

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Acceso gratuito



La intervención dietética reduce el aumento de tamaño de la aurícula izquierda en perros con enfermedad mixomatosa de la válvula mitral preclínica precoz: estudio aleatorizado, controlado y enmascarado en 36 perros

Qinghong Li^{1*}, Allison Heaney², Natalie Langenfeld-McCoy¹, Brittany Vester Boler¹ y Dorothy P. Laflamme³

Resumen

Información básica: La enfermedad mixomatosa de la válvula mitral (MMVD del inglés *Myxomatous Mitral Valve Disease*), la cardiopatía natural más frecuente en los perros, se asocia a alteraciones del metabolismo energético, estrés oxidativo e inflamación. La privación energética desempeña un papel causal en el desarrollo de la insuficiencia cardíaca. Este estudio se diseñó para determinar si una fórmula de protección cardíaca (CPB del inglés *Cardiac Protection Blend*) que contenga triglicéridos de cadena media como fuente de energía alternativa, aceite de pescado para reducir la inflamación, antioxidantes y otros nutrientes esenciales importantes para la salud y la función cardíacas podría ralentizar o prevenir la progresión de la MMVD. En un estudio enmascarado y controlado con placebo de seis meses de duración se incluyeron 19 perros con MMVD en estadio precoz y 17 perros sanos emparejados por raza, edad y sexo. Se asignó aleatoriamente a perros de cada grupo de salud cardíaca a recibir dieta de control (CONT) o una dieta complementada con CPB. Se practicó un ecocardiograma al inicio y a los tres y seis meses.

Resultados: No se observaron cambios en los perros sanos. Aunque los perros con MMVD tratados con CONT presentaron un aumento medio del 10% con respecto al inicio en diámetro de la aurícula izquierda (DAI) y el cociente entre aurícula izquierda y raíz aórtica (AI/Ao) a los seis meses, los perros con MMVD-tratados con CPB mostraron disminuciones del 3%, lo que causó interacciones significativas entre dieta y tiempo ($P = 0,037$, $P = 0,005$, respectivamente). Hubo más perros con MMVD que recibieron CONT que mostraron progresión desde el estadio B1 al B2 durante el estudio. Se observó una correlación positiva entre las variaciones a los seis meses del DAI y las presiones arteriales en los perros con MMVD alimentados con CPB (sistólica: $P = 0,050$, diastólica: $P = 0,035$), pero no en los perros con MMVD que recibieron CONT.

Conclusiones: Nuestros resultados demostraron la eficacia de la intervención dietética basada en CPB para reducir el tamaño de la AI y la insuficiencia mitral, así como para retrasar o prevenir la progresión de la MMVD precoz en perros.

Palabras clave: *Dietary intervention, Mitral valve disease, Dogs, Medium chain triglycerides, Congestive heart failure, Randomized controlled trial*

* Correspondencia: Qinghong.Li@rd.nestle.com

¹Nestlé Purina Research, St. Louis, MO, EE.UU.

Al final del artículo hay una lista completa con información sobre los autores



© Los autores. 2019 **Acceso gratuito** Este artículo se distribuye en las condiciones de la Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) que permite su uso, distribución y reproducción sin restricciones por cualquier medio, siempre que se cite adecuadamente a los autores y las fuentes originales, se proporcione un enlace con la Creative Commons license y se indique si se han realizado cambios. La exención de la *Creative Commons Public Domain Dedication* (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) se aplica a los datos de este artículo, a menos que se indique lo contrario.

Información básica

La enfermedad mixomatosa de la válvula mitral (MMVD del inglés *Myxomatous Mitral Valve Disease*) canina es una enfermedad natural frecuente en los perros que se caracteriza por una degeneración valvular lentamente progresiva que causa insuficiencia mitral. Según las declaraciones de consenso del *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) [1], los perros en fase preclínica con un soplo cardíaco por insuficiencia mitral pero sin signos clínicos de insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) se clasifican en estadio B, que se subclasifica en B1 o B2 según se demuestre la ausencia o presencia de remodelación cardíaca. Los perros con signos clínicos evidentes de insuficiencia cardíaca se clasifican en estadio C. La MMVD suele progresar lentamente, con un periodo preclínico prolongado. Sin embargo, una vez que entra en el estadio C con ICC, la enfermedad avanza más rápidamente, con una supervivencia media inferior a 12 meses [2]. Por tanto, resulta muy interesante retrasar o prevenir la progresión de la MMVD en los estadios preclínicos iniciales para prolongar la longevidad y mejorar la calidad de vida de los perros afectados.

En condiciones normales, aproximadamente el 70–90% del ATP generado en el corazón de los mamíferos adultos procede de la oxidación de ácidos grasos y el balance procede de la oxidación de glucosa, lactato y otros sustratos energéticos [3–5]. Datos significativos indican que la disfunción mitocondrial que provoca privación de energía en el miocardio desempeña un papel causal en el desarrollo de insuficiencia cardíaca [6–10]. En modelos de roedores se ha descrito un desplazamiento hacia una mayor dependencia de la glucólisis como principal fuente de energía en el contexto de una capacidad reducida de oxidación de ácidos grasos en el corazón debilitado [11]. Además, el estrés oxidativo secundario a disfunción mitocondrial u otras causas se asocia estrechamente a cardiopatías e insuficiencia [10,12,13].

La MMVD canina se asocia a numerosas alteraciones metabólicas que pueden ser causa o consecuencia de esta enfermedad. En investigaciones metabólicas y transcriptómicas previas en las que se evaluaron tejidos cardíacos y muestras de suero se documentaron diversos cambios celulares y metabólicos en perros con MMVD [14]. La mayoría de estos cambios podrían clasificarse en conjunto como alteraciones del metabolismo energético, estrés oxidativo, inflamación y vías de homeostasia de la matriz extracelular [14–16]. Los marcadores del metabolismo energético en perros con MMVD mostraron una alteración de la oxidación y la cetosis de ácidos grasos y una mayor dependencia del metabolismo anaerobio de la glucosa. El objetivo de este estudio era evaluar el impacto clínico de una dieta con una fórmula de nutrientes diseñada para abordar estos cambios metabólicos en perros con MMVD natural precoz.

Los ácidos grasos de 8 y 10 carbonos (ácido caprílico y ácido cáprico, respectivamente) de los triglicéridos de cadena media (TCM) proporcionan una posible fuente de energía alternativa. Los TCM se digieren y absorben fácilmente y el resultado es que los ácidos grasos pueden atravesar la barrera mitocondrial sin necesidad de carnitina y se oxidan rápidamente. Se ha demostrado que una dieta suplementada con TCM previene el remodelado cardíaco progresivo en ratas con hipertensión espontánea, posiblemente mediante el mantenimiento de la energía miocárdica y la reducción del estrés oxidativo [17]. Se han propuesto los TCM para su posible aplicación clínica en el tratamiento de cardiopatías en seres humanos [18].

La función ineficaz de la energía mitocondrial puede contribuir al estrés oxidativo aumentando la producción de radicales libres [19]. Las fuentes de energía alternativas, como los TCM, los cofactores mitocondriales como la carnitina o los precursores de la carnitina, más los antioxidantes pueden ayudar a abordar este problema reduciendo la producción de radicales libres y agotando los ya producidos [12,13,20–22]. La taurina, un nutriente necesario para la función cardíaca normal, también actúa como antioxidante [20,23]. La vitamina E, conocida desde hace mucho tiempo como antioxidante celular, también tiene propiedades antiinflamatorias [24–26]. Múltiples estudios han demostrado una asociación inversa entre la ingesta de vitamina E y el riesgo de enfermedad cardiovascular en los seres humanos [26]. Los ácidos grasos omega 3 de cadena larga, en especial el ácido eicosapentanoico, ayudan a reducir los mediadores inflamatorios y el estrés oxidativo, reducen las arritmias cardíacas, reducen el remodelado y la disfunción del corazón y reducen la presión arterial [27,28].

El magnesio (Mg) es un mineral esencial para la función cardíaca normal y ejerce una acción antiarrítmica [29,30]. También reduce la hipertensión y ejerce efectos antioxidantes y antihiperlipidémicos [31,32]. En el ser humano, un Mg insuficiente se correlaciona con insuficiencia cardíaca y mayor riesgo de diversos trastornos cardiovasculares [30,33–35]. La carencia de Mg contribuye al prolapso de la válvula mitral y se ha asociado a un aumento de la calcificación de las válvulas mitrales y del grosor de la íntima-media en pacientes humanos con diabetes [36,37].

