3 grupos: grupo I (control), grupo II (perros con leishmaniosis sin enfermedad renal) y grupo III (perros con leishmaniosis y enfermedad renal). Los grupos II y III presentaron concentraciones de estos biomarcadores más elevadas que el grupo I. El grupo III presentó un aumento significativo en los niveles de NT-proBNP y troponina I respecto al resto de grupos. Los estudios histopatológicos realizados a varios perros del grupo III, confirmaron la presencia de lesiones inflamatorias en el tejido miocárdico y la presencia del parásito en el mismo fue demostrada mediante el uso de PCR. Los resultados obtenidos sugieren que la leishmaniosis en estadios avanzados podría producir fenómenos de remodelación miocárdica y destrucción de los miocitos.

INTRODUCCIÓN

Troponina cardíaca I:

Las troponinas (Tn) son proteínas reguladoras que forman parte del aparato contráctil del tejido muscular esquelético y cardíaco, no estando presentes en el tejido muscular liso. Existe bajo tres formas diferentes, TnI, TnT y TnC.

La troponina cardíaca I (cTnI) es una proteína que pertenece al complejo troponina-miosina de los cardiomiocitos. Su concentración es muy baja o apenas detectable en perros sanos. El nivel de cTnI aumenta durante el daño de cardiomiocitos debido a hipoxia, toxemia o miocarditis.

NT-proBNP:

NT-proBNP es una neurohormona secretada por las aurículas y los ventrículos en respuesta a la expansión del volumen o la sobrecarga de presión. Es un biomarcador cardíaco funcional que se incrementa con el estrés, estiramiento o tensión en los cardiomiocitos, debido a la enfermedad cardíaca oculta o manifiesta. El uso de NT-proBNP ayuda en el diagnóstico de la insuficiencia cardíaca congestiva, la detección de la enfermedad oculta, la estratificación del riesgo, y el tratamiento y el pronóstico de las enfermedades del corazón.

Leishmaniosis:

La leishmaniosis canina (CanL), producida por *Leishmania infantum*, es una importante zoonosis global, potencialmente peligrosa para los seres humanos y los perros, siendo estos el principal reservorio de infección para los primeros.

En España, se ha reportado que la seroprevalencia de esta enfermedad varía entre el 5% y el 30%, dependiendo de la región¹.

La infección por el protozoo *L. infantum* en el perro sigue un curso crónico con un periodo pre-clínico variable, desde algunos meses hasta varios años. Los perros infectados pueden desarrollar enfermedad multisistémica y una muerte rápida si no es tratada eficazmente, mientras otros permanecen asintomáticos o desarrollan uno o más síntomas leves. Esta enfermedad, puede clasificarse en visceral, cutánea o mucocutánea, dependiendo del tropismo que presente.

Pese a que los signos de enfermedad cardíaca rara vez se reportan en la leishmaniosis canina, es un hecho indiscutible que durante el transcurso de esta enfermedad se producen lesiones miocárdicas y que el parásito se puede encontrar en el tejido cardíaco. Tanto es así, que las lesiones miocárdicas pueden ser comunes e importantes en estos perros, incluso en ausencia de signos clínicos².

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se ha elaborado con el fin de estudiar las concentraciones de cTnI y NT-proBNP como biomarcadores de daño miocárdico en perros con leishmaniosis. Para ello se ha realizado un estudio prospectivo, incluyendo en el mismo 19 perros, que han sido atendidos por el Servicio de Medicina Interna de Pequeños Animales del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura entre los meses de Junio y Diciembre de 2016.

XIV Congreso Andaluz de Veterinarios

Estos animales fueron sometidos a una exploración física completa y a diferentes pruebas (hematología, bioquímica sanguínea, análisis de orina, radiografía, medida de la presión arterial sistólica, ecocardiografía y estudio electrocardiográfico) con el fin de emitir un diagnóstico y tratamiento sobre ellos. Las pruebas realizadas eran complementadas con las mediciones de cTnI y NT-proBNP del suero y plasma utilizados durante las pruebas diagnósticas pertinentes.

Los perros estudiados se dividieron en 3 grupos diferentes:

- Grupo I: grupo control, formado por perros sanos.
- Grupo II: Perros con leishmaniosis sin enfermedad renal.
- Grupo III: Perros con leishmaniosis y con enfermedad renal. Se realizó un estudio postmortem completo a 6 perros de este grupo, incluyendo estudio histopatológico del tejido cardiaco y técnica de PCR a este mismo tejido.

Para la realización de este estudio, fue empleado el software estadístico informático SPSS para Windows 7 (versión 15.0).

RESULTADOS

La valoración de las concentraciones de cTnI en suero y NT-proBNP en plasma fue realizada a los 19 animales objeto de estudio. Los rangos de referencia utilizados fueron facilitados por el laboratorio que procesó las muestras (tabla 1).

Existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de cTnI entre los grupos I y III ($P=0,003$) y grupos II y III ($P=0,002$).

En cuanto al NT-proBNP el grupo III, presenta diferencias estadísticamente significativas con el grupo I ($P=0,003$) y el grupo II ($P=0,002$).

Se practicó la necropsia a 6 animales del grupo III, realizando estudios histopatológicos y la técnica de PCR al tejido miocárdico a todos ellos. En el

estudio histopatológico se observaron zonas de hemorragia, degeneración e inflamación (principalmente miocarditis intersticial linfoplasmocitaria y perivasculitis linfoplasmocitaria), prevaleciendo unas u otras en mayor o menor medida.

La técnica de PCR realizada al tejido miocárdico de los 6 perros detectó la presencia de *Leishmania* spp. en todas las muestras.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, todos los perros con CanL y enfermedad renal tuvieron valores de cTnI superiores a 0,06 ng/ml, presentando una media de 24,79 ng/ml, resultando superior a los observados por otros autores³. Estos valores de cTnI del grupo III se encuentran muy elevados, incluso más que las concentraciones de cTnI en perros con diversas enfermedades cardíacas⁴.

Los perros que sólo presentaron leishmaniosis tuvieron una concentración media de cTnI de 0,05 ng/ml, superior a los perros sanos, pero sin llegar a los valores establecidos para perros con leishmaniosis visceral asintomáticos u oligosintomáticos descritos en la bibliografía consultada⁵. Esto puede deberse a que la enfermedad se encontraba en sus primeras fases, no haciéndose patentes aún cambios significativos en los diferentes órganos, entre ellos el corazón.

Los perros con leishmaniosis sin enfermedad renal (Grupo II) han presentado una concentración media de NT-proBNP de 605 pmol/l, dato algo inferior al obtenido por otros autores⁵. Sin embargo, en los animales con leishmaniosis y enfermedad renal (Grupo III), el valor de NT-proBNP aumenta a un valor medio de 6.894 pmol/l, casi 6 veces superior a los obtenidos en perros con leishmaniosis visceral polisintomáticos en el estudio de otros autores⁵.

Si comparamos las medias de los grupos I y II se observa que, pese a no ser significativamente diferentes, hay una diferencia de casi el doble de concentración, lo que parece indicar que durante las primeras etapas de la leishmaniosis, ya existe algún proceso que esté dando lugar a remodelación miocárdica⁵, agravándose de una forma importante durante el transcurso de la enfermedad.

El hecho de que la cTnI y el NT-proBNP aumenten indica que no solo existe necrosis o apoptosis celular, como demuestran los niveles de cTnI, sino que también existe remodelación y, por consiguiente, estrés celular, como demuestra la concentración de NT-proBNP.

Es un hecho probado que la enfermedad renal puede producir desórdenes cardiovasculares. Sin embargo, los niveles de cTnI y NT-proBNP obtenidos en el grupo III de este estudio, se encuentran muy por encima de los descritos en la bibliografía para perros con enfermedad renal únicamente^{6, 7}. Los hallazgos histopatológicos más comunes en los 6 animales a los que se les realizó este estudio (grupo III) fueron hemorragias, degeneración (tejido conjuntivo cicatricial, tumefacción turbia, vacuolas, etc) e inflamación (principalmente miocarditis intersticial linfoplasmocitaria y perivasculitis linfoplasmocitaria), al igual que describen otros autores².

Pese a no poder obtener imágenes del parásito en la histología del corazón, se ha podido confirmar la presencia del mismo por medio de la técnica PCR.

CONCLUSIONES

1) Los perros con CanL presentan un aumento de concentración de cTnI, lo que indica la presencia de lesión en el tejido miocárdico, agravándose en las fases más avanzadas de la enfermedad.

2) Los perros con CanL presentan un aumento en la concentración de NT-proBNP, indicativo de fenómenos de remodelación miocárdica, haciéndose más patentes en fases avanzadas de la enfermedad.

3) La CanL puede producir lesiones miocárdicas como hemorragias, miocarditis intersticial

	Valor de referencia	Grupo I (n=5)	Grupo II (n=6)	Grupo III (N=8)
cTnI	<0,06 ng/mL	0,02±0,008	0,05±0,06	24,79±54,96
NT-proBNP	<900 pmol/L	339±210	605±460	6984±3169

Tabla 1. Concentración media de cTnI y NT-proBNP en perros de los grupos I, II y III

XIV Congreso Andaluz de Veterinarios

linfoplasmocitaria, perivasculitis linfoplasmocitaria y fenómenos de degeneración en perros con fases avanzadas de la enfermedad.

4) Mediante la técnica PCR se puede demostrar la presencia de *Leishmania infantum* en el miocardio de perros con CanL y aumento de cTnI y NT-proBNP.

REFERENCIAS

1.- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L et al. Directions for the diagnosis clinical staging treatment and prevention

of canine leishmaniosis: *Veterinary Parasitology*. 2009; 165: 1-18.

