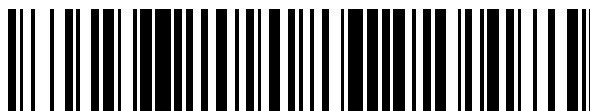


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 035**

51 Int. Cl.:

A23K 20/147 (2006.01)

A23K 20/163 (2006.01)

A23K 50/40 (2006.01)

A23K 20/158 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.06.2014 PCT/US2014/043396**

87 Fecha y número de publicación internacional: **31.12.2014 WO2014209791**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2014 E 14738996 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.02.2017 EP 3019024**

54 Título: **Composiciones y métodos para aumentar el rendimiento deportivo**

30 Prioridad:

28.06.2013 US 201361841011 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.06.2017

73 Titular/es:

**NESTEC S.A. (100.0%)
Avenue Nestlé 55
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**ZANGHI, BRIAN M.;
REYNOLDS, ARLEIGH J. y
MIDDLETON, RONDO P.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 617 035 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones y métodos para aumentar el rendimiento deportivo

5 Antecedentes de la invenciónÁmbito de la invención

10 La invención se refiere en general al ámbito del rendimiento deportivo (rendimiento en el ejercicio físico) y a la nutrición destinada a intensificarlo. La invención refiere en particular a los suplementos dietéticos que contienen proteínas y grasas que se absorben con facilidad y a métodos para administrar los suplementos dentro de un período de tiempo definido antes de realizar los ejercicios.

15 Descripción de la técnica afín

La mejora del rendimiento físico de los cánidos puede atribuirse a un mayor vigor o resistencia cuando corren, rastrean, recuperan piezas abatidas, nadan, arrastran o realizan cualquier otra actividad, que requiera un movimiento físico sostenido o el ejercicio de dicho movimiento mientras dura la tarea o actividad exigida. En el caso de los perros, el metabolismo de las grasas es la vía primaria de generación de energía durante el ejercicio físico inferior al máximo. Los perros están "programados" (desarrollados) de modo inherente para una actividad y metabolismo de alta resistencia. Sin embargo, en función del nivel de acondicionado para el ejercicio físico, la buena forma física y la frecuencia del ejercicio, puede aparecer la fatiga. Por lo tanto, prolongar la resistencia y/o el buen estado de forma es un beneficio claro, por lo tanto podría ser ventajoso disponer de un producto alimentario o un sistema de entrega de nutrientes, que intensifique el buen estado de forma.

25 En el caso de los perros, la oxidación de las grasas proporciona la mayor parte de la energía del animal cuando las cantidades de energía que se consumen son bajas, mientras que en el caso de los humanos, la energía se genera con mayor preferencia a partir de la glucosa de las reservas de glucógeno. De modo más específico, en el caso de los perros, la cantidad de energía obtenida a partir de la oxidación de las grasas en estado de reposo y durante el ejercicio físico es el doble de la que obtienen especies menos aeróbicas, por ejemplo las cabras (McLelland y col., Am. J. Physiol. 266 (4 Pt. 2), R1280-1286, 1994; Weibel y col., J. Exp. Biol. 199 (8), 1699-1709, 1996). En los humanos, la oxidación de los hidratos de carbono sustenta la velocidad intermedia de los corredores de maratón, hasta que se han consumido todas las reservas de glucógeno, después de lo cual la oxidación de las grasas se convierte en la única fuente de energía disponible (Hultman y col., 1994, en: Modern Nutrition in Health and Disease, M. E. Shils, J. A. Olson y M. Shike, coord.; Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 663-685). Por consiguiente, el vigor o resistencia de los humanos viene limitado por la cantidad de glucógeno del músculo, mientras que en los perros, la activación del metabolismo de las grasas y la conversión de los aminoácidos en glucosa se ponen en marcha pronto después del ejercicio físico, lo cual contribuye a un aumento general de la capacidad aeróbica y de la resistencia.

