

Reprinted from:



# Veterinary Research

*Veterinary Research* (2019) 15:425

L'intervento dietetico riduce  
la dilatazione atriale sinistra nei cani  
con malattia mixomatosa della valvola  
mitrale preclinica precoce: uno studio  
controllato randomizzato in cieco  
su 36 cani

Qinghong Li, Allison Heaney, Natalie Langenfeld-McCoy,  
Brittany Vester Boler e Dorothy P. Laflamme



ARTICOLO DI RICERCA

Accesso aperto



# L'intervento dietetico riduce la dilatazione atriale sinistra nei cani con malattia mixomatosa della valvola mitrale preclinica precoce: uno studio controllato randomizzato in cieco su 36 cani

Qinghong Li<sup>1\*</sup>, Allison Heaney<sup>2</sup>, Natalie Langenfeld-McCoy<sup>1</sup>, Brittany Vester Boler<sup>1</sup> e Dorothy P. Laflamme<sup>3</sup>

## Abstract

**Background:** La malattia mixomatosa della valvola mitrale (MMVD), la cardiopatia a esordio naturale più comune nei cani, è associata ad alterazioni del metabolismo energetico, stress ossidativo e infiammazione. La deprivazione energetica svolge un ruolo causale nello sviluppo dell'insufficienza cardiaca. Questo studio è stato concepito per determinare se una miscela cardioprotettiva (CPB) di nutrienti contenente trigliceridi a catena media come fonte energetica alternativa, olio di pesce per ridurre l'infiammazione, antiossidanti e altri nutrienti chiave importanti per la salute e la funzione cardiaca possa rallentare o prevenire la progressione della MMVD. Diciannove cani con MMVD allo stadio iniziale e 17 cani sani abbinati per razza, età e sesso sono stati arruolati per uno studio controllato con placebo, in cieco, della durata di 6 mesi. I cani in ciascun gruppo sono stati assegnati casualmente alla dieta di controllo (CON) o alla dieta integrata con CPB. È stata eseguita un'ecocardiografia al basale, a 3 mesi e a 6 mesi.

**Risultati:** Nei cani sani non sono state riscontrate variazioni. Mentre i cani con MMVD del gruppo CON hanno avuto un aumento medio del 10% rispetto al basale per quanto riguarda il diametro atriale sinistro (LAD) e il rapporto atrio sinistro-radice aortica (LA/Ao) a 6 mesi, i cani con MMVD del gruppo CPB hanno mostrato una riduzione del 3%, cosa che rappresenta interazioni significative della dieta con il trascorrere del tempo ( $P = 0,037$ ,  $P = 0,005$ , rispettivamente). Più cani con MMVD del gruppo CON sono passati dallo stadio B1 a B2 durante lo studio. Nei cani con MMVD del gruppo CPB è stata riscontrata una correlazione positiva tra le variazioni a 6 mesi nel LAD e la pressione arteriosa (sistolica:  $P = 0,050$ , diastolica:  $P = 0,035$ ); nei cani con MMVD del gruppo CON la correlazione non è stata riscontrata.

**Conclusioni:** I nostri risultati hanno dimostrato l'efficacia degli interventi dietetici a base di CPB nel ridurre le dimensioni del LA e il rigurgito mitralico e rallentare o prevenire la progressione della MMVD precoce nei cani.

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

## Background

La malattia mixomatosa della valvola mitrale (MMVD) canina è una condizione a esordio naturale ed è caratterizzata da una degenerazione valvolare lentamente progressiva che causa rigurgito mitralico. In base alle dichiarazioni di consenso dell'*American College of*

*Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) [1], i cani in fase preclinica con soffio cardiaco dovuto al rigurgito mitralico, ma senza segni clinici di insufficienza cardiaca congestizia (CHF) sono classificati come stadio B, e ulteriormente classificati in B1 o B2 in base all'assenza o alla presenza di rimodellamento cardiaco. I cani con segni clinici evidenti di insufficienza cardiaca sono classificati come stadio C. La MMVD generalmente progredisce lentamente con un lungo periodo preclinico. Una volta

\* Indirizzo per la corrispondenza: Qinghong.Li@rd.nestle.com

<sup>1</sup>Nestlé Purina Research, St. Louis, MO, USA

Alla fine dell'articolo è disponibile l'elenco completo delle informazioni sull'autore



entrata nello stadio C con CHF, la malattia progredisce più rapidamente con un tempo medio di sopravvivenza inferiore a 12 mesi [2]. Pertanto, è di grande interesse rallentare o prevenire la progressione della MMVD nelle fasi precliniche precoci, per aumentare la longevità e migliorare la qualità della vita dei cani colpiti.

In condizioni normali, circa il 70-90% dell'ATP generato nel cuore dei mammiferi adulti deriva dall'ossidazione degli acidi grassi, con l'equilibrio derivante dall'ossidazione di glucosio, lattato e altri substrati energetici [3–5]. Un'evidenza significativa indica che la disfunzione mitocondriale che porta alla deprivazione energetica del miocardio svolge un ruolo causale nello sviluppo dell'insufficienza cardiaca [6–10]. Nel cuore con insufficienza funzionale in modelli di roditori è stato segnalato un passaggio a una maggiore dipendenza dalla glicolisi come principale fonte energetica nel contesto della ridotta capacità di ossidazione degli acidi grassi [11]. Inoltre, lo stress ossidativo secondario a disfunzione mitocondriale o altre cause è fortemente associato a cardiopatie e insufficienza cardiaca [10,12,13].

La MMVD canina è associata a numerose alterazioni metaboliche che possono essere causa o conseguenza di questa malattia. Precedenti ricerche metabolomiche e trascrittomiche che hanno valutato sia i tessuti cardiaci sia campioni di siero hanno documentato una serie di alterazioni cellulari e metaboliche nei cani con MMVD [14]. La maggior parte di queste alterazioni avrebbe potuto essere classificata collettivamente come alterazioni del metabolismo energetico, stress ossidativo, infiammazione e vie dell'omeostasi della matrice extracellulare [14–16]. I marcatori del metabolismo energetico nei cani con MMVD hanno dimostrato compromissione dell'ossidazione degli acidi grassi e chetosi, e una maggiore dipendenza dal metabolismo del glucosio anaerobico. L'obiettivo di questo studio era valutare l'impatto clinico di una dieta contenente una miscela di nutrienti progettata per affrontare queste alterazioni metaboliche nei cani con MMVD di origine naturale allo stadio iniziale.

Gli acidi grassi a 8 e 10 atomi di carbonio (acido caprilico e acido caprico, rispettivamente) dei trigliceridi a catena media (MCT) forniscono una potenziale fonte di energia alternativa. Gli MCT sono facilmente digeriti e assorbiti e gli acidi grassi risultanti possono attraversare la barriera mitocondriale senza necessità di carnitina, e vengono rapidamente ossidati. È stato dimostrato che una dieta integrata con MCT previene il progressivo rimodellamento cardiaco nei ratti spontaneamente ipertesi, verosimilmente attraverso il mantenimento dell'energia miocardica e la riduzione dello stress ossidativo [17]. Gli MCT sono stati proposti per la potenziale applicazione clinica nella gestione delle cardiopatie umane [18].