En lugar de intentar modificar un nutriente cada vez, la dieta evaluada en este estudio contenía una combinación de varios nutrientes complementarios (Tabla 1). En estudios anteriores se ha demostrado que las combinaciones de nutrientes funcionan mejor que los suplementos nutricionales individuales [38,39]. Se llevó a cabo un estudio de intervención enmascarado, aleatorizado y controlado con placebo, utilizando la evaluación ecocardiográfica como criterio de valoración

Tabla 1 Composición de la dieta de control (CONT) y de la dieta en estudio (CPB)

Componentes	CONT		CPB	
	% Dieta			
Fórmula de dieta basal ¹	90,70		86,00	
Proteína de huevo	1,99		0	
Grasa de vacuno	9,30		0	
Aceite TCM	0		5,00	
Aceite de pescado	0		2,85	
Harina de pescado	0		3,39	
L-lisina	0		1,26	
DL-metionina	0		1,02	
Taurina	0		0,13	
Sulfato de magnesio	0		0,20	
DL alfa tocoferol, suplementario	0		0,15	
	% de materia seca		Por 100 kcal EM	
Contenido de nutrientes ²	CONT	CPB	CONT	CPB
			g/100 Kcal	
Proteínas crudas	28,70	29,92	7,16	7,67
Grasa (hidrólisis ácida)	16,65	14,88	4,16	3,82
Fibra cruda	3,82	3,92	0,95	1,01
Ceniza	5,49	5,92	1,37	1,52
Carbohidratos (por diferencia)	45,33	45,35	11,31	11,63
Lisina	1,16	2,12	0,29	0,54
Metionina	0,61	1,49	0,15	0,38
EPA y DHA	0,06	0,72	13,88	183,57
			mg/100 Kcal	
Na	0,23	0,24	58,55	61,46
Mg	0,11	0,14	28,02	35,20
Taurina	0,07	0,20	17,30	52,21
Vitamina E (α -tocoferol) ³	0,15	0,84	3,80	21,46
EM (calc.), kcal/g	4,00	3,89		

DHA = ácido decosahexanoico; EM = energía metabolizable, y EPA = ácido eicosapentanoico; son ácidos grasos omega 3 de aceite de pescado

¹Dieta basal compuesta por cereales (maíz, arroz, trigo), proteínas (aves, gluten de maíz y harina de gérmenes de maíz), fibras alimentarias (pulpa de remolacha, celulosa), vitaminas y minerales y aditivos saborizantes

²El análisis de nutrientes medios se basa en la media de tres series de fabricación de dieta separadas

³La concentración de vitamina E se expresa en UI/g (en materia seca) o UI/100 kcal

principal, para valorar el efecto de la dieta sobre la progresión de la MMVD en estadio precoz en perros. Las medidas clínicas que mejor se asocian a la progresión de la MMVD leve son el grado de insuficiencia mitral (IM) y las variables ecocardiográficas de diámetro de la aurícula izquierda (DAI) y tamaño de la aurícula izquierda medido como el cociente entre el diámetro de la aurícula izquierda y la raíz aórtica (AI/Ao) [40,41]. Este estudio se realizó en perros afectados de forma natural por la MMVD. Se incluyó un

grupo de perros sanos emparejados por edad, sexo y raza para evaluar los cambios asociados a esta fórmula de nutrientes en perros sanos.

Resultados

En este estudio de seis meses, se incluyeron 19 perros con MMVD (17 Beagle y 2 Schnauzer miniatura) y 17 perros sanos emparejados por edad, sexo, estado corporal y raza (15 Beagle y 2 Schnauzer miniatura). Un perro con MMVD del grupo de dieta CONT fue retirado del estudio tras la evaluación de los tres meses, a causa de un linfoma. Todos los demás perros mantuvieron una buena salud durante todo el estudio. Cinco perros con MMVD habían recibido enalapril y dos de ellos también recibieron pimobendán durante al menos tres meses antes de la inclusión. Estos perros se dividieron aproximadamente por igual entre los dos grupos de dieta: el grupo de CPB incluyó un perro tratado solo con enalapril y otro tratado con ambos medicamentos, mientras que los otros tres eran del grupo de CONT. Los medicamentos se mantuvieron sin cambios durante todo el estudio.

No se observaron diferencias entre los dos grupos de dieta en ninguna de las variables ecocardiográficas o físicas en el momento basal (Tabla 2). En el momento basal, todos los perros con MMVD se encontraban en el estadio B1 ($N = 15$) o B2 ($N = 4$) de ACVIM. La media en el momento basal del cociente AI/Ao era de 1,19 en los perros con MMVD y de 1,04 en los perros sanos ($P = 0,008$), mientras que las del DAI fue de 2,01 cm y 1,90 cm, respectivamente ($P = 0,38$). Todos los valores basales de bioquímica sérica y hemograma completo estaban dentro de los intervalos de referencia normales (no se muestran los datos). Se consideró estadísticamente significativo un valor $p < 0,05$.

Resultados en perros sanos

No se observaron cambios significativos en ninguno de los parámetros medidos en perros alimentados con ninguna de las dietas durante el estudio de seis meses, excepto BCS y PAS (archivo adicional 1: Tabla S1). La puntuación de BCS media comenzó siendo ligeramente, pero no significativamente ($P = 0,14$), menor en el momento basal en el grupo de CPB y disminuyó ligeramente durante el estudio, lo que dio lugar a una puntuación BCS media 0,7 unidades menor en los perros del grupo de CPB a los seis meses que en el grupo de CONT ($P = 0,03$). No se observaron diferencias en BCS entre los seis meses y el momento basal en ninguno de los grupos. La PAS media aumentó en 12,9 mm Hg ($P < 0,05$) en el grupo de CONT con respecto al valor basal, mientras que disminuyó en 13,3 mm Hg ($P < 0,01$) en el grupo de CPB. No hubo correlación entre BCS y la PAS ($P = 0,40$) ni entre la variación de BCS y la variación de la PAS ($P = 0,65$).

Tabla 2 Valores basales y características de los perros

	MMVD		Valor de <i>p</i>	Sano		Valor de <i>p</i>
	CONT	CPB		CONT	CPB	
Número total	9	10	nd	8	9	nd
Sexo (M/H)	5/4	6/4	nd	4/4	5/4	nd
Edad, años	11,2 (7,9–13,7)	10,5 (8,1–12,5)	0,45	9,9 (1,6–12,9)	10,3 (8,1–13,0)	0,79
Raza (Beagle/Schnauzer miniatura)	8/1	9/1	nd	7/1	8/1	nd
Variables de la exploración física						
Peso corporal, kg	10,4 (7,43–12,94)	9,8 (6,52–12,69)	0,55	11,0 (7,84–13,58)	12,0 (7,53–15,94)	0,35
BCS	5,2 (4–6)	5,0 (4–6)	0,48	5,8 (5–7)	5,6 (5–6)	0,55
Frecuencia cardíaca	118 (95–140)	112 (95–153)	0,57	120 (93–152)	120 (87–156)	0,99
PAS (mm Hg)	190,8 (150–219)	171,0 (133–218)	0,10	171,2 (146–211)	191,9 (164–217)	0,04
PAD (mm Hg)	104,9 (91–131)	106,2 (77–133)	0,84	99,5 (77–131)	114,3 (73–139)	0,11
Grado de soplo cardíaco (1/2/3/4)	0/4/4/1	1/3/5/1	0,46	0/0/0/0	0/0/0/0	nd
Estadios ACVIM (B1/B2)	7/2	8/2	nd	0/0	0/0	nd
Variables ecocardiográficas						
DAI (cm)	1,97 (1,47–2,58)	2,04 (1,39–2,67)	0,70	1,87 (1,46–2,3)	1,93 (1,37–2,26)	0,70
AI/Ao	1,16 (0,91–1,56)	1,22 (1,1–1,65)	0,54	1,00 (0,77–1,16)	1,07 (0,93–1,24)	0,28
DVI (cm)	3,11 (2,57–3,57)	3,17 (2,62–3,59)	0,69	2,92 (2,54–3,38)	3,00 (2,39–3,49)	0,64
VIM (m/s)	5,50 (5,03–6,28)	5,75 (5,40–6,32)	0,14	nd	nd	nd
FE (%)	74 (67–86)	70 (60–81)	0,14	70 (63–83)	68 (59–74)	0,50
IM (ausente o mínima/leve/moderada/grave)	0/2/5/2	0/0/5/5	nd	7/1/0/0	8/1/0/0	nd