40 La variación de las fibras musculares entre los diferentes animales contribuye también al grado, en el que se emplean las fuentes de energía aeróbicas o anaeróbicas. En los perros y en los gatos, los músculos contienen diferentes tipos de fibras musculares. De modo específico, todos los tipos de fibras de los perros tienen una gran capacidad aeróbica, por lo tanto son resistentes a la fatiga. En cambio, las fibras musculares de los gatos pueden dividirse en fibras de un tipo aeróbico bajo, basado en el metabolismo anaeróbico, y en fibras de tipo aeróbico alto, que tienen una gran capacidad de metabolismo aeróbico. Por consiguiente se ha determinado que la capacidad máxima de metabolizar oxígeno ($V_{O_2\text{máx}}$) y el flujo de sangre de la $V_{O_2\text{máx}}$ en los músculos de las patas (gastrocnemios) de los perros eran aprox. cinco veces superior a los de los gatos. Por ello, los perros están adaptados a los ejercicios físicos de resistencia empleando grasa como fuente de energía, mientras que los gatos están adaptados a breves "explosiones" de actividad, por ejemplo la requerida para saltar o para lanzar zarpazos a sus presas, valiéndose para ello del glucógeno como fuente de energía.

55 El rendimiento físico de los cánidos guarda, pues, una relación estrecha con el metabolismo de las proteínas y de los aminoácidos. La síntesis de las proteínas y de los aminoácidos y su catabolismo aumentan en los perros que realizan ejercicio físico. La síntesis aumenta para compensar los cambios asociados con el adiestramiento y para reemplazar las proteínas y aminoácidos catabolizados durante el ejercicio físico. Las proteínas y los aminoácidos se catabolizan durante el ejercicio como fuente de energía, en particular dentro de los músculos que realizan dicho ejercicio y como productos previos para la gluconeogénesis. La gluconeogénesis desempeña un papel importante en el ejercicio físico, en particular en el ejercicio que se prolonga más allá de 30 minutos, ya que aumentan los compuestos gluconeogénicos previos, como son la alanina, el lactato, el piruvato y la glutamina. Lo importante es que los compuestos previos de la gluconeogénesis se movilizan en los músculos, el intestino y el tejido adiposo. La glutamina y la alanina son compuestos previos gluconeogénicos importantes, porque sacan el producto secundario amónico resultante de la oxidación de los aminoácidos de cadena ramificada, lo sacan fuera de los músculos que realizan el ejercicio para que el hígado lo convierta en glucosa. Por lo tanto, parece que las fuentes de proteínas lábiles del intestino son la fuente de aminoácidos de cadena ramificada que respaldan a los músculos que realizan el ejercicio y se liberan como resultado del catabolismo de las proteínas de los músculos inducido por el ejercicio.

El estado de forma físico puede alterarse como resultado del estrés celular y de la lesión celular del músculo. La lesión celular es una consecuencia natural del ejercicio físico y se deriva de un excesivo catabolismo de las proteínas así como en la forma de estrés oxidante que aparece a partir de los radicales libres generados por la respiración aeróbica. El término "lesión celular" está bien definido dentro de la comunidad de la investigación del deporte y del ejercicio físico. El grado, en el que se produce esta condición metabólica, guarda relación con varios factores que incluyen el acondicionamiento, la duración, la intensidad y la recurrencia (repetición) del ejercicio, así como con la nutrición, a la que puede recurrirse para alterar de manera favorable esta condición metabólica.

Después de la lesión muscular inducida por el ejercicio hay una reducción de la capacidad del músculo para contraerse con el máximo de fuerza (Pearce y col., J. Sci. Med. Sport 1, 236-244, 1998), lo cual se observa en los tres tipos de acción muscular: excéntrica (reducción del peso levantado o alargamiento del músculo), concéntrica (levantamiento de peso o acortamiento del músculo) e isométrica (la longitud del músculo no cambia durante la contracción) (Turner y col., J. Appl. Physiol. 105, 502-509, 2008), así como en el salto (Kirby y col., Aminoácidos 42(5), 1987-1996, 2012).

El agotamiento de los niveles de aminoácidos de cadena ramificada dentro de las células de los músculos durante el ejercicio físico es el resultado de su oxidación como fuente de energía. El agotamiento intracelular de los aminoácidos de cadena ramificada (BCAA), en especial de la leucina, corresponde también a la reducción de las concentraciones circulantes en el plasma. Las dosis de los BCAA (de 0,050 a 0,100 g/kg de peso corporal) ingeridas antes de los ejercicios de entrenamiento y resistencia reducen los biomarcadores de lesión muscular (es decir, los CK), los dolores musculares durante la recuperación (DOMS: inicio retardado de la aparición de los dolores musculares) y reducen la fatiga muscular (Greer y col., Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab. 17(6), 595-607, 2007; Jackman y col., Med. Sci. Sports Exerc. 42(5), 962-70, 2010).