Una funzione energetica mitocondriale inefficiente può contribuire allo stress ossidativo per l'aumento della produzione di radicali liberi [19]. Le fonti energetiche alternative, come gli MCT, i cofattori mitocondriali come la carnitina o i precursori della carnitina, oltre agli antiossidanti, possono contribuire ad affrontare il problema riducendo la produzione di radicali liberi e distruggendo quelli prodotti [12,13,20–22]. La taurina, un nutriente necessario per la normale funzione cardiaca, agisce anche da antiossidante [20,23]. La vitamina E, da tempo nota come antiossidante cellulare, ha anche proprietà antinfiammatorie [24–26]. Diversi studi hanno dimostrato un'associazione inversa tra assunzione di vitamina E e rischio di malattie cardiovascolari nell'uomo [26]. Gli acidi grassi a catena lunga omega-3, in particolare l'acido eicosapentenoico, contribuiscono a ridurre i mediatori infiammatori e lo stress ossidativo, le aritmie cardiache, il rimodellamento e la disfunzione del cuore e la pressione arteriosa [27,28].

Il magnesio (Mg) è un minerale essenziale per la normale funzione cardiaca e svolge un'azione antiaritmica [29,30]. Inoltre riduce l'ipertensione e produce effetti antiossidanti e anti-iperlipidemici [31,32]. Nell'uomo, quantità insufficienti di Mg sono correlate a insufficienza cardiaca e maggiore rischio di vari disturbi cardiovascolari [30,33–35]. La carenza di Mg contribuisce al prolasso della valvola mitrale ed è stata associata all'aumento della calcificazione delle valvole mitrali e dello spessore medio intinale in pazienti umani affetti da diabete [36,37].

Anziché cercare di modificare un nutriente alla volta, la dieta testata in questo studio conteneva un *cocktail* di più nutrienti integrativi (Tabella 1). Studi precedenti hanno dimostrato che combinazioni di nutrienti possono funzionare meglio rispetto a integratori con un singolo nutriente [38,39]. Per valutare l'effetto della dieta sulla progressione della MMVD in fase iniziale nei cani, è stato condotto uno studio interventistico randomizzato, in cieco, con gruppo placebo di controllo, utilizzando la valutazione ecocardiografica come *endpoint* primario. Le misure cliniche meglio associate alla progressione della MMVD lieve comprendono il grado di rigurgito mitralico (MR) e le variabili ecocardiografiche del diametro atriale sinistro (LAD) e la dimensione atriale sinistra misurata come rapporto tra diametro atriale sinistro e radice aortica (LA/Ao) [40,41]. Questo studio è stato condotto su cani con MMVD a esordio naturale. Per valutare eventuali variazioni associate a questa miscela di nutrienti tra i cani sani è stato incluso un gruppo di cani sani abbinati per età, sesso e razza.

## Risultati

Nello studio della durata di 6 mesi sono stati arruolati diciannove cani con MMVD (17 Beagle e 2 Schnauzer nani) e 17 cani sani abbinati per età, sesso, condizione

**Tabella 1** Composizione delle diete di controllo (CON) e con miscela cardioprotettiva (CPB)

Ingredienti	CON		CPB	
	Dieta %		EM per 100 Kcal	
Miscela della dieta al basale <sup>1</sup>	90,70		86,00	
Proteine delle uova	1,99		0	
Grassi da carne bovina	9,30		0	
Olio con MCT	0		5,00	
Olio di pesce	0		2,85	
Farina di pesce	0		3,39	
L-lisina	0		1,26	
DL-metionina	0		1,02	
Taurina	0		0,13	
Solfato di magnesio	0		0,20	
DL alfa tocoferolo, integrato	0		0,15	
	% sostanza secca		EM per 100 Kcal	
Contenuto nutritivo <sup>2</sup>	CON	CPB	CON	CPB
			g/100 Kcal	
Proteine grezze	28,70	29,92	7,16	7,67
Grasso (idrolisi acida)	16,65	14,88	4,16	3,82
Fibra grezza	3,82	3,92	0,95	1,01
Ceneri	5,49	5,92	1,37	1,52
Carboidrati (per differenza)	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 e 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 ( $\alpha$ -tocoferolo) <sup>3</sup>	0,15	0,84	3,80	21,46
EM (calc.), kcal/g	4,00	3,89		

EM, energia metabolizzabile; EPA, acido eicosapentenoico e DHA, acido decosaesaenoico, sono acidi grassi omega-3 da olio di pesce

<sup>1</sup>Dieta al basale composta da cereali (mais, riso, grano), proteine (pollame, glutine di mais e farina di germe di mais), fibre alimentari (polpa di barbabietola, cellulosa), vitamine e minerali e additivi aromatizzanti

<sup>2</sup>L'analisi media dei nutrienti si basa sulla media di 3 cicli di produzione separati della dieta

<sup>3</sup>Il livello di vitamina E è espresso in UI/g (sulla materia secca) o in UI/100 kcal

corporea e razza (15 Beagle e 2 Schnauzer nani). Un cane con MMVD nel gruppo CON è stato rimosso dallo studio dopo una valutazione di 3 mesi a causa di linfoma. Tutti gli altri cani sono rimasti in buona salute durante tutto lo studio. Cinque cani con MMVD stavano assumendo enalapril e 2 di questi stavano assumendo anche pimobendan da almeno 3 mesi prima dell'arruolamento. Questi cani erano all'incirca equamente divisi tra i 2 gruppi: il gruppo CPB ha incluso un cane con solo enalapril e un cane con entrambi i farmaci, mentre

il gruppo CON includeva i restanti 3. L'assunzione dei farmaci è proseguita senza variazioni durante tutto lo studio.

Non è stata riscontrata alcuna differenza tra i due gruppi in nessuna delle variabili ecocardiografiche o fisiche al basale (Tabella 2). Al basale, tutti i cani con MMVD erano allo stadio ACVIM B1 ( $N = 15$ ) o B2 ( $N = 4$ ). La media al basale per LA/Ao era 1,19 per i cani con MMVD e 1,04 per i cani sani ( $P = 0,008$ ), mentre i valori di LAD erano rispettivamente 2,01 cm e 1,90 cm ( $P = 0,38$ ). Tutti i valori al basale di chimica sierica ed esame emocromocitometrico completo rientravano nei range di riferimento normali (dati non mostrati). Un valore  $p$  di 0,05 è considerato statisticamente significativo.

### Risultati nei cani sani

Non ci sono state variazioni significative in nessuno dei parametri misurati nei cani sani nutriti con uno dei due alimenti nell'arco dello studio di 6 mesi, eccetto BCS e SAP (file aggiuntivo 1: Tabella S1). Il BCS medio è iniziato con un andamento leggermente, ma non significativamente ( $P = 0,14$ ) inferiore al basale nel gruppo CPB ed è leggermente diminuito nel corso dello studio, determinando a 6 mesi un BCS medio inferiore di 0,7 unità tra i cani nel gruppo CPB rispetto al gruppo CON ( $P = 0,03$ ). All'interno di ogni gruppo non è stata riscontrata alcuna differenza di BCS a 6 mesi e al basale. La SAP media è aumentata di 12,9 mmHg ( $P < 0,05$ ) nel gruppo CON rispetto al basale mentre è diminuita di 13,3 mmHg ( $P < 0,01$ ) nel gruppo CPB. Non vi era correlazione tra BCS e SAP ( $P = 0,40$ ), né tra variazione del BCS e variazione della SAP ( $P = 0,65$ ).