ACVIM = American College of Veterinary Internal Medicine; AI/Ao = cociente entre aurícula izquierda y raíz aórtica; BCS = puntuación de estado corporal; CONT = dieta de control; DAI = diámetro de la aurícula izquierda; DVI = diámetro del ventrículo izquierdo; FE = fracción de eyección; IM = insuficiencia mitral; CPB = fórmula de protección cardíaca (CPB del inglés *Cardiac Protection Blend*); PAD = presión arterial diastólica; PAS = presión arterial sistólica; VIM = velocidad de insuficiencia mitral; MMVD = enfermedad mixomatosa de la válvula mitral (MMVD del inglés *Myxomatous Mitral Valve Disease*); nd, no detectable o determinado. Un perro con MMVD del grupo de dieta de control presentó un linfoma al cabo de tres meses y fue retirado posteriormente del estudio. Las variables continuas se expresan como medias (intervalo). Los valores de *p* se calcularon mediante la prueba de la *t*

Datos ecocardiográficos en perros con MMVD

Hubo una interacción significativa de la dieta según el tiempo en AI/Ao y DAI ($P = 0,005$ y $P = 0,037$, respectivamente) (Fig. 1, Archivo adicional 1: Tabla S2). Los perros con CONT mostraron un aumento significativo del cociente AI/Ao con respecto al valor basal a los tres y seis meses ($P = 0,012$ y $P = 0,010$, respectivamente), mientras que los perros con CPB mostraron una tendencia hacia la disminución ($P > 0,05$). En cuanto al DAI, los perros con CONT mostraron aumentos con respecto al valor basal a los tres y seis meses ($P = 0,06$, $P = 0,022$, respectivamente). No se observaron variaciones con respecto al valor basal en los perros con CPB ($P > 0,05$). Además, calculamos las variaciones porcentuales a los tres o seis meses con respecto a su valor basal en cada perro. Aunque no se observaron diferencias en el DAI ni en el cociente AI/Ao en el momento basal entre los grupos de dieta, el efecto de la dieta se hizo evidente a los 3 meses y se mantuvo durante el estudio de seis meses (DAI: $P = 0,054$ y $P = 0,025$; AI/Ao: $P = 0,006$, $P = 0,049$, respectivamente) (Fig. 2, Archivo adicional 1: Tabla S3).

En los perros con CONT, los aumentos medios a los tres y seis meses fueron del 6,6 y 10,8% en el DAI y del 9,0 y 9,5% en el cociente AI/Ao, respectivamente. Los perros con CPB mostraron reducciones del 3,7% y 2,9% del DAI y reducciones del 7,1% y 2,9% del cociente AI/Ao, respectivamente, durante los mismos tres y seis meses. Seis de los 10 perros con CPB mostraron reducciones del DAI y el cociente AI/Ao después de seis meses, en comparación con solo 1 (DAI) o 2 (AI/Ao) de los perros con CONT. No se observaron cambios significativos en el VI.

Progresión de la IM y la MMVD

Aunque la mayoría de los perros con CONT no mostraron cambios en el grado (ninguna/indicios, leve, moderada o grave) en la gravedad de la IM, 2 (2/8) empeoraron al final del estudio y ningún perro con CONT mejoró (Fig. 3, Archivo adicional 1: Tabla S4). Por el contrario, solo uno (1/10) perro con CPB mostró progresión de moderada a grave, mientras que tres (3/10) mejoraron en este grupo: 2 perros mejoraron de moderada a leve y 1 perro mejoró de grave a leve ($P_{\text{dieta} \times \text{seis meses}} = 0,041$).

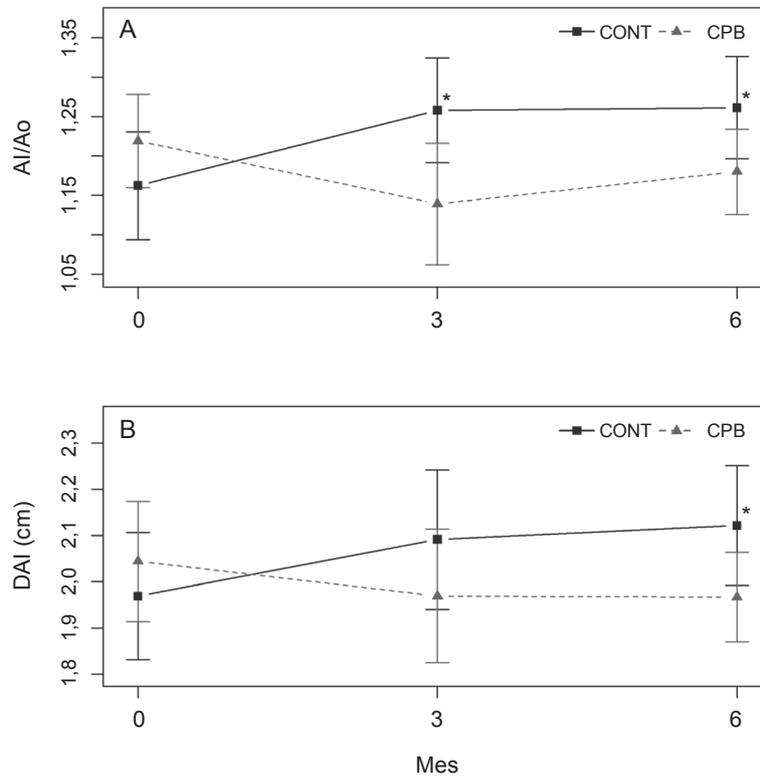


Fig. 1 Efecto de la dieta y el tiempo sobre el tamaño de la aurícula izquierda en perros con MMVD. Los gráficos muestran medias con barras de error estándar para (a) AI/Ao y (b) DAI en perros con MMVD alimentados con la dieta de control (CONT) o en estudio (CPB). Hubo una interacción significativa entre dieta y tiempo ($P < 0,05$) en ambas variables, de modo que en los perros con CONT aumentaron y en los perros con CPB disminuyeron con el tiempo. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

En coherencia con esto, los perros con CONT mostraron progresión de la MMVD de estadio B1 a B2 de ACVIM al cabo de seis meses, pero ninguno de los perros con CPB había tenido progresión (Fig. 4, $P_{dieta \times seis\ meses} = 0,001$, archivo adicional 1: Tabla S4). De acuerdo con los

cocientes de probabilidad, la probabilidad de que un perro con CONT se encontrara en el estadio B2 fue dos veces mayor que la de un perro CPB a los tres meses, aumentando aún más hasta 4 veces la de un perro con CPB a los seis meses.

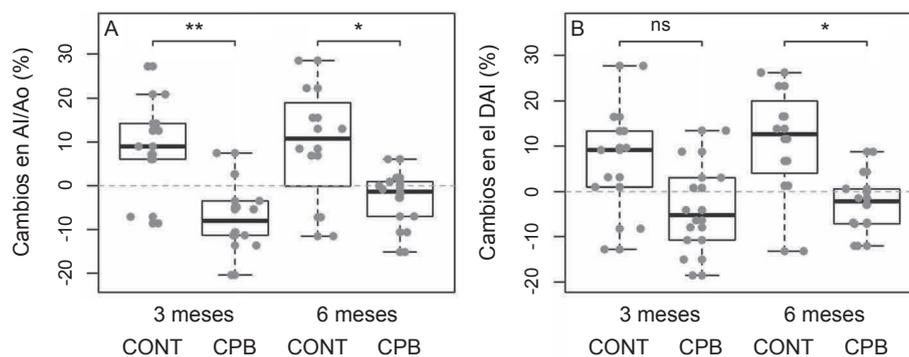


Fig. 2 Variación porcentual con respecto al momento basal de (a) AI/Ao y (b) DAI a los tres y seis meses en perros con MMVD. La línea discontinua horizontal en cada gráfica indica los valores basales. Las líneas inferior, media y superior del recuadro representan los percentiles 25, 50 y 75. Los bigotes indican 1,5 veces el rango intercuartílico del recuadro. Los valores p de la prueba de la t de Student son (a) 0,006 y 0,049 y (b) 0,054 y 0,025, respectivamente. "ns", $P \geq 0,05$, "**", $P < 0,05$, "***", $P < 0,01$. AI/Ao = cociente entre aurícula izquierda y raíz aórtica; CONT = dieta de control; DAI = diámetro de la aurícula izquierda; CPB = fórmula de protección cardíaca (CPB del inglés *Cardiac Protection Blend*)