Actualmente no hay un pienso efectivo para los animales, en particular para los perros, que pueda administrarse antes del ejercicio físico, que pueda llenar de modo adecuado su metabolismo o minimizar el quebranto de proteínas endógenas para mejorar su resistencia y/o reducir el estado catabólico natural inducido por el ejercicio físico y a continuación mejorar su rendimiento durante una tanda de ejercicios. Además, la reducción del grado del estado catabólico inducido por el ejercicio acelerará la recuperación posterior al ejercicio. Por ejemplo, dentro del mercado de los bocados energético para perros, los productos actuales están formulados con niveles altos de hidratos de carbono y muy poco contenido de grasa, normalmente por debajo del 6 %. Esto puede conducir a una elevación de la secreción de insulina, que se traducirá en una reducción de la actividad de los mecanismos metabólicos relacionados con el ejercicio físico. Normalmente, estos productos llevan también un contenido bajo de proteínas (p. ej. inferior al 10 %) y las fuentes de proteínas que contienen no se han formulado para una digestión rápida.

En otros documentos se describen los requisitos nutritivos de perros que realizan ejercicios físicos, por ejemplo en Kronfeld (The American Journal of Clinical Nutrition, vol. 30, nº 3, 1977), Hamada (Metabolism, Clinical and Experimental, vol. 48, nº 2, 1999) y WO 2009/099628 A2.

Resumen de la invención

Es, pues, objeto de la presente invención proporcionar composiciones y métodos útiles para ampliar el rendimiento físico de un animal, en particular de un cánido.

Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar composiciones y métodos útiles para ampliar el rendimiento físico de un animal, en particular de un cánido, aumentando la biodisponibilidad de la leucina en dicho animal.

Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar composiciones y métodos útiles para ampliar el rendimiento físico de un animal, en particular de un cánido, reduciendo la oxidación de las fuentes endógenas de aminoácidos de cadena ramificada en dicho animal.

Uno o más de estos y otros objetos se alcanzan empleando las nuevas composiciones y métodos parra ampliar el rendimiento físico de los animales. En general, las composiciones contienen un suplemento destinado a la fase previa al ejercicio, que incluye (a) aprox. del 35 % al 60 % de proteínas o aminoácidos, que contienen una o más proteínas estructurales, una o más proteínas biodisponibles y uno o más aminoácidos de cadena ramificada; (b) aprox. del 20 % al 38 % de grasa, que contienen por lo menos una fuente de triglicéridos de cadena media; y (c) aprox. del 5 % al 25 % de hidratos de carbono. Los métodos consisten en administrar el suplemento dentro de un período predeterminado, previo al comienzo del ejercicio físico.

Estos, otros y ulteriores objetos, características y ventajas de la presente invención resultarán fácilmente aparentes a los expertos.

Descripción detallada de la invención

5 Definiciones

El término “individuo” referido a un animal indica un animal concreto de cualquier especie o raza, de manera muy especial un cánido.

10 El término “animal” indica cualquier animal que pudiera beneficiarse de una o más de las composiciones y métodos aquí descritos, en especial un animal que pueda beneficiarse de los métodos y composiciones que son útiles para mejorar el rendimiento físico. Por lo tanto, la presente invención se refiere a cualquier animal. En una forma de ejecución, el animal puede ser un perro. En un aspecto, el cánido puede ser una especie domesticada, por ejemplo un perro. Por ejemplo, ciertos animales de compañía caninos se someten a una actividad física que puede ser ardua (penosa), en especial los perros empleados para el trabajo, por ejemplo para el arrastre de trineos o para el tiro de carritos, para ayudar al pastor en la guarda del rebaño, para el trabajo de la policía, para el rescate, para el rastreo de huellas, para el deporte y para pruebas de agilidad. Como alternativa, los cánidos pueden ser especies semidomesticadas o no domesticadas, por ejemplo el dingo (perro australiano), el lobo, el coyote, el chacal o el zorro.