### Dati ecocardiografici in cani con MMVD

Con il trascorrere del tempo, la dieta ha mostrato effetti significativi su LA/Ao e LAD ( $P = 0,005$  e  $P = 0,037$ , rispettivamente) (Fig. 1, file aggiuntivo 1: Tabella S2). I cani nel gruppo CON hanno mostrato un aumento significativo di LA/Ao rispetto ai valori basali a 3 e 6 mesi ( $P = 0,012$  e  $P = 0,010$ , rispettivamente) mentre i cani nel gruppo CPB hanno mostrato una tendenza alla riduzione ( $P > 0,05$ ). Per LAD, i cani nel gruppo CON hanno mostrato aumenti rispetto ai valori basali a 3 e 6 mesi ( $P = 0,06$ ,  $P = 0,022$ , rispettivamente). Non è stata osservata alcuna variazione rispetto al basale nei cani nel gruppo CPB ( $P > 0,05$ ). Inoltre, abbiamo calcolato le variazioni percentuali a 3 o 6 mesi rispetto al valore basale per ogni cane. Sebbene al basale non sia stata osservata alcuna differenza in termini di LAD o LA/Ao tra i gruppi, l'effetto della dieta è diventato evidente entro 3 mesi ed è proseguito nello corso dello studio (LAD:  $P = 0,054$  e  $P = 0,025$ ; LA/Ao:  $P = 0,006$ ,  $P = 0,049$  rispettivamente) (Fig. 2, file aggiuntivo 1:

**Tabella 2** Valori al basale e caratteristiche dei cani

	MMVD		valore <i>p</i>	Sano		valore <i>p</i>
	CON	CPB		CON	CPB	
Numero totale	9	10	N/D	8	9	N/D
Sesso (M/F)	5/4	6/4	N/D	4/4	5/4	N/D
Età, anni	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
Animali da riproduzione (Beagle/Schnauzer nano)	8/1	9/1	N/D	7/1	8/1	N/D
Variabili dell'esame obiettivo						
Peso corporeo, 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
Frequenza cardiaca	118 (95–140)	112 (95–153)	0,57	120 (93–152)	120 (87–156)	0,99
SAP (mmHg)	190,8 (150–219)	171,0 (133–218)	0,10	171,2 (146–211)	191,9 (164–217)	0,04
DAP (mmHg)	104,9 (91–131)	106,2 (77–133)	0,84	99,5 (77–131)	114,3 (73–139)	0,11
Grado del soffio cardiaco (1/2/3/4)	0/4/4/1	1/3/5/1	0,46	0/0/0/0	0/0/0/0	N/D
Stadi ACVIM (B1/B2)	7/2	8/2	N/D	0/0	0/0	N/D
Variabili ecocardiografiche						
LAD (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
LA/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
LVD (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
MVR (m/s)	5,50 (5,03–6,28)	5,75 (5,40–6,32)	0,14	N/D	N/D	N/D
EF (%)	74 (67–86)	70 (60–81)	0,14	70 (63–83)	68 (59–74)	0,50
MR (nessuno o minimo/lieve/moderato/grave)	0/2/5/2	0/0/5/5	N/D	7/1/0/0	8/1/0/0	N/D

MMVD, malattia mixomatosa della valvola mitrale; CON, dieta di controllo; CPB, miscela cardioprotettiva; BCS, punteggio della condizione corporea; LAD, diametro atriale sinistro; LA/Ao, rapporto tra radice aortica e atrio sinistro; LVD, diametro ventricolare sinistro; MVR, velocità di rigurgito mitralico; EF, frazione di eiezione; MR, rigurgito mitralico; SAP, pressione arteriosa sistolica; DAP, pressione arteriosa diastolica; ACVIM, American College of Veterinary Internal Medicine; N/D, non rilevabile o non determinato. Un cane con MMVD nel gruppo con dieta di controllo ha sviluppato un linfoma dopo tre mesi ed è stato successivamente rimosso dallo studio. Le variabili continue sono riportate come media (intervallo). I valori *P* sono stati calcolati usando il *t*-test

Tabella S3). Nei cani del gruppo CON gli aumenti medi a 3 e 6 mesi sono stati rispettivamente del 6,6 e del 10,8% per LAD e del 9,0 e 9,5% per LA/Ao. I cani del gruppo CPB hanno mostrato riduzioni del 3,7 e del 2,9% per LAD e riduzioni del 7,1 e del 2,9% per LA/Ao, rispettivamente, negli stessi periodi di 3 e 6 mesi. Sei dei 10 cani del gruppo CPB hanno mostrato riduzioni di LAD e LA/Ao dopo 6 mesi, rispetto a solo 1 (LAD) o 2 (LA/Ao) dei cani del gruppo CON. Non è stata riscontrata alcuna variazione significativa nel LV.

#### Progressione di MR e MMVD

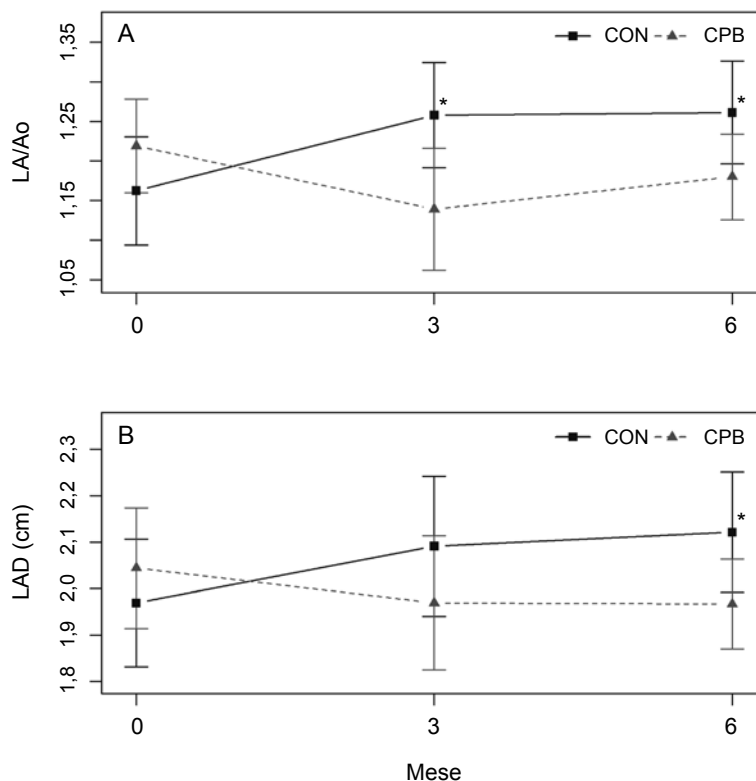
Mentre la maggior parte dei cani del gruppo CON non ha mostrato alcuna variazione del livello di gravità di MR (nessuna/minima, lieve, moderata o grave), 2 cani (2/8) sono peggiorati alla fine dello studio e nessun cane del gruppo CON è migliorato (Fig. 3, file aggiuntivo 1: Tabella S4): Per contro, solo 1 (1/10) cane del gruppo CPB ha avuto progressione da moderata a grave, mentre 3 (3/10) sono migliorati: 2 cani sono passati da malattia

moderata a lieve, mentre 1 cane è migliorato da grave a lieve ( $P_{\text{dieta} \times 6 \text{ mesi}} = 0,041$ ). Coerentemente, i cani del gruppo CON hanno mostrato una progressione della MMVD dallo stadio ACVIM B1 a B2 a 6 mesi, ma nessuno dei cani del gruppo CPB ha avuto progressione (Fig. 4,  $P_{\text{dieta} \times 6 \text{ mesi}} = 0,001$ , file aggiuntivo 1: Tabella S4).

Sulla base degli odd ratio, la probabilità che un cane del gruppo CON si trovasse in fase B2 era 2 volte quella di un cane del gruppo CPB a 3 mesi, aumentando ulteriormente a 4 volte per un cane del gruppo CPB a 6 mesi.