2.- Rosa FA, Leite JHAC, Braga ET, Moreira PRR, Baltazar FH et al. Cardiac lesions in 30 Dogs Naturally Infected With *Leishmania infantum* chagasi: *Veterinary Pathology*. 2014, 51(3): 603-606.

3.- Silvestrini P, Piviani M, Alberola J, Rodríguez A, Planellas M, Roura X et al. Serum cardiac troponin I concentrations in dogs with leishmaniosis: correlation with age and clinicopathologic abnormalities: *Veterinary Clinic Pathology*. 2012, 41(4): 568-574.

4.- Oyama MA, Solter PF. Validation of an immunoassay for measurement of canine cardiac

troponin-I: *Journal of Veterinary Cardiology*. 2004; 6: 17-24.

5.- Silva VBC, Sousa MG, Araújo CRA, Lima ABG, Carareto R. Cardiac biomarkers in dogs with visceral leishmaniosis: *Archivos de Medicina Veterinaria*. 2016; 48: 269-275.

6.- Raffan E, Loureiro J, Dukes-McEwan J, Fonfara S et al. The Cardiac Biomarker NT-proBNP Is Increased in Dogs with Azotemia: *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2009; 23(6): 1184-1189.

7.- Sharkey LC, Berzina I, Ferasin L. Evaluation of serum cardiac troponin I concentration in dogs with renal failure: *Journal of the American Veterinary Association*. 2009; 234: 767-770.

Estudio de la concentración urinaria de la lipocalina asociada a gelatinasa neutrofílica (NGAL) para el diagnóstico temprano de enfermedad renal en perros con leishmaniosis

AUTORES: Lucía Beatriz Castellero Gómez¹, Pablo Charlo Casado¹, Marina Gómez Castro¹, Javier Salado Tato², Patricia Ruiz Tapia¹, José Ignacio Cristóbal Verdejo¹, Rafael Barrera Chacón¹ – 1 Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura, 2 Clínica Veterinaria Montemar (Alcázar)

INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal constituye una de las enfermedades más diagnosticada en perros, con una prevalencia del 0,5-0,7%¹. Una causa frecuente es la leishmaniosis², y España se considera un país endémico, al estar en la Cuenca del Mediterráneo³. Es responsable de un proceso inflamatorio que comprende el desarrollo de nefritis y glomerulonefritis progresiva. Ello produce un cuadro sintomático variable, que puede comenzar con proteinuria leve, y concluir en enfermedad renal crónica (ERC) irreversible, principal causa de mortalidad en perros con esta enfermedad. Esch y col., en 2015⁴, demostraron que perros con leishmaniosis clínicamente sanos pueden presentar el mismo tipo de lesión renal histológica que los enfermos (hipercelularidad mesangial, hipersegmentación glomerular, nefritis intersticial y depósito de colágeno).

Habitualmente, para el diagnóstico de la ERC se recurre a la determinación de urea y creatinina plasmáticas, densidad urinaria y proteinuria. Sin

embargo, estos parámetros presentan limitaciones para el diagnóstico, ya que aumentan cuando se ha producido una avanzada alteración de la funcionalidad. Es imprescindible el estudio de biomarcadores de enfermedad renal tempranos, que permitan la instauración de un tratamiento que alargue la supervivencia del animal.

Actualmente se está estudiando la lipocalina asociada a gelatinasa neutrofílica (NGAL), glicoproteína lisosomal de las células tubulares proximales. Se considera marcador de daño tubular temprano, estudiado en daño renal agudo (DRA) y en ERC en perros.

Se ha establecido como hipótesis comprobar la utilidad de la concentración de NGAL plasmático y urinario como biomarcador temprano de enfermedad renal en perros con leishmaniosis⁵.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio clínico prospectivo en 62 perros, pacientes del

Hospital Clínico Veterinario (HCV) de la Universidad de Extremadura (UEx) (Comité de Ética de Experimentación Animal de la UEx).

Los animales fueron clasificados en: Grupo Control: 10 animales sanos, negativos a leishmaniosis.

Grupo Problema: 52 perros con leishmaniosis, clasificados según la Guía LeishVet³:

Fase I (N = 14), Fase II (N = 12), Fase III (N = 12) y Fase IV (N = 14).

En todos se realizó hematología completa, bioquímica plasmática (concentración de urea, creatinina, proteínas totales, albúmina, calcio, fósforo, cistatina C, GGT y NGAL) y análisis de orina, incluido UP/C, densidad urinaria y concentración de NGAL (kit específico de NGAL canino Abcam resultados expresados en ratio con creatinina urinaria, uNAG/Cr).

El diagnóstico de leishmaniosis se llevó a cabo mediante visualización del parásito en muestras de ganglio y/o médula ósea y por enzimoimmunoensayo (kit Q letitest