20 El término “ejercicio” se emplea aquí para indicar una actividad física realizada por un animal o realizada de modo obligado por un animal para un fin particular, por ejemplo para mejorar el estado general de salud, el estado de forma, el control del peso, la mejora de un aspecto particular de la salud o del estado de forma, la mejora de la resistencia, la mejora de la capacidad física o de un conjunto de capacidades físicas, la mejora de una función, la rehabilitación de una lesión y similares. El ejercicio físico puede realizarse en un régimen regular, por ejemplo a diario, tres veces por semana o una vez por semana. Las frecuencias de ejercicio físico inferiores a una vez por semana se consideran ejercicios “ocasionales” o esporádicos. Para el uso presente se reconocen y se contemplan también otros regímenes de ejercicio físico. Las composiciones y métodos son útiles para el ejercicio, ya sea regular, ya sea ocasional.

30 El término “cantidad efectiva” indica una cantidad de un compuesto, material, composición, medicamento u otro material, que es eficaz para alcanzar un resultado biológico concreto. Tales resultados incluyen, pero no se limitan a una o más de las posibilidades siguientes, que se describen a continuación.

35 El término “suplemento” o “suplemento dietético” indica un producto, que se destina a la ingestión además de la dieta normal de un animal. Los suplementos dietéticos pueden adoptar cualquier forma, p. ej. sólida, líquida, gel, tabletas, cápsulas, polvos y similares. En una forma de ejecución se proporcionan en formas de dosificación convenientes. En algunas formas de ejecución se proporcionan en envases a granel para el consumidor, por ejemplo polvos a granel, líquidos, geles o aceites. En otras formas de ejecución, los suplementos se formulan como elementos alimentarios, por ejemplo bocados (snacks), golosinas (treats), galletas (biscuits), bebidas y similares.

40 Los términos “administrar” o “administración” incluyen la autoadministración además de la administración a otro animal, por ejemplo un cuidador puede administrar un suplemento dietético a un animal de compañía.

45 El término “administración oral” o “administrar por vía oral” significa que el animal ingiere o que una persona recibe instrucciones para administrar la composición, tales instrucciones pueden ser las que advierten y/o informan a la persona de que el uso de la composición puede y/o de hecho proporciona el beneficio referido, por ejemplo, ampliando la capacidad durante la actividad o el ejercicio físicos. Estas instrucciones pueden ser orales (p. ej. por una instrucción oral dictada, por ejemplo, por un médico, un veterinario o cualquier otro profesional sanitario o por los medios de radio y televisión (es decir, avisos) o instrucciones escritas (p. ej. por las instrucciones escritas emitidas, por ejemplo, por un facultativo, un veterinario u otros profesionales sanitarios (p. ej. prescripciones), profesionales u organizaciones comerciales (p. ej. por ejemplo mediante folletos comerciales, panfletos u otras pléyades instructivas), medios escritos (p. ej. internet, correo electrónico, páginas web u otros medios accesibles a través del ordenador), y/o el envase asociado a la composición (p. ej. la etiqueta presente en el recipiente que contiene la composición) o una combinación de los mismos (p. ej. etiqueta o prospecto con las instrucciones para acceder a la página web, en la que se ofrece más información).

55 El término “en combinación” indica que una composición para mejorar el rendimiento físico, una composición alimentaria, medicamento, droga, agente de recuperación u otro compuesto o composición aquí descritos se administran a un animal: (1) juntos en una composición única o (2) por separado en una frecuencia igual o diferente empleando vías de administración iguales o diferentes, al mismo tiempo o de forma periódica. De forma “periódica” indica que se administra el agente en un régimen de dosificación aceptable para un agente específico y que el alimento o el suplemento se administran al animal de forma rutinaria, si ello fuera apropiado para el animal concreto. “Aproximadamente al mismo tiempo” significa que se administran el suplemento y el agente al mismo tiempo o dentro de un espacio de separación como máximo de 72 horas entre sí. “En combinación” incluye de modo específico los esquemas de administración, en los que un suplemento dietético aquí descrito se administra dentro de un intervalo de

tiempo definido antes del ejercicio físico, el intervalo de tiempo abarca aprox. entre 0 y 120 minutos antes del inicio del ejercicio.