#### Correlazione tra LAD e BP nei cani con MMVD

Sebbene la pressione arteriosa sia aumentata leggermente rispetto al basale in entrambi i gruppi a 6 mesi, questi cambiamenti non si sono avvicinati alla significatività statistica. Tra i cani, le variazioni nel LAD sono state positivamente correlate alle variazioni di SAP e DAP nei cani del gruppo CPB ( $r = 0,63$  e  $0,67$ ;  $P = 0,050$  e  $0,035$  rispettivamente), ma non è stata osservata alcuna

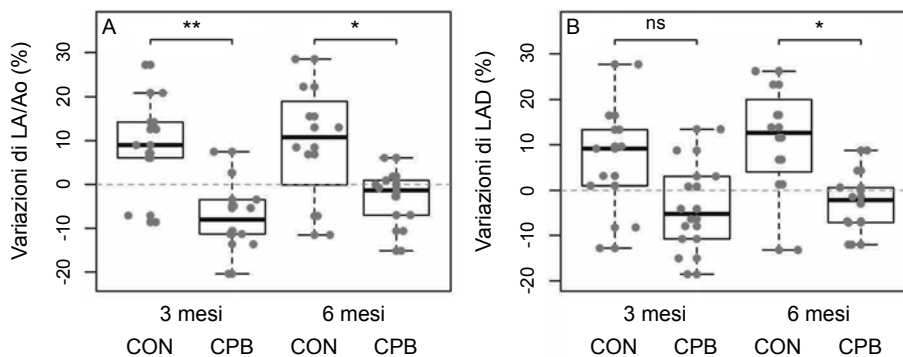


**Fig. 1** Effetto della dieta e del tempo sulla dimensione atriale sinistra nei cani con MMVD. I diagrammi mostrano le medie con barre dell'errore standard per (a) LA/Ao e (b) LAD nei cani con MMVD alimentati con la dieta di controllo (CON) o la dieta testata (CPB). Con il trascorrere del tempo la dieta ha mostrato effetti significativi ( $P < 0,05$ ) su entrambe le variabili; i cani del gruppo CON mostravano un aumento mentre i cani del gruppo CPB mostravano una riduzione dei valori. \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$

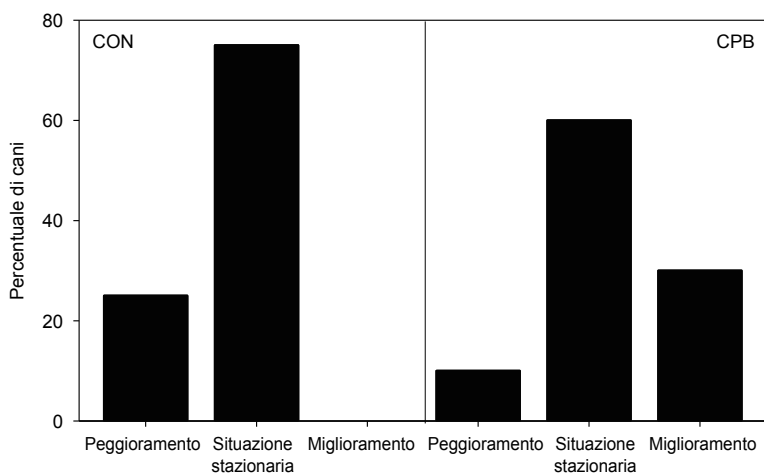
correlazione nei cani del gruppo CON (Fig. 5). Degna di interesse è stata l'osservazione che anche gli stessi 6 cani del gruppo CPB che hanno mostrato una riduzione nella dilatazione di LA hanno beneficiato anche di una riduzione della pressione arteriosa.

**Discussione**

Sulla base dei dati in nostro possesso, si tratta del primo intervento dietetico capace di ritardare efficacemente la progressione della MMVD nei cani. La CPB è stata formulata per fornire nutrienti riconosciuti come benefici



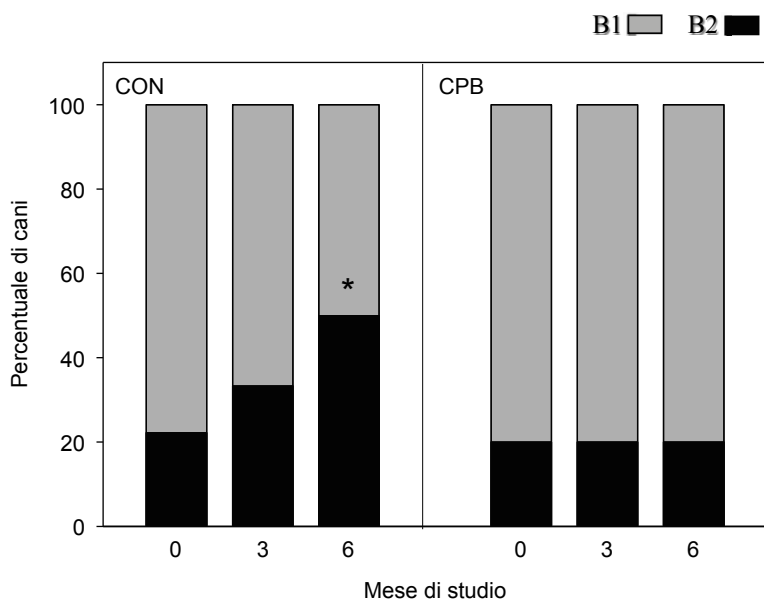
**Fig. 2** Variazione percentuale dal basale in (a) LA/Ao e (b) LAD a 3 mesi e 6 mesi in cani con MMVD. La linea tratteggiata orizzontale in ogni diagramma indica i valori al basale. Le linee inferiore, centrale e superiore del riquadro rappresentano il 25°, 50° e 75° percentile. I baffi indicano 1,5 volte il range interquartile dalla scatola. I valori p dal t-test di Student sono (a) 0,006 e 0,049 e (b) 0,054 e 0,025 rispettivamente. "ns",  $P \geq 0,05$ , "\*\*",  $P < 0,05$ , "\*\*\*",  $P < 0,01$ . LA/Ao, rapporto tra atrio sinistro e radice aortica; LAD, diametro atriale sinistro; CON, dieta di controllo; CPB, miscela cardioprotettiva



**Fig. 3** Effetto della dieta e del tempo sulla gravità del rigurgito mitralico nei cani con MMVD. I diagrammi mostrano la percentuale di cani che ha mostrato variazioni di almeno un grado nel rigurgito mitralico dopo 6 mesi, rispetto al basale nei gruppi alimentati con la dieta di controllo (CON) o con la dieta testata (CPB).  $P = 0,041$  per l'interazione della dieta nel tempo