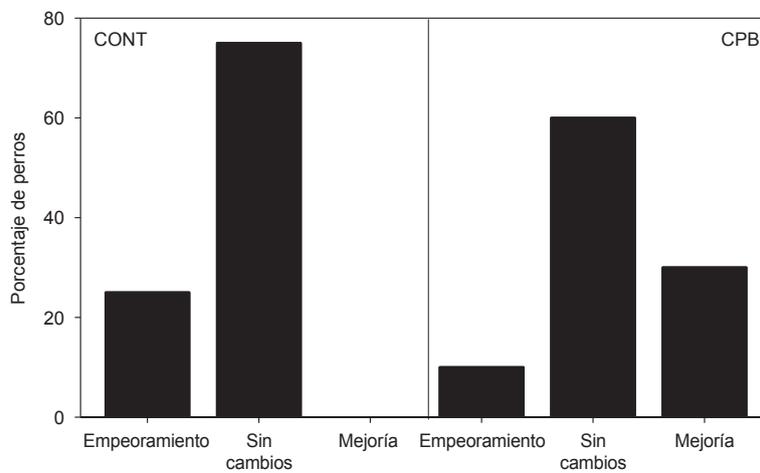


Fig. 3 Efecto de la dieta y el tiempo sobre la gravedad de la insuficiencia mitral en perros con MMVD. Los gráficos presentan el porcentaje de perros que mostraron cambios de al menos un grado en la insuficiencia mitral después de seis meses, en comparación con el momento basal, en perros alimentados con la dieta de control (CONT) o la dieta en estudio (CPB). $P = 0,041$ para la interacción entre dieta y tiempo

Correlación entre el DAI y la PA en perros con MMVD

Aunque la presión arterial aumentó ligeramente con respecto al valor basal en ambos grupos de dieta al cabo de seis meses, estas variaciones no se aproximaron a la significación estadística. Las variaciones en el mismo perro de la DAI se correlacionaron positivamente con las variaciones de la PAS y PAD en perros con CPB ($r = 0,63$ y $0,67$; $P = 0,050$ y $0,035$, respectivamente), pero no se observó correlación en los perros con CONT

(Fig. 5). Es interesante la observación de que los mismos seis perros con CPB que mostraron una reducción del aumento de tamaño de la AI también presentaron una disminución de la presión arterial.

Discusión

Hasta donde sabemos, esta es la primera intervención dietética que retrasa con éxito la progresión de la MMVD en perros. La CPB se formuló para aportar nutrientes

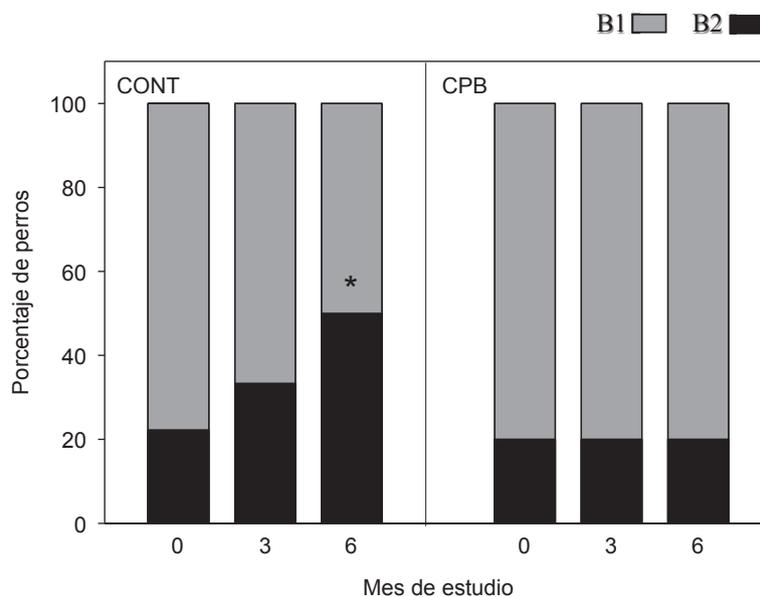
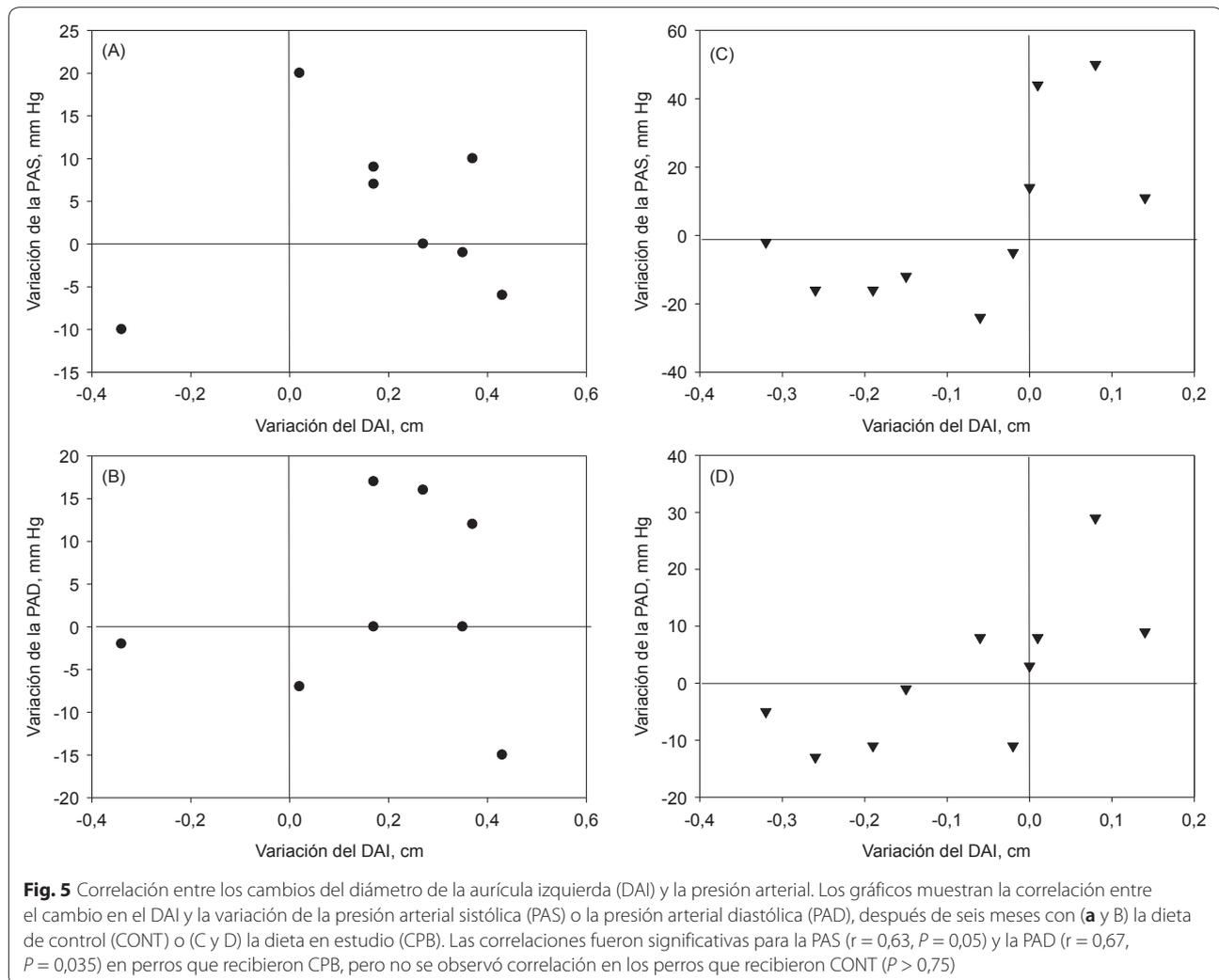


Fig. 4 Progresión de la enfermedad en perros con MMVD según el estadio de ACVIM. La figura muestra el porcentaje de perros en los estadios B1 o B2 de ACVIM a los 0, tres y seis meses del estudio. La interacción entre dieta y tiempo fue significativa a los tres y seis meses, $P < 0,01$. *La CPB difirió del CONT a los seis meses, $P < 0,001$



reconocidos como beneficiosos para trastornos cardiacos, como antioxidantes, precursores de carnitina, taurina, magnesio y ácidos grasos omega 3 de cadena larga. De forma exclusiva, incluía TCM como fuente de energía alternativa. Datos metabólicos y transcriptómicos previos de nuestro laboratorio indicaban que los perros con MMVD tienen un deterioro del metabolismo energético de las grasas y la glucosa [14]. El aceite de TCM utilizado proporcionó una fuente de ácidos grasos de cadena media de 8 y 10 carbonos. A diferencia de los ácidos grasos de cadena larga, los ácidos grasos de cadena media no precisan una vía de transporte mediada por carnitina para atravesar las membranas celular y mitocondrial, por lo que pueden absorberse fácilmente y oxidarse preferentemente para producir ATP sin aumentar el estrés oxidativo [18,21,42,43]. A pesar de los posibles beneficios, solo se ha realizado un número limitado de estudios para investigar los TCM en cardiopatías, principalmente en modelos de rata con

hipertensión espontánea. Hasta donde sabemos, en ningún estudio anterior se investigaron los TCM en cardiopatías en perros.