5 Todos los porcentajes aquí indicados se refieren al peso de la composición basado en la materia seca, a menos que se defina de otro modo. Los expertos podrán apreciar que el término "basado en la materia seca" indica que una concentración o porcentaje de un ingrediente dentro de la composición se mide o determina después de haber eliminado cualquier rastro de humedad que dicha composición pudiera contener.

10 Los intervalos se indican de modo abreviado, con el fin de evitar el tener que definirlos en toda su extensión y abarcan todos y cada uno de los valores dentro del intervalo. Puede elegirse cualquier valor apropiado dentro del intervalo, si procede en forma de valor máximo, valor mínimo o valor extremo (final).

15 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos, los términos de la técnica y los acrónimos (abreviaturas) aquí empleados tienen los significados aceptados en general por los expertos del o de los ámbitos de la invención o en el o en los ámbitos en los que se emplea el término en cuestión. Aunque para la práctica de la presente invención se puedan emplear cualesquiera composiciones, métodos y artículos industriales u otros medios o materiales similares o equivalentes a los aquí descritos, son preferidas ciertas composiciones, métodos, artículos industriales u otros medios o materiales aquí descritos.

20 La invención

25 Los inventores presentes han reconocido que la mayor parte de los productos energéticos formulados para perros incluyen una gran variedad de formulaciones de vitaminas, minerales e hidratos de carbono encaminadas a promover el rendimiento físico, pero ninguna de ellas se centra en la fisiología subyacente con vistas a ampliar la síntesis de proteínas o a reducir la descomposición (quebranto) de las proteínas durante el ejercicio físico. Además, los tiempos específicos de administración de los piensos y suplementos antes del ejercicio no se han entendido en el sentido de que puedan tener impacto en el rendimiento físico. Por lo tanto, los inventores presentes han descubierto nuevas composiciones y métodos que influyen y mejoran el rendimiento físico de un animal, en especial de un cánido.

30 Un aspecto de la invención se refiere a un suplemento dietético previo al ejercicio físico de un animal. En ciertas formas de ejecución, el animal es uno, cuyo metabolismo emplea la grasa como fuente de energía primera y/o primaria en sus ejercicios de resistencia. En una forma de ejecución, el animal es un cánido.

35 El suplemento de la presente invención se describe en la reivindicación 1 y contiene : (a) aprox. del 35 % al 60 % de proteínas, péptidos y/o aminoácidos, que contienen una o más proteínas estructurales, una o más proteínas biodisponibles y uno o más aminoácidos de cadena ramificada; (b) aprox. del 20 % al 38 % de grasa, que contiene por lo menos una fuente de triglicéridos de cadena media; y (c) aprox. del 5 % al 25 % de hidratos de carbono, que, en un aspecto, contienen hidratos de carbonos complejos.

40 En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene aprox. por lo menos el 35 %, 36 %, 37 %, 38 %, 39 %, 40 %, 41 %, 42 %, 43 %, 44 %, 45 %, 46 %, 47 %, 48 %, 49 %, 50 %, 51 %, 52 %, 53 %, 54 %, 55 %, 56 %, 57 %, 58 % o 59 % de proteínas, péptidos y/o aminoácidos. En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene aprox. hasta un 36 %, 37 %, 38 %, 39 %, 40 %, 41 %, 42 %, 43 %, 44 %, 45 %, 46 %, 47 %, 48 %, 49 %, 50 %, 51 %, 52 %, 53 %, 54 %, 55 %, 56 %, 57 %, 58 %, 59 % o 60 % de proteínas, péptidos y/o aminoácidos. En particular, el suplemento puede contener aprox. entre el 40 % y el 50 % de proteínas, péptidos y/o aminoácidos o aprox. entre el 45 % y el 55 % de proteínas, péptidos y/o aminoácidos. En una forma de ejecución, el componente proteína/péptido/aminoácido del suplemento incluirá aprox. el 30-46 % de proteínas estructurales, aprox. el 24-31 % de fragmentos de péptidos de longitud media y aprox. el 20-50 % de proteínas/péptidos biodisponibles. Dentro del componente proteína/péptido/aminoácido se halla repartido el 6-8 % de aminoácidos de cadena ramificada (este último porcentaje está referido al peso total del producto).