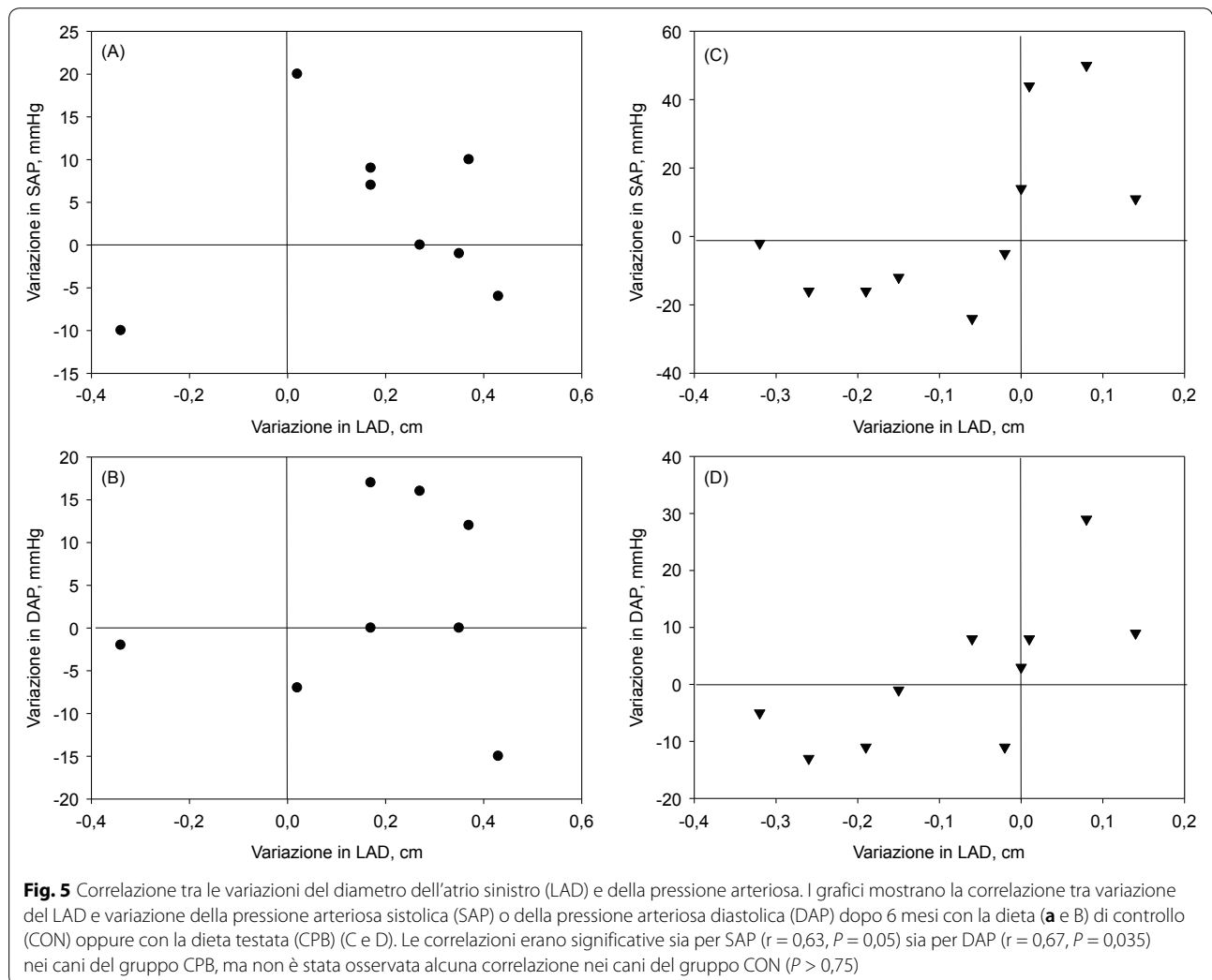
per le condizioni cardiache, tra cui antiossidanti, precursori della carnitina, taurina, magnesio e acidi grassi omega-3 a catena lunga. Eccezionalmente, includeva gli MCT come fonte di energia alternativa. Precedenti dati metabolomici e trascrittomici provenienti dal nostro laboratorio hanno suggerito che nei cani con MMVD vi sia una compromissione del metabolismo energetico dei grassi e del glucosio [14]. L'olio con MCT utilizzato era una fonte di acidi grassi a catena media a 8 e 10 atomi

di carbonio. Contrariamente agli acidi grassi a catena lunga, gli acidi grassi a catena media non richiedono una via di trasporto mediata dalla carnitina per attraversare le membrane cellulari e mitocondriali, pertanto possono essere rapidamente assorbiti e ossidati di preferenza per l'ATP senza aumentare lo stress ossidativo [18,21,42,43]. Nonostante i potenziali benefici, gli studi condotti sugli effetti degli MCT nelle cardiopatie sono pochi, per lo più in modelli di ratto spontaneamente



**Fig. 4** Progressione della malattia in cani con MMVD in base allo stadio ACVIM. La figura mostra la percentuale di cani nello stadio ACVIM B1 o B2 a 0, 3 e 6 mesi dello studio. L'interazione della dieta nel tempo è stata significativa a 3 e 6 mesi,  $P < 0,01$ . \*La CPB differiva dalla CON a 6 mesi,  $P < 0,001$





ipertesi. Sulla base dei dati in nostro possesso, nessun precedente studio ha analizzato gli effetti degli MCT nelle cardiopatie dei cani.

Il gruppo con MMVD e dieta con CPB ha mostrato un miglioramento nella dilatazione atriale sinistra determinato all'ecocardiografia. L'ecocardiografia è il metodo non invasivo più comunemente usato per valutare la funzione cardiaca nei cani. La dilatazione atriale sinistra è l'indicatore indipendente più affidabile per la progressione della cardiopatia nei cani con MMVD [41]. Il rischio di sviluppare CHF aumenta proporzionalmente alla dimensione atriale sinistra [44]. LA/Ao normalizzato in base al diametro della radice aortica, fornisce una misurazione più coerente del LAD per i cani adulti ed è indipendente dal peso corporeo [44,45]. Sebbene la MMVD sia considerata una condizione lentamente progressiva, nei cani con MMVD e CON di questo studio LA/Ao e LAD sono aumentati in media del 10% rispetto al basale. È importante notare che i

cani con MMVD del gruppo CPB hanno invece mostrato una situazione opposta, con diminuzione di LA/Ao e LAD. Sei (6/10) cani con MMVD del gruppo CPB hanno beneficiato di una riduzione dei valori di LA/Ao e LAD, oltre che di una riduzione della pressione arteriosa. Le variazioni di LA/Ao e LAD sono state evidenti entro 3 mesi, e sono rimaste significative nei 6 mesi. Come previsto, il valore al basale di LA/Ao era significativamente maggiore nei cani con MMVD rispetto ai cani sani.

Il rigurgito mitralico progressivo, che aumenta l'attività cardiaca, può portare al rimodellamento atriale e ventricolare e alla dilatazione [1]. Sebbene sia stato osservato un andamento simile nelle riduzioni del LV sia nella modalità M (a 3 e 6 mesi) che in quella 2-D (a 3 mesi), le differenze non erano statisticamente significative. La maggior parte dei cani con MMVD in questo studio era nella fase iniziale B1. È quindi possibile che i cani in B1 avessero un LV normale, oppure che avessero

una dilatazione ventricolare troppo piccola per essere rilevata. Tuttavia, la variazione di LA o LA/Ao è stata chiara e coerente. I nostri dati suggeriscono che i cani a rischio potrebbero aver già sofferto di carenza di energia miocardica prima della MMVD e che il rigurgito mitralico potrebbe portare alla dilatazione atriale già nella fase B1. Sarebbe molto interessante verificare l'ipotesi, ovvero se la CPB possa ritardare l'esordio della MMVD.

La dilatazione atriale sinistra nella MMVD riflette il grado di gravità e progressione del rigurgito della valvola mitralica [46]. In linea con il miglioramento della dilatazione atriale sinistra nei cani del gruppo CPB, il MR risultava ridotto: 3 cani su 10 del gruppo CPB presentavano MR inferiore, mentre i cani del gruppo CON non presentavano alcun miglioramento. Inoltre, 2 cani su 8 del gruppo CON hanno mostrato un incremento superiore al basale in MR rispetto a 1 cane su 10 del gruppo CPB. Queste variazioni si riflettevano anche nella classificazione ACVIM, con 3 cani del gruppo CON che avevano avuto progressione da B1 a B2, rispetto a nessuno nel gruppo CPB. Considerati nel loro insieme, i nostri risultati hanno dimostrato l'efficacia della CPB nel ridurre la dimensione atriale sinistra nei cani con MMVD precoce e nel rallentare o invertire la progressione della malattia allo stadio preclinico.