El grupo de dieta con CPB en la MMVD mostró una mejoría del aumento de tamaño de la aurícula izquierda, determinada mediante ecocardiografía. La ecocardiografía es el método no invasivo más utilizado para evaluar la función cardíaca en perros. El aumento de tamaño de la aurícula izquierda representa el indicador independiente más fiable de progresión de la cardiopatía en los perros con MMVD [41]. El riesgo de padecer ICC aumenta al hacerlo el tamaño de la aurícula izquierda [44]. El cociente AI/Ao, normalizado por el diámetro de la raíz aórtica, proporciona una medición más uniforme del DAI en perros adultos y es independiente del peso corporal [44,45]. Aunque la MMVD se considera una enfermedad de progresión lenta, el cociente AI/Ao y la DAI aumentaron en los perros con MMVD que recibieron CONT en un promedio del 10% con respecto al

valor basal en este estudio de seis meses. Es importante señalar que los perros con MMVD que recibieron CPB mostraron lo contrario, con disminuciones del cociente AI/Ao y el DAI. Seis (6/10) perros con MMVD que recibieron CPB presentaron una reducción tanto del cociente AI/Ao como del DAI, y estos mismos 6 perros presentaron una disminución de la presión arterial. Las variaciones del cociente AI/Ao y del DAI fueron evidentes al cabo de 3 meses y se mantuvieron significativas durante seis meses. Como cabía esperar, el valor basal del cociente AI/Ao fue significativamente mayor en los perros con MMVD que en los perros sanos.

La insuficiencia mitral progresiva, que aumenta el trabajo cardiaco, puede dar lugar al remodelado y el aumento de tamaño tanto auricular como ventricular [1]. Aunque se observó una tendencia similar en las reducciones del VI tanto en modo M (tres y seis meses) como en 2-D (3 meses), las diferencias no fueron estadísticamente significativas. La mayoría de los perros con MMVD de este estudio se encontraban en el estadio B1 inicial. Por tanto, es posible que los perros B1 tuvieran un VI normal o una pequeña dilatación del VI y el cambio fuera demasiado pequeño para detectarse. Sin embargo, el cambio en la AI o el cociente AI/Ao fue claro y constante en nuestro estudio. Nuestros datos indican que los perros de riesgo pueden haber experimentado ya privación de energía miocárdica antes de la MMVD y que la insuficiencia mitral puede provocar la dilatación de la AI ya en la etapa B1. Sería muy interesante contrastar la hipótesis de si la CPB puede retrasar el inicio de la MMVD.

El aumento de tamaño de la aurícula izquierda en la MMVD refleja el grado de gravedad y progresión de la insuficiencia mitral [46]. En consonancia con la mejoría del aumento de tamaño de la aurícula izquierda en perros con CPB, la IM disminuyó: 3/10 de los perros con CPB presentaron menos IM, en comparación con ninguna mejoría en los perros con CONT. Además, 2/8 perros con CONT mostraron un aumento con respecto al valor basal de la IM en comparación con 1/10 perros con CPB. Estos cambios también se reflejaron en la clasificación del ACVIM; tres perros con CONT mostraron progresión de B1 a B2, en comparación con ninguno en el grupo de CPB. En conjunto, nuestros resultados demostraron la eficacia de la CPB para reducir el tamaño de la aurícula izquierda en perros con MMVD precoz y para retrasar o revertir la progresión de la enfermedad en la fase preclínica.

Aunque se recomienda medir y vigilar la PA en perros con MMVD, incluidos los pacientes asintomáticos [1], toda asociación descrita entre la variación de la PA y la progresión con MMVD en perros ha sido escasa e irregular [47,48]. Las PAS registradas en nuestro estudio fueron mayores que las notificadas anteriormente [46–49],

aunque no se observaron diferencias en la PAS entre los perros con MMVD y los perros sanos en el momento basal. También observamos variaciones intraindividuales significativas de la PA, que podrían deberse al síndrome de bata blanca, los movimientos corporales o la excitación del animal durante las mediciones. A pesar de ello, las variaciones de la PAS y la PAD durante seis meses se correlacionaron significativamente con variaciones del DAI en los perros con MMVD que recibieron CPB. Hay que destacar que los mismos seis perros con disminución del aumento de tamaño de la AI también presentaron una disminución de la presión arterial. Un reciente estudio longitudinal de 5,5 millones de adultos en el Reino Unido indicó una asociación entre la PAS elevada y el riesgo de insuficiencia mitral [50]. Aunque en nuestro estudio no se observó correlación entre las variaciones del DAI y la IM, la correlación entre el DAI y la PAS comunicada en nuestro estudio planteó cuestiones interesantes: ¿Se asocia la elevación de la PAS a un mayor riesgo de IM en los perros? ¿Es la IM una consecuencia inevitable del envejecimiento canino? Se necesitan más estudios con cohortes más grandes de perros para abordar estas cuestiones.

Observamos pocas diferencias a lo largo del tiempo en los perros sanos. No se observaron efectos adversos. Resulta interesante la observación de que la PAS disminuyó en los perros sanos alimentados con la dieta CPB, un cambio que también se produjo en algunos de los perros con MMVD que recibieron CPB. También observamos una puntuación BCS significativamente menor al final del estudio en los perros con CPB en comparación con los perros con CONT. Sin embargo, la puntuación BCS media en ambos grupos estuvo dentro del intervalo ideal. Queda por determinar la importancia de este dato, si es que la tiene.

El presente estudio tuvo algunas limitaciones. Una fue el número relativamente pequeño de perros de cada grupo, siendo la mayoría de ellos Beagle. En futuros estudios deberían incluirse más perros pequeños de diferentes razas. Las diferencias en la supervivencia o el tiempo hasta que los perros progresen a un estadio B2 o desarrollen ICC serían criterios de valoración valiosos, pero esto exige un estudio a muy largo plazo. En este estudio se utilizaron el DAI y el cociente AI/Ao como marcadores indirectos de la progresión de la MMVD. En segundo lugar, cinco perros con MMVD de ambos grupos de tratamiento recibían medicación a largo plazo. Ninguno de estos perros mostró mejoría en la IM. Entre los cinco, tres perros con CONT presentaron un aumento de AI/Ao a los seis meses (media = 16,7%), un perro con CPB presentó un aumento del 1,8% y el otro, una disminución del 2,7%. Aunque estos perros recibían estos medicamentos antes del estudio y los mantuvieron durante todo el estudio, y la tendencia a

los cambios del tamaño de la AI en estos perros fue similar a la observada en los grupos más grandes, no podemos descartar posibles efectos de confusión de los medicamentos. Por último, factores como la dirección del chorro y la presión en la aurícula izquierda pueden influir en el aspecto del chorro regurgitante en la evaluación semicuantitativa de la insuficiencia mitral mediante Doppler de flujo en color. En las mediciones de la PA realizadas en este estudio se utilizaron evaluaciones oscilométricas indirectas. Aunque se utilizan habitualmente en clínica, este método se basa en la amplitud de las oscilaciones del manguito de presión y es menos exacto que las mediciones directas invasivas de la presión arterial [51,52]. Cualquier movimiento de un perro puede interferir en la capacidad del dispositivo para proporcionar una estimación exacta. Está justificado un estudio clínico con más perros para evaluar mejor la utilidad clínica de esta dieta.

Conclusiones

Nuestro estudio demostró que la intervención dietética con una fórmula de nutrientes diseñada para abordar los cambios metabólicos asociados a la MMVD en perros fue capaz de retrasar o revertir los cambios cardíacos en perros con MMVD preclínica precoz. Este estudio no aportó la oportunidad de extrapolar los efectos de ningún nutriente individual dentro de la CPB. En lugar de esto, creemos que los nutrientes fundamentales actuaron de manera sinérgica para conseguir la eficacia documentada.

Métodos

Diseño del estudio

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Cuidados y Uso de Animales de la empresa Nestlé Purina® PetCare y cumplió todas las normas establecidas en la Ley de Bienestar Animal del Departamento de Agricultura de Estados Unidos. El estudio fue un ensayo aleatorizado y controlado con placebo, con un diseño factorial 2 por 2 para determinar los efectos de la dieta, el tiempo y su interacción en perros con MMVD o en perros sanos emparejados por edad, sexo y raza. El estudio se llevó a cabo durante seis meses, con obtención de determinaciones clínicas en el momento basal y a los tres y seis meses. El criterio de valoración principal de la eficacia fue la variación entre los grupos de las dimensiones de la aurícula izquierda (DAI y AI/Ao) entre el momento basal y los seis meses. El cardiólogo desconocía la asignación de las dietas durante todo el estudio.