55 Tal como se ha mencionado antes, los componentes proteína/péptido/aminoácido del suplemento incluyen proteínas estructurales, proteínas o péptidos y aminoácidos biodisponibles. Las proteínas estructurales funcionan de modo que proporcionen forma, textura y contenido nutritivo al suplemento. Las proteínas estructurales pueden incluir proteínas animales, por ejemplo proteínas de músculos y de órganos. En una forma de ejecución, las proteínas estructurales incluyen el músculo del corazón, por ejemplo de corazón de ternera y pueden incluir también proteínas vegetales, por ejemplo la harina de soja, harina de trigo o sémola.

60 El componente proteína o péptido biodisponibles funciona de modo que proporcione una fuente de proteínas absorbida rápidamente al término del período de ejercicio físico. Tales fuentes de proteínas absorbidas rápidamente pueden incluir a las que se absorben en 30 minutos después de la ingestión y en un aspecto, en 15 minutos. Las proteínas/péptidos biodisponibles pueden incluir al suero, las proteínas de soja parcialmente hidrolizadas, los aminoácidos hidrolizados o cualquier combinación de los mismos. Las proteínas del suero, si están presentes, contienen un concentrado de proteínas de suero, con aprox. un 80 % de proteína en bruto; la soja, si está presente, adopta la

forma de proteína de soja modificada (p. ej. la SPI 1510, un producto parcialmente hidrolizado) o un aislado de proteínas de soja (no hidrolizado).

5 Los aminoácidos de cadena ramificada (BCAA) actúan para estimular la síntesis de las proteínas, reducir el catabolismo de las proteínas, activar la reconstrucción de las proteínas del músculo, reducir la fatiga muscular, reducir la lesión muscular y la acumulación de biomarcadores asociados con la lesión o el estrés de las células musculares. En una forma de ejecución, el aminoácido de cadena ramificada es la leucina. En ciertas formas de ejecución, la leucina, en forma de aminoácido separado o en forma de proteína, está presente en una cantidad comprendida
10 aprox. entre el 2 % y el 5 % del suplemento dietético. En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene aprox. por lo menos un 2 %, 2,1 %, 2,2 %, 2,3 %, 2,4 %, 2,5 %, 2,6 %, 2,7 %, 2,8 %, 2,9 %, 3 %, 3,1 %, 3,2 %, 3,3 %, 3,4 %, 3,5 %, 3,6 %, 3,7 %, 3,8 %, 3,9 %, 4 %, 4,1 %, 4,2 %, 4,3 %, 4,4 %, 4,5 %, 4,6 %, 4,7 %, 4,8 % o 4,9 % de leucina total. En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene aprox. hasta un 2,1 %, 2,2 %, 2,3 %, 2,4 %, 2,5 %, 2,6 %, 2,7 %, 2,8 %, 2,9 %, 3 %, 3,1 %, 3,2 %, 3,3 %, 3,4 %, 3,5 %, 3,6 %, 3,7 %, 3,8 %, 3,9 %, 4 %, 4,1 %, 4,2 %, 4,3 %, 4,4 %, 4,5 %, 4,6 %, 4,7 %, 4,8 %, 4,9 % o 5 % de leucina total. En formas de ejecución especiales, el suplemento contiene aprox. entre el 2,5 % y el 5 % de leucina total o aprox. entre el 3,5 % y el 5 % de leucina total o aprox. entre el 3,5 y el 4,5 % o aprox. entre el 3,6 % y el 4,4 % de leucina total. En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene aprox. por lo menos un 0,8 %, 0,85 %, 0,9 %, 0,95 %, 1,0 %, 1,05 %, 1,1 %, 1,15 %, 1,2 % o 1,25 % de leucina libre. En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene aprox. hasta un 0,85 %, 0,9 %, 0,95 %, 1,0 %, 1,05 %, 1,1 %, 1,15 %, 1,2 % 1,25 % o 1,3 % de leucina libre. En formas de ejecución especiales, el suplemento contiene aprox. entre el 0,8 % y el 1,4 % de leucina libre o aprox. entre el 0,9 % y el 1,3 % de leucina libre.