Sebbene si raccomandi di misurare e monitorare la BP nei cani con MMVD, inclusi i pazienti asintomatici [1], qualsiasi associazione fra variazione BP e progressione di MMVD segnalata nei cani è stata scarsa e priva di coerenza [47,48]. I valori di SAP registrati nel nostro studio erano superiori a quelli riportati in precedenza [46–49], sebbene non sia stata rilevata alcuna differenza nella SAP dei cani con MMVD e dei cani sani al basale. Abbiamo inoltre notato significative variazioni tra i soggetti con BP che potrebbero essere dovute alla sindrome del camice bianco, ai movimenti corporei o all'eccitazione dell'animale durante le misurazioni. Nonostante ciò, le variazioni nei valori di SAP e DAP nell'arco di 6 mesi sono risultati significativamente correlati alle variazioni di LAD nei cani con MMVD del gruppo CPB. È degno di nota che nei 6 cani con riduzione della dilatazione atriale si sia anche riscontrata una diminuzione della pressione arteriosa. Un recente studio longitudinale su 5,5 milioni di adulti nel Regno Unito ha suggerito l'associazione tra SAP elevata e rischio di rigurgito mitralico [50]. Sebbene nel nostro studio non sia stata osservata alcuna correlazione tra le variazioni di LAD e MR, la correlazione tra LAD e SAP riportata nel nostro studio ha sollevato questioni interessanti: Una SAP elevata è associata a un maggiore rischio di MR nei cani? Il MR è una conseguenza inevitabile dell'invecchiamento dei cani? Per rispondere a queste domande sono necessari ulteriori studi su grandi coorti di cani.

Abbiamo osservato poche differenze nel tempo nei cani sani. Non sono stati osservati effetti avversi. Degna di interesse è stata l'osservazione che la SAP diminuiva nei cani sani nel gruppo CPB; la stessa variazione si è verificata anche in alcuni dei cani con MMVD dello stesso gruppo. Alla fine dello studio abbiamo anche notato un BCS significativamente inferiore nei cani del gruppo CPB rispetto ai cani del gruppo CON. Tuttavia, il BCS medio in entrambi i gruppi rientrava nel range ideale. Il suo eventuale significato resta da determinare.

Lo studio attuale aveva alcune limitazioni. Una era il numero relativamente basso di cani in ciascun gruppo, la maggior parte dei quali Beagle. Gli studi futuri dovrebbero arruolare più cani di piccola taglia di razze diverse. Nei cani, le differenze nella sopravvivenza o nel tempo per progredire allo stadio B2 o sviluppare CHF sarebbero *endpoint* preziosi, ma questo richiede uno studio a lungo termine. In questo studio abbiamo usato LAD e LA/Ao come marcatori surrogati per la progressione di MMVD. In secondo luogo, cinque cani con MMVD in entrambi i gruppi di trattamento erano sotto terapia farmacologica a lungo termine. Nessuno di questi cani ha mostrato alcun miglioramento nel MR. Tra questi cinque, tre cani del gruppo CON hanno avuto un aumento del LA/Ao a 6 mesi (media = 16,7%), un cane del gruppo CPB ha presentato un aumento dell'1,8% e l'altro un calo del 2,7%. Sebbene questi cani fossero sotto trattamento farmacologico prima dello studio e l'avessero mantenuto per tutta la durata dello studio, e sebbene la tendenza delle variazioni dimensionali di LA in questi cani fosse simile a quella dei gruppi più grandi, non siamo in grado di escludere potenziali effetti di confondimento dei farmaci. Infine, fattori come la direzione del getto e la pressione atriale sinistra possono influenzare l'aspetto del getto rigurgitante nella valutazione semi-quantitativa del rigurgito mitralico utilizzando il color Doppler. Le misure della BP adottate in questo studio hanno utilizzato valutazioni oscillometriche indirette. Sebbene spesso usato clinicamente, questo metodo si affida all'ampiezza delle oscillazioni di pressione del bracciale ed è meno accurato rispetto alle misure dirette e invasive della pressione arteriosa [51,52]. Ogni movimento del cane può interferire con la capacità del dispositivo di fornire una stima accurata. È necessario uno studio clinico su più cani per valutare meglio l'utilità clinica di questa dieta.

## Conclusioni

Il nostro studio ha dimostrato che l'intervento dietetico con una miscela di nutrienti studiata per affrontare i cambiamenti metabolici associati alla MMVD nei cani è stato in grado di rallentare o invertire i cambiamenti cardiaci nei cani con MMVD precoce pre-clinica. Questo studio

non ha fornito l'opportunità di estrapolare gli effetti di ogni singolo nutriente della CPB. Crediamo piuttosto che i nutrienti chiave abbiano agito in modo sinergico per raggiungere l'efficacia documentata.

## Metodi

### Disegno dello studio

Il protocollo di studio è stato approvato dall'*Animal Care and Use Committee* della Nestlé Purina® PetCare Company e ha rispettato tutte le normative previste dalla legge statunitense del *Department of Agriculture Animal Welfare Act*. Lo studio è stato randomizzato e controllato con placebo, usando un disegno fattoriale 2 x 2 per determinare gli effetti della dieta, del tempo e della loro interazione nei cani con MMVD o in cani sani abbinati per età, sesso e razza. Lo studio è stato condotto nell'arco di 6 mesi, con misurazioni cliniche raccolte al basale, a 3 e 6 mesi. L'*endpoint* primario di efficacia era la variazione nelle dimensioni dell'atrio sinistro (LAD e LA/Ao) dal basale a 6 mesi tra i gruppi. Il cardiologo era in cieco per l'assegnazione della dieta durante tutto lo studio.

### Animali

Per l'inclusione nello studio sono stati presi in considerazione due gruppi di cani di piccola e media taglia che vivevano in un Nestlé Purina® PetCare Center con peso corporeo inferiore a 15 kg: quelli che avevano un soffio sistolico cardiaco apicale sinistro rilevabile all'auscultazione (gruppo con MMVD) e un gruppo di cani di controllo sani abbinati per sesso, età e razza senza evidenza di cardiopatia (gruppo sano). La randomizzazione è stata eseguita usando un generatore di numeri casuali nel software di elaborazione statistica. L'algoritmo ha incluso 4 passaggi. 1. Due Schnauzer sono stati assegnati casualmente al gruppo CON o CPB. 2. Beagle maschi e femmine sono stati assegnati casualmente al gruppo CON o CPB. 3. Il *t-test* di Student è stato eseguito su età, peso corporeo e grado del soffio (per il gruppo con MMVD). 4. In assenza di differenze nella fase 3 la randomizzazione veniva completata. Altrimenti, si ripetevano le fasi da 1 a 4.

Tutti i cani sono stati successivamente rivalutati mediante ecocardiografia eseguita da un cardiologo veterinario specialista certificato (AH). Tutti i cani con MMVD sono stati classificati come stadio B1 o B2, utilizzando le linee guida ACVIM per la diagnosi di MMVD [1]. I cani sotto terapia farmacologica cardiaca prima dell'arruolamento hanno continuato a ricevere la terapia durante tutto lo studio. I cani sani sono stati classificati sani in base a esame obiettivo, profili biochimici sierici ed ecocardiogramma nella norma. I cani in ciascun gruppo di salute cardiaca sono stati ulteriormente

suddivisi in 2 gruppi randomizzati per età, sesso, razza, peso corporeo e grado del soffio (per il gruppo con MMVD), quindi assegnati casualmente a una delle due diete per tutta la durata dello studio.