Animales

Se valoró la inclusión en el estudio de dos grupos de perros pequeños y medianos que vivían en un centro de cuidados de animales de Nestlé Purina®, con un peso

corporal inferior a 15 kg: un grupo formado por perros que tenían un soplo sistólico apical izquierdo cardíaco detectable en la auscultación (grupo MMVD) y un grupo de animales de control sanos emparejados por sexo, edad y raza sin signos de cardiopatía (grupo sano). La aleatorización se realizó utilizando un generador de números aleatorios en el programa informático estándar. El algoritmo constó de cuatro pasos. 1. A dos Schnauzer se les asignó aleatoriamente a recibir CONT o CPB. 2. Los Beagle de ambos sexos fueron asignados aleatoriamente a recibir CONT o CPB. 3. Se realizó una prueba de la *t* de Student para la edad, el peso corporal y el grado de soplo (para el grupo de MMVD). 4. Si no se observaban diferencias en el paso 3, se terminaba la aleatorización. De lo contrario, se repetían los pasos 1 a 4.

Todos los perros fueron reevaluados posteriormente mediante ecocardiografía por un cardiólogo veterinario certificado (AH). Todos los perros con MMVD se clasificaron en el estadio B1 o B2, según las directrices de la ACVIM para el diagnóstico de MMVD [1]. Los perros que recibían medicación cardíaca antes de la inclusión la mantuvieron durante todo el estudio. Se determinó que los perros sanos estaban sanos de acuerdo con una exploración física normal, los perfiles de bioquímica sérica y un ecocardiograma. Dentro de cada grupo de salud cardíaca, los perros se dividieron a su vez en dos grupos aleatorizados según la edad, el sexo, la raza, el peso corporal y el grado de soplo (en el grupo de MMVD) y se les asignó aleatoriamente a recibir una de las dos dietas del estudio durante seis meses.

Se alojó a los perros individualmente en circuitos interiores-exteriores contiguos con iluminación natural y adicional en un ciclo de 12 horas. Se mantuvo el acceso libre entre los circuitos contiguos, excepto durante la alimentación. Además, todos los perros hicieron ejercicio con regularidad, como caminatas y tiempo en patios de juegos, y socialización diaria con otros perros y cuidadores. Los perros recibieron sus dietas asignadas como única fuente de nutrición durante seis meses; había agua disponible a voluntad. Se tomaron medidas clínicas al inicio y a los tres y seis meses. Después del estudio, los perros permanecieron en el Centro de Cuidados de Animales de Nestlé Purina® donde siguieron recibiendo todo el bienestar y los cuidados veterinarios del personal de cuidado de animales y de los veterinarios.

Dietas

Las dietas del estudio estaban formuladas para ser isocalóricas e isonitrogenadas y para proporcionar una nutrición completa y equilibrada a los perros adultos (Nestlé Purina® Care Company, St. Louis, MO). Una dieta contenía una fórmula de protección cardíaca (CPB) de

nutrientes que incluía TCM, ácidos grasos omega 3 de cadena larga, lisina y metionina (precursores de carnitina), vitamina E (un antioxidante), magnesio y taurina (Tabla 1). La grasa suministrada en la dieta CPB por los TCM y el aceite de pescado se equilibró mediante el cambio por grasa de vacuno en la dieta de control (CONT). Los perros fueron alimentados individualmente una vez al día para mantener un peso corporal estable durante todo el estudio [53]. No se permitieron chucherías ni otros suplementos durante el estudio.

Determinaciones clínicas

Los resultados principales de este estudio fueron las medidas para evaluar los cambios de la progresión de la MMVD, en concreto el grado de insuficiencia mitral (IM) y las variables ecocardiográficas de diámetro de la aurícula izquierda (DAI) y tamaño de la aurícula izquierda, medido como la proporción entre el diámetro de la aurícula izquierda y la raíz aórtica (AI/Ao).

Todas las exploraciones clínicas, incluidas las exploraciones físicas, los ecocardiogramas y la presión arterial indirecta, se realizaron sin sedación en una sala de exploración tranquila en el momento basal y a los tres y seis meses. Los perros pasaron a evaluaciones clínicas en orden aleatorio. La puntuación BCS se evaluó mediante una escala de 9 puntos en la que una puntuación de 4 o 5 se considera ideal [54]. Todas las evaluaciones cardíacas, entre ellas auscultación cardíaca, ecocardiografía Doppler bidimensional (2-D) en modo M y de flujo en color, fueron realizadas por el mismo cardiólogo veterinario, que desconocía las asignaciones dietéticas de los perros. Las evaluaciones se realizaron con una unidad ecográfica Mylab Alpha equipada con un transductor de 1 - 4 MHz y monitorización electrocardiográfica. Tanto el AI/Ao como el DAI se midieron en 2-D. El cociente entre aurícula izquierda y raíz aórtica (AI/Ao) se midió como el cociente de la dimensión máxima de la aurícula izquierda, que se midió utilizando el diámetro del eje corto de la aurícula izquierda, y el diámetro interno de la aorta medido extendiendo una línea desde la curvatura convexa de la pared del seno aórtico derecho hasta la pared opuesta de la aorta que se alinea con la unión de las valvas valvulares aórtica coronaria izquierda y no coronaria en el primer marco de imagen después del cierre de la válvula aórtica [55]. El diámetro de la aurícula izquierda (DAI) se midió extendiendo la misma línea hasta el borde distal de la aurícula izquierda [44]. Se realizaron mediciones 2-D del ventrículo izquierdo (VI) según el protocolo habitual [56]. Las mediciones ecocardiográficas se realizaron sin conexión después de las visitas de los pacientes, por el mismo cardiólogo (AH) que desconocía el tratamiento en el momento de la medición. La intensidad del soplo

sistólico apical izquierdo se clasificó por grados en una escala de 1 a 6, en la que el grado 1 es el sonido más suave audible en una sala de exploración tranquila con un esfuerzo dado, y el grado seis es el más alto con una vibración palpable audible con el estetoscopio apenas separado del tórax del paciente [57]. La gravedad de la insuficiencia mitral (IM) se calculó mediante el análisis de cámara de recepción calculando la proporción máxima entre el área del chorro regurgitante y el área de la aurícula izquierda utilizando el modo Doppler de flujo en color, como ya se ha descrito [58,59]: La IM se clasificó como nula o mínima si la proporción era del 0% al 5%, como leve si la proporción era inferior al 20%, como moderada si era del 20% al 50% o como grave si era superior al 50%. La velocidad de insuficiencia mitral (VIM) se midió en la proyección apical izquierda de cuatro cavidades con Doppler de onda continua. La presión arterial (PA), incluida la presión arterial sistólica (PAS), la presión arterial diastólica (PAD), la presión arterial media (PAM) y la frecuencia cardíaca (FC), se midieron con un dispositivo oscilométrico automático, pet MAP graphic (Ramsey Medical, Inc., Tampa, FL). Se colocó a los perros en una mesa de exploración de pie, donde se les colocó el manguito en el antebrazo izquierdo. Se calculó la mediana de tres mediciones consecutivas.

Se obtuvieron muestras de sangre venosa en ayunas en el momento basal y a los tres y seis meses para análisis de perfiles químicos séricos y hemograma completo. Se realizaron hemogramas completos con el analizador hematológico Sysmex xs-1000i (Lincolnshire, IL). Los perfiles de bioquímica sérica se analizaron con el analizador de bioquímica Cobas c311 de Roche (Indianápolis, IN).

Análisis estadístico de los datos

Dado que este estudio fue el primero de su clase, no se dispuso de información previa para utilizarla en los análisis de la potencia estadística y se reclutó a los perros en función de la disponibilidad de caninos con MMVD. Los datos se trataron como resultados continuos, excepto la gravedad de la insuficiencia mitral, el estadio ACVIM y el grado del soplo, que se consideraron resultados ordinales. Se tomaron medidas de cada perro en tres momentos, por lo que se utilizaron análisis de modelos mixtos para tener en cuenta las mediciones repetidas. Se utilizaron pruebas de la *t* independientes para comparar los valores basales entre los perros sanos y los perros con MMVD.