25 En varias formas de ejecución, la composición contiene además uno o más aminoácidos adicionales o sus sales o derivados, por ejemplo, la glutamina, el ácido glutámico, uno o más BCAA adicionales (isoleucina o valina) o arginina. Se considera que cada uno de estos aminoácidos desempeña un papel en la mejora del rendimiento físico o que influye en la recuperación después de una actividad ardua, por ejemplo desplazando el catabolismo de las proteínas hacia la biosíntesis de proteínas, produciendo un efecto economizador en la pérdida de un aminoácido o proteína, por ejemplo la proteína del músculo, y/o proporcionando uno o más compuestos intermedios con fines energéticos o biosintéticos, por ejemplo los compuestos intermedios del ciclo de ácidos tricarbónicos (TCA).

30 En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene aprox. por lo menos un 20 %, 21 %, 22 %, 23 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 %, 35 %, 36 % o 37 % de grasa. En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene aprox. hasta un 21 %, 22 %, 23 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 %, 35 %, 36 %, 37 % o 38 % de grasa. En particular, el suplemento puede contener aprox. entre un 24 % y un 34 % de grasa o aprox. entre un 26 % y un 32 % de grasa o aprox. entre un 28 % y un 30 %
35 grasa.

40 El contenido de grasa del suplemento dietético incluye normalmente una combinación de grasas, por lo menos una de las cuales es una fuente de triglicéridos de cadena media (MCT). En una forma de ejecución, la fuente de triglicéridos de cadena media es el aceite de coco, el aceite de palmiste (almendras de palma) o una combinación de estos aceites y otros aceites vegetales que contienen MCT. En otra forma de ejecución se utilizan las mezclas industriales de triglicéridos de cadena media, p. ej. los MCT de la marca NEOBEE® (Stepan Lipid Nutrition, Maywood, NJ), entre muchos otros. En una forma de ejecución, la composición contiene aprox. entre el 15 % y el 30 % de triglicéridos de cadena media como porcentaje de la grasa total. En una forma de ejecución, la composición contiene aprox. entre el 2,6 % y el 7,6 % de triglicéridos de cadena media como porcentaje del contenido nutritivo total del suplemento.
45 El resto del componente graso puede provenir de la fuente de proteínas, p. ej. el componente carne, si está presente. Además o como alternativa pueden añadirse fuentes de grasas, tales como la manteca de cerdo, la grasa aviar, los aceites vegetales, el aceite de pescado y similares.

50 El contenido de hidratos de carbono debería mantenerse bajo y debería estar formado en su mayor parte por hidratos de carbonos complejos, por ejemplo la harina de trigo, la harina de soja o el almidón. En ciertas formas de ejecución, el suplemento contiene hasta el 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 %, 20 %, 21 %, 22 %, 23 %, 24 % o 25 % de hidratos de carbono; sin embargo, en algunas formas de ejecución se mantiene bajo el contenido de hidratos de carbono, por ejemplo, inferior al 20 % o inferior al 15 % o inferior al 10 % o inferior al 7 % del contenido nutritivo total del suplemento. Manteniendo relativamente bajo el contenido de hidratos de carbono y/o empleando hidratos de carbonos complejos se puede minimizar la secreción de insulina.
55

60 Debería tenerse en cuenta que el suplemento nutritivo está destinado a proporcionar solamente una porción de las necesidades nutritivas diarias totales del animal, en particular, una cantidad de nutrientes (es decir, una combinación de proteínas, péptidos, aminoácidos, grasas, hidratos de carbonos, micronutrientes) suficiente para ampliar el rendimiento físico o deportivo pero no suficiente para provocar en el animal una sensación de saciedad o indolencia. Por lo tanto, el suplemento puede formularse para proporcionar al animal los nutrientes en cantidades comprendidas aprox. entre 1,0 g/kg de peso corporal (BW) y 3,0 g/kg de peso corporal del animal. En ciertas formas de ejecución, el suplemento se fórmula para proporcionar al animal los nutrientes en cantidades aprox. por lo menos de 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8 o 2,9 g/kg del peso corporal del animal. En

ciertas formas de ejecución se fórmula el suplemento para proporcionar al animal los nutrientes en cantidades aprox. de hasta 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 o 3,0 g/kg del peso corporal del animal. En una forma de ejecución se fórmula el suplemento