I cani erano alloggiati singolarmente in box indoor-outdoor adiacenti con illuminazione naturale e supplementare con ciclo di 12 ore. L'accesso tra i box contigui era sempre aperto, tranne durante l'alimentazione. Inoltre, tutti i cani potevano fare esercizio regolare come passeggiate e giochi negli spazi riservati, e potevano socializzare quotidianamente con altri cani e gli addetti alla loro cura. I cani hanno ricevuto le diete assegnate come unica fonte di alimentazione per 6 mesi: l'acqua era disponibile ad libitum. Le misurazioni cliniche sono state effettuate al basale, a 3 e 6 mesi. Dopo lo studio, i cani sono rimasti nel centro Nestlé Purina® PetCare dove hanno continuato a ricevere assistenza e cure veterinarie dal personale e dai veterinari addetti alle cure degli animali da compagnia.

### Diete

Le diete dello studio sono state formulate per essere isocaloriche e isoazotate, e per fornire una nutrizione completa ed equilibrata per i cani adulti (Nestlé Purina® PetCare Company, St. Louis, MO). Una dieta conteneva una miscela cardioprotettiva (CPB) di nutrienti comprendenti MCT; acidi grassi omega-3 a catena lunga; lisina e metionina (precursori della carnitina); vitamina E (un antiossidante); magnesio e taurina (Tabella 1). Il grasso della dieta con CPB, fornito attraverso gli MCT e l'olio di pesce, sostituiva il grasso di origine bovina della dieta di controllo (CON). I cani sono stati alimentati individualmente una volta al giorno per mantenere un peso corporeo stabile durante tutto lo studio [53]. Nel corso dello studio non sono stati consentiti bocconcini o altri integratori.

### Misurazioni cliniche

Gli esiti primari di questo studio erano le misurazioni per valutare le variazioni nella progressione della MMVD, in particolare il grado di rigurgito mitralico (MR), e le variabili ecocardiografiche del diametro atriale sinistro (LAD) e della dimensione atriale sinistra misurate come rapporto tra diametro atriale sinistro e radice aortica (LA/Ao).

Tutti gli esami clinici, compresi esami obiettivi, ecocardiogrammi e pressione arteriosa indiretta, sono stati eseguiti senza sedazione in una sala d'esame tranquilla, al basale, a 3 mesi e a 6 mesi. I cani sono stati portati alle valutazioni cliniche in ordine casuale. La valutazione del BCS è stata effettuata utilizzando una scala a 9 punti in cui un punteggio di 4 o 5 è considerato ideale [54]. Tutte le valutazioni cardiache, incluse l'auscultazione cardiaca, l'ecocardiografia tramite Doppler *standard*

bi-dimensionale (2-D), modalità M e flusso a colori, sono state eseguite dallo stesso cardiologo veterinario in cieco per le assegnazioni dei cani ai gruppi dietetici. Le valutazioni sono state eseguite utilizzando un'unità ecografica Mylab Alpha dotata di trasduttore 1-4 MHz e monitoraggio ECG. Sia LA/Ao che LAD sono stati misurati in 2-D. Il rapporto tra radice aortica e atrio sinistro (LA/Ao) è stato misurato come rapporto tra la massima dimensione atriale sinistra, misurata con il diametro sull'asse corto dell'atrio sinistro, e il diametro interno dell'aorta, misurato tracciando una linea dalla curvatura convessa della parete del seno aortico destro alla parete opposta dell'aorta, allineata con la giunzione delle cuspidi della valvola aortica non coronarica e coronarica sinistra sul primo fotogramma dopo la chiusura della valvola aortica [55]. Il diametro atriale sinistro (LAD) è stato misurato tracciando la stessa linea al margine distante dell'atrio sinistro [44]. Le misurazioni 2-D del ventricolo sinistro (LV) sono state eseguite secondo il protocollo *standard* [56]. Le misurazioni ecografiche sono state effettuate in differita dopo le visite dei pazienti da parte dello stesso cardiologo (AH) che era in cieco al momento della misurazione. L'intensità del soffio sistolico apicale sinistro è stata classificata utilizzando una scala da 1 a 6, dove il grado 1 è il soffio più lieve udibile con particolare impegno in una sala da visita tranquilla e il grado 6 è il soffio più forte con fremito palpabile udibile con lo stetoscopio di poco sollevato dal torace del paziente [57]. La gravità del rigurgito mitralico (MR) è stata stimata utilizzando l'analisi della camera ricevente calcolando il rapporto massimo dell'area del getto rigurgitante rispetto all'area atriale sinistra usando la modalità color Doppler, come descritto in precedenza [58,59]: il MR è stato classificato come assente o minimo se il rapporto era 0-5%, lieve se il rapporto era inferiore al 20%, moderato se compreso tra 20 e 50%, o grave se superiore al 50%. La velocità del rigurgito mitralico (MRV) è stata misurata dalla vista apicale parasternale sinistra a quattro camere utilizzando il Doppler a onda continua. La pressione arteriosa (BP), incluse la pressione arteriosa sistolica (SAP), la pressione arteriosa diastolica (DAP), la pressione arteriosa media (MAP) e la frequenza cardiaca (HR), sono state misurate utilizzando un dispositivo oscillometrico automatizzato, petMAP graphic (Ramsey Medical, Inc., Tampa, FL). I cani sono stati messi sul tavolo da visita in posizione quadrupedale con il bracciale applicato all'avambraccio sinistro. È stata quindi calcolata la mediana di 3 misurazioni consecutive.

Campioni di sangue venoso a digiuno sono stati prelevati al basale, a 3 e 6 mesi per l'analisi del profilo chimico sierico e le conte ematiche complete. Le conte ematiche complete sono state eseguite con l'analizzatore

per ematologia Sysmex xs-1000i (Lincolnshire, IL). I profili biochimici sierici sono stati analizzati con l'analizzatore Roche Cobas c311 Chemistry (Indianapolis, IN).

#### Analisi dei dati statistici

Poiché questo studio è stato il primo del suo genere, non erano disponibili informazioni precedenti da utilizzare per l'analisi della potenza e i cani sono stati arruolati in base alla disponibilità di soggetti con MMVD. I dati sono stati trattati come esiti continui eccetto la gravità del rigurgito mitralico, lo stadio ACVIM e il grado del soffio, che sono stati considerati esiti ordinali. Per ogni cane sono state effettuate misurazioni in 3 punti temporali, quindi sono state utilizzate analisi di modello misto per tener conto delle misurazioni ripetute. Sono stati utilizzati *test t* indipendenti per confrontare i valori basali tra cani sani e con MMVD.

Le variabili continue sono state analizzate utilizzando un modello misto lineare con il pacchetto "lme4" in R [60]. Il modello includeva la dieta, il tempo e un'interazione della dieta in base al tempo come effetti fissi, aggiustati per sesso, razza e peso corporeo. Il cane era considerato un effetto casuale per tenere conto delle misurazioni ripetute. I residui sono stati utilizzati per verificare le ipotesi del modello. Per verificare la significatività complessiva di una variabile sono state utilizzate le somme dei quadrati di tipo III. Per valutare le variazioni rispetto al basale per ciascun gruppo a ogni punto temporale sono stati utilizzati i parametri stimati del modello. Per confrontare i gruppi in ciascun punto temporale con una correzione di Bonferroni per *test* multipli utilizzando il pacchetto R "lsmmeans" sono stati utilizzati *test t post hoc* indipendenti [61]. È stato considerato significativo un valore *p* inferiore a  $0,05/3 = 0,017$ .