Las variables continuas se analizaron utilizando un modelo mixto lineal con el paquete "lme4" en R [60]. El modelo incluyó la dieta, el tiempo y una interacción de la dieta con el tiempo como efectos fijos, ajustados por el sexo, la raza y el peso corporal. El perro se consideró

un efecto aleatorio para tener en cuenta las mediciones repetidas. Se utilizaron residuos para comprobar las suposiciones del modelo. Se utilizaron sumas de cuadrados de tipo III para analizar la significación global de una variable. Se utilizaron parámetros estimados por el modelo para evaluar los cambios entre el momento basal y cada grupo en cada momento de evaluación. Se utilizaron pruebas de la *t* independientes a posteriori para comparar los grupos en cada momento de evaluación con un ajuste de Bonferroni para pruebas múltiples utilizando las “lsmeans” del paquete R [61]. Se consideró significativo un valor de *p* inferior a $0,05/3 = 0,017$.

Las variables ordinales se analizaron utilizando el modelo mixto de vinculación acumulada con el paquete “ordinal” en R [62]. El modelo incluyó la dieta, el tiempo y una interacción entre dieta y tiempo como efectos fijos. El perro se consideró un efecto aleatorio para tener en cuenta las mediciones repetidas. Se utilizaron residuos para comprobar las suposiciones del modelo. Se utilizaron parámetros estimados por el modelo para evaluar los cambios entre el momento basal y cada grupo en cada momento de evaluación. Se utilizaron pruebas a posteriori de una variable latente con una serie de puntos de corte para comparar las diferencias entre los grupos en cada momento, con un ajuste de Bonferroni para pruebas múltiples [61]. Se consideró significativo un valor de *p* inferior a $0,05/3 = 0,017$.

Se realizaron correlaciones de Pearson para evaluar las asociaciones lineales entre los cambios a los seis meses del tamaño de la aurícula izquierda y los de la presión arterial en cada grupo de dieta. Se calcularon razones de posibilidades para los cambios del estadio de ACVIM entre el momento basal y los tres y seis meses.

Información complementaria

Hay **información complementaria** que acompaña a este artículo en <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2169-1>.

Archivo adicional 1: Tabla S1. Presión arterial sistólica y puntuación de estado corporal en perros sanos. **Tabla S2.** Tamaño de la aurícula izquierda en el momento basal y a los tres y seis meses en perros con MMVD. **Tabla S3.** Cambio porcentual del tamaño de la aurícula izquierda con respecto al valor basal en perros con MMVD. **Tabla S4.** Grado de soplo, gravedad de la insuficiencia mitral y estadio ACVIM.

Abreviaturas

ACVIM = American College of Veterinary Internal Medicine; PA = presión arterial; ICC = insuficiencia cardíaca congestiva; CONT = dieta de control; CPB = fórmula de protección cardíaca (CPB del inglés *Cardiac Protection Blend*); PAD = presión arterial diastólica; FC = frecuencia cardíaca; AI = aurícula izquierda; AI/Ao = relación entre el diámetro de la aurícula izquierda y la raíz aórtica; VI = ventrículo izquierdo; PAM = presión arterial media; TCM = triglicéridos de cadena media; MMVD = enfermedad mixomatosa de la válvula mitral (MMVD del inglés *Myxomatous Mitral Valve Disease*); IM = insuficiencia mitral; PAS = presión arterial sistólica

Agradecimientos

Los autores manifiestan su agradecimiento a Laura Hart y Kristin Lower por su ayuda en el estudio de alimentación, la Dra. Melanie Barnes por la medición de la PA y la FC. También estamos agradecidos a los Dres. Hui Xu y Sandeep Bhatnagar por formular y elaborar las dietas.

Consentimiento para la publicación

No procede.

Contribuciones de los autores

QL concibió y desarrolló el proyecto. NLM y QL realizaron el análisis estadístico; DPL diseñó la dieta y el experimento. QL y BVB realizaron el ensayo nutricional; AH realizó la ecocardiografía y las mediciones; QL y DPL redactaron el manuscrito. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito final.

Financiación

El estudio fue financiado por Nestlé Purina® PetCare Company. Todos los autores son empleados o consultores de la empresa y fueron los únicos responsables del diseño del estudio, el análisis y la interpretación de los datos y la preparación del manuscrito.

Disponibilidad de datos y materiales

Los conjuntos de datos utilizados o analizados durante el presente estudio están disponibles previa petición razonable dirigida al autor correspondiente.

Aprobación ética y consentimiento para participar

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité institucional de cuidado y uso de animales de la empresa Nestlé Purina® PetCare.

Conflictos de intereses

QL, NLM y BVB son empleados actuales; AH y DPL son consultores remunerados de la empresa Nestlé Purina® Care.

Datos de los autores

¹Nestlé Purina Research, St. Louis, MO, EE.UU. ²Petcardia Veterinary Cardiology, Boulder, CO, Estados Unidos. ³Scientific Communications Consultant, Floyd, VA, Estados Unidos.

Recibido: 22 de julio de 2019 Aceptado: 7 de noviembre de 2019
Publicado en versión electrónica: 27 de noviembre de 2019

Bibliografía

- Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, Fox P, Gordon S, Haggstrom J, Hamlin R, Keene B, Luis-Fuentes V, Stepien R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med.* 2009; 23(6):1142–50.
- Haggstrom J, Boswood A, O'Grady M, Jons O, Smith S, Swift S, Borgarelli M, Gavaghan B, Kresken JG, Patteson M, et al. Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study. *J Vet Intern Med.* 2008;22(5):1124–35.
- Lopaschuk GD, Ussher JR, Folmes CD, Jaswal JS, Stanley WC. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. *Physiol Rev.* 2010;90(1):207–58.
- Lopaschuk GD, Belke DD, Gamble J, Itoi T, Schonekess BO. Regulation of fatty acid oxidation in the mammalian heart in health and disease. *Biochim Biophys Acta.* 1994;1213(3):263–76.
- van der Vusse GJ, van Bilsen M, Glatz JF. Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease. *Cardiovasc Res.* 2000;45(2):279–93.
- Neubauer S. The failing heart—an engine out of fuel. *N Engl J Med.* 2007; 356(11):1140–51.
- Dorn GW 2nd, Vega RB, Kelly DP. Mitochondrial biogenesis and dynamics in the developing and diseased heart. *Genes Dev.* 2015;29(19):1981–91.
- Lai L, Leone TC, Keller MP, Martin OJ, Broman AT, Nigro J, Kapoor K, Kovacs TR, Stevens R, Ilkayeva OR, et al. Energy metabolic reprogramming in the

- hypertrophied and early stage failing heart: a multisystems approach. *Circ Heart Fail.* 2014;7(6):1022–31.
9. Neubauer S, Horn M, Cramer M, Harre K, Newell JB, Peters W, Pabst T, Ertl G, Hahn D, Ingwall JS, et al. Myocardial phosphocreatine-to-ATP ratio is a predictor of mortality in patients with dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 1997;96(7):2190–6.
 10. Martín-Fernández B, Gredilla R. Mitochondria and oxidative stress in heart aging. *Age (Dordr).* 2016;38(4):225–38.
 11. Lionetti V, Stanley WC, Recchia FA. Modulating fatty acid oxidation in heart failure. *Cardiovasc Res.* 2011;90(2):202–9.
 12. Kiyuna LA, Albuquerque RPE, Chen CH, Mochly-Rosen D, Ferreira JCB. Targeting mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart failure: challenges and opportunities. *Free Radic Biol Med.* 2018;129:155–68.
 13. Pashkow FJ. Oxidative stress and inflammation in heart disease: do antioxidants have a role in treatment and/or prevention? *Int J Inflamm.* 2011; 2011:514623.
 14. Li Q, Freeman LM, Rush JE, Huggins GS, Kennedy AD, Labuda JA, Laflamme DP, Hannah SS. Veterinary medicine and multi-Omics research for future nutrition targets: metabolomics and Transcriptomics of the common degenerative mitral valve disease in dogs. *OMICS.* 2015;19(8):461–70.
 15. Mavropoulou A, Guazzetti S, Borghetti P, De Angelis E, Quintavalla C. Cytokine expression in peripheral blood mononuclear cells of dogs with mitral valve disease. *Vet J.* 2016;211:45–51.
 16. Oyama MA, Chittur SV. Genomic expression patterns of mitral valve tissues from dogs with degenerative mitral valve disease. *Am J Vet Res.* 2006;67(8): 1307–18.
 17. Saifudeen I, Subhadra L, Konnottil R, Nair RR. Metabolic modulation by medium-chain triglycerides reduces oxidative stress and ameliorates CD36-mediated cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rat in the initial and established stages of hypertrophy. *J Card Fail.* 2016.
 18. Labarthe F, Gelinat R, Des Rosiers C. Medium-chain fatty acids as metabolic therapy in cardiac disease. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2008;22(2):97–106.
 19. Cedikova M, Pitule P, Kripnerova M, Markova M, Kuncova J. Multiple roles of mitochondria in aging processes. *Physiol Res.* 2016;65(Supplementum 5): 5519–31.
 20. Sanderson SL. Taurine and carnitine in canine cardiomyopathy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2006;36(6):1325–43 vii–viii.
 21. Montgomery MK, Osborne B, Brown SH, Small L, Mitchell TW, Cooney GJ, Turner N. Contrasting metabolic effects of medium- versus long-chain fatty acids in skeletal muscle. *J Lipid Res.* 2013;54(12):3322–33.
 22. Wang ZY, Liu YY, Liu GH, Lu HB, Mao CY. L-Carnitine and heart disease. *Life Sci.* 2018;194:88–97.
 23. Schaffer SW, Jong CJ, Ramila KC, Azuma J. Physiological roles of taurine in heart and muscle. *J Biomed Sci* 2010, 17 Suppl 1:52.
 24. Pryor WA. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med.* 2000;28(1):141–64.
 25. Birringer M, Lorkowski S. Vitamin E: regulatory role of metabolites. *IUBMB Life.* 2019;71(4):479–86.
 26. Sozen E, Demirel T, Ozer NK. Vitamin E: regulatory role in the cardiovascular system. *IUBMB Life.* 2019;71(4):507–15.
 27. Freeman LM. Beneficial effects of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease. *J Small Anim Pract.* 2010;51(9):462–70.
 28. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nutr Rev.* 2010; 68(5):280–9.
 29. Schwinger RH, Erdmann E. Heart failure and electrolyte disturbances. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1992;14(4):315–25.
 30. Del Gobbo LC, Imamura F, Wu JH, de Oliveira Otto MC, Chiuve SE, Mozaffarian D. Circulating and dietary magnesium and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr.* 2013;98(1):160–73.
 31. Mak IT, Kramer JH, Chen X, Chmielinska JJ, Spurney CF, Weglicki WB. Mg supplementation attenuates ritonavir-induced hyperlipidemia, oxidative stress, and cardiac dysfunction in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2013;305(10):R1102–11.
 32. Ozturk N, Olgar Y, Aslan M, Ozdemir S. Effects of magnesium supplementation on electrophysiological remodeling of cardiac myocytes in L-NAME induced hypertensive rats. *J Bioenerg Biomembr.* 2016;48(4):425–36.
 33. Joosten MM, Gansevoort RT, Mukamal KJ, van der Harst P, Geleijnse JM, Feskens EJ, Navis G, Bakker SJ, Group PS. Urinary and plasma magnesium and risk of ischemic heart disease. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(6):1299–306.
 34. Qu X, Jin F, Hao Y, Li H, Tang T, Wang H, Yan W, Dai K. Magnesium and the risk of cardiovascular events: a meta-analysis of prospective cohort studies. *PLoS One.* 2013;8(3):e57720.
 35. Silva AP, Gundlach K, Buchel J, Jeronimo T, Fragoso A, Silva C, Guilherme P, Santos N, Faisca M, Neves P. Low magnesium levels and FGF-23 Dysregulation predict mitral valve calcification as well as intima media thickness in Predialysis diabetic patients. *Int J Endocrinol.* 2015;2015:308190.
 36. Lichodziejewska B, Klos J, Rezier J, Grudzka K, Dluzniewska M, Budaj A, Ceremuzynski L. Clinical symptoms of mitral valve prolapse are related to hypomagnesemia and attenuated by magnesium supplementation. *Am J Cardiol.* 1997;79(6):768–72.
 37. Bobkowski W, Nowak A, Durlach J. The importance of magnesium status in the pathophysiology of mitral valve prolapse. *Magnes Res.* 2005;18(1):35–52.
 38. Huwait EA. Combination of vitamin E and L-carnitine is superior in protection against isoproterenol-induced cardiac affection: a histopathological evidence. *Warsz: Folia Morphol;* 2018.
 39. Kondreddy VK, Anikisetty M, Naidu KA. Medium-chain triglycerides and monounsaturated fatty acids potentiate the beneficial effects of fish oil on selected cardiovascular risk factors in rats. *J Nutr Biochem.* 2016;28:91–102.
 40. Haggstrom J, Hoglund K, Borgarelli M. An update on treatment and prognostic indicators in canine myxomatous mitral valve disease. *J Small Anim Pract.* 2009;50(Suppl 1):25–33.
 41. Borgarelli M, Haggstrom J. Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: natural history, clinical presentation and therapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2010;40(4):651–63.
 42. Bach AC, Babayan VK. Medium-chain triglycerides: an update. *Am J Clin Nutr.* 1982;36(5):950–62.
 43. Papamandjaris AA, MacDougall DE, Jones PJ. Medium chain fatty acid metabolism and energy expenditure: obesity treatment implications. *Life Sci.* 1998;62(14):1203–15.
 44. Rishniw M, Erb HN. Evaluation of four 2-dimensional echocardiographic methods of assessing left atrial size in dogs. *J Vet Intern Med.* 2000;14(4): 429–35.
 45. Lombard CW. Normal values of the canine M-mode echocardiogram. *Am J Vet Res.* 1984;45(10):2015–8.
 46. Borgarelli M, Savarino P, Crosara S, Santilli RA, Chiavegato D, Poggi M, Bellino C, La Rosa G, Zanatta R, Haggstrom J, et al. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *J Vet Intern Med.* 2008;22(11):120–8.
 47. Petit AM, Gouni V, Tissier R, Trehiou-Sechi E, Misbach C, Pouchelon JL, Lefebvre HP, Chetboul V. Systolic arterial blood pressure in small-breed dogs with degenerative mitral valve disease: a prospective study of 103 cases (2007–2012). *Vet J.* 2013;197(3):830–5.
 48. Ljungvall I, Hoglund K, Carnabuci C, Tidholm A, Haggstrom J. Assessment of global and regional left ventricular volume and shape by real-time 3-dimensional echocardiography in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med.* 2011;25(5):1036–43.
 49. Weiser MG, Spangler WL, Gribble DH. Blood pressure measurement in the dog. *J Am Vet Med Assoc.* 1977;171(4):364–8.
 50. Rahimi K, Mohseni H, Otto CM, Conrad N, Tran J, Nazarzadeh M, Woodward M, Dwyer T, MacMahon S. Elevated blood pressure and risk of mitral regurgitation: A longitudinal cohort study of 5.5 million United Kingdom adults. *PLoS Med.* 2017;14(10):e1002404.
 51. Stepien RL, Rapoport GS. Clinical comparison of three methods to measure blood pressure in nonsedated dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1999;215(11): 1623–8.
 52. Haberman CE, Kang CW, Morgan JD, Brown SA. Evaluation of oscillometric and Doppler ultrasonic methods of indirect blood pressure estimation in conscious dogs. *Can J Vet Res.* 2006;70(3):211–7.
 53. Li Q, Lauber CL, Czarnecki-Maulden G, Pan Y, Hannah SS. Effects of the Dietary Protein and Carbohydrate Ratio on Gut Microbiomes in Dogs of Different Body Conditions. *MBio.* 2017;8(1).
 54. Laflamme DP. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Practice.* 1997;22(4):6.
 55. Hansson K, Haggstrom J, Kvarn C, Lord P. Left atrial to aortic root indices using two-dimensional and M-mode echocardiography in cavalier king Charles spaniels with and without left atrial enlargement. *Vet Radiol Ultrasound.* 2002;43(6):568–75.
 56. Bélanger MC. Echocardiography. In: Ettinger SJ, Feldman EC, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 6th ed. St Louis: Elsevier Saunders; 2005. p. 311–26.

57. Prosek R. Abnormal heart sounds and heart murmurs. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 8th ed. St Louis, Missouri: Elsevier; 2017. p. 220–4.
58. Chetboul V, Tissier R. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol*. 2012;14(1):127–48.
59. Muzzi RA, de Araujo RB, Muzzi LA, Pena JL, Silva EF. Regurgitant jet area by Doppler color flow mapping: quantitative assessment of mitral regurgitation severity in dogs. *J Vet Cardiol*. 2003;5(2):33–8.
60. Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw*. 2015;67(1):1–48.
61. Lenth RV. Least-squares means: the R package lsmeans. *J Stat Softw*. 2016; 69(1):1–33.
62. Christensen RHB: ordinal - Regression Models for Ordinal Data. R package version 2018. 8-25. 2018.

Nota del editor

Springer Nature se mantiene neutral respecto a las reclamaciones jurisdiccionales sobre los mapas publicados y las afiliaciones institucionales.