Le variabili ordinali sono state analizzate utilizzando il modello misto di collegamento cumulativo con il pacchetto "ordinal" in R [62]. Il modello includeva la dieta, il tempo e un'interazione della dieta nel tempo come effetti fissi. Il cane era considerato un effetto casuale per tenere conto delle misurazioni ripetute. I residui sono stati utilizzati per verificare le ipotesi del modello. Per valutare le variazioni rispetto al basale per ciascun gruppo a ogni punto temporale sono stati utilizzati i parametri stimati del modello. Sono stati utilizzati *test post hoc* su una variabile latente con una serie di *cut-point* per confrontare le differenze tra i gruppi in ogni punto temporale, con una correzione di Bonferroni per *test* multipli [61]. È stato considerato significativo un valore *p* inferiore a  $0,05/3 = 0,017$ .

Sono state eseguite correlazioni Pearson per valutare le associazioni lineari tra le variazioni a 6 mesi nella dimensione atriale sinistra e quelle della pressione

arteriosa all'interno di ogni gruppo con dieta. Sono stati calcolati gli odd ratio per le variazioni rispetto al basale nello stadio ACVIM a 3 e 6 mesi.

### Informazioni supplementari

**Informazioni supplementari** di accompagnamento al presente foglio sono reperibili su <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2169-1>.

**File aggiuntivo 1: Tabella S1.** Punteggio della pressione arteriosa sistolica e della condizione corporea in cani sani. **Tabella S2.** Dimensione atriale sinistra al basale, a 3 mesi e 6 mesi nei cani con MMVD. **Tabella S3.** Variazioni percentuali della dimensione atriale sinistra rispetto al basale nei cani con MMVD. **Tabella S4.** Grado del soffio, gravità del rigurgito mitralico e stadio ACVIM.

### Abbreviazioni

ACVIM: American College of Veterinary Internal Medicine; BP: pressione arteriosa; CHF: insufficienza cardiaca congestizia; CON: dieta di controllo; CPB: miscela cardioprotettiva; DAP: pressione arteriosa diastolica; HR: frequenza cardiaca; LA: atrio sinistro; LA/Ao: rapporto tra il diametro della radice aortica e quello dell'atrio sinistro; LV: ventricolo sinistro; MAP: pressione arteriosa media; MCT: trigliceridi a catena media; MMVD: malattia mixomatosa della valvola mitrale; MR: rigurgito mitralico; SAP: pressione arteriosa sistolica

### Riconoscimenti

Gli autori ringraziano Laura Hart e Kristin Lower per l'assistenza prestata nello studio sull'alimentazione, la dott.ssa Melanie Barnes per aver misurato BP e HR. Siamo grati anche ai dott. Hui Xu e Sandeep Bhatnagar per aver formulato e preparato le diete.

### Consenso alla pubblicazione

Non pertinente.

### Contributi degli autori

QL ha ideato e sviluppato il progetto. NLM e QL hanno eseguito l'analisi statistica; DPL ha progettato la dieta e la sperimentazione. QL e BVB hanno condotto lo studio nutrizionale; AH ha eseguito ecocardiografia e misurazioni; QL e DPL hanno scritto il testo. Tutti gli autori hanno letto e approvato il testo finale.

### Finanziamento

Lo studio è stato finanziato dalla Nestlé Purina® PetCare Company. Tutti gli autori sono dipendenti o consulenti della società ed erano esclusivamente responsabili del disegno dello studio, dell'analisi e dell'interpretazione dei dati e della preparazione del testo.

### Disponibilità di dati e materiali

I set di dati utilizzati e/o analizzati durante lo studio attuale sono disponibili presso ogni autore previa giustificata richiesta.

### Approvazione etica e consenso alla partecipazione

Il protocollo dello studio è stato approvato dall'Institutional Animal Care and Use Committee della Società Nestlé Purina® PetCare.

### Conflitto di interessi

QL, NLM e BVB sono attualmente dipendenti, AH e DPL sono consulenti retribuiti della Nestlé Purina® PetCare Company.

### Dettagli sugli autori

<sup>1</sup>Nestlé Purina Research, St. Louis, MO, USA. <sup>2</sup>Petcardia Veterinary Cardiology, Boulder, CO, USA. <sup>3</sup>Scientific Communications Consultant, Floyd, VA, USA.

Ricevuto in data: 22 luglio 2019 Accettato in data: 7 novembre 2019  
Pubblicato online in data: mercoledì 27 novembre 2019

### Bibliografia

- 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.
- 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.
- Martin-Fernandez B, Gredilla R. Mitochondria and oxidative stress in heart aging. *Age (Dordr).* 2016;38(4):225–38.
- Lionetti V, Stanley WC, Recchia FA. Modulating fatty acid oxidation in heart failure. *Cardiovasc Res.* 2011;90(2):202–9.
- 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.
- Pashkow FJ. Oxidative stress and inflammation in heart disease: do antioxidants have a role in treatment and/or prevention? *Int J Inflam.* 2011; 2011:514623.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Labarthe F, Gelinas R, Des Rosiers C. Medium-chain fatty acids as metabolic therapy in cardiac disease. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2008;22(2):97–106.
- Cedikova M, Pitule P, Kripnerova M, Markova M, Kuncova J. Multiple roles of mitochondria in aging processes. *Physiol Res.* 2016;65(Supplementum 5): S519–31.
- Sanderson SL. Taurine and carnitine in canine cardiomyopathy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2006;36(6):1325–43 vii–viii.
- 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.
- Wang ZY, Liu YY, Liu GH, Lu HB, Mao CY. L-Carnitine and heart disease. *Life Sci.* 2018;194:88–97.
- Schaffer SW, Jong CJ, Ramila KC, Azuma J. Physiological roles of taurine in heart and muscle. *J Biomed Sci* 2010, 17 Suppl 1:S2.
- Pryor WA. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Radic Biol Med.* 2000;28(1):141–64.
- 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, Rezler 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(1):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, Kwart 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 dell'editore

Springer Nature rimane neutrale per quanto riguarda le richieste giurisdizionali nelle mappe pubblicate e nelle affiliazioni istituzionali.

Reprinted from an article originally published in English in *BMC Veterinary Research* (2019) 15:425, © The Author(s) 2019. This article is published with open access at [Springerlink.com](https://www.springerlink.com)

This translation is © 2020 Springer Healthcare. All Rights Reserved

Translated and distributed by Springer Healthcare. Although great care has been taken in the translation of this publication, Springer Healthcare takes no responsibility for the accuracy of the translation from the published English original and is not liable for any errors which may occur.

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License which permits any use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and the source are credited.

Although great care has been taken in compiling the content of this publication, the publisher and its servants are not responsible or in any way liable for the currency of the information, for any errors, omissions or inaccuracies, or for any consequences arising therefrom. Inclusion or exclusion of any product does not imply its use is either advocated or rejected. Use of trade names is for product identification only and does not imply endorsement. Opinions expressed do not necessarily reflect the views of the Publisher, Editor or Editorial Board. Please consult the latest prescribing information from the manufacturer before issuing prescriptions for any products mentioned in this publication.



**Springer** Healthcare

**Springer Healthcare Ibérica S.L.**

Rosario Pino, 14 – 4ª Planta. 28020 Madrid. Spain

Tel.: +34 91 555 40 62. Fax: +34 91 555 76 89

E-mail: [Miguel.Quesada@springer.com](mailto:Miguel.Quesada@springer.com)

[www.springerhealthcare.com](http://www.springerhealthcare.com)

[www.springernature.com](http://www.springernature.com)

Part of the Springer Nature group

Printed in Spain

Courtesy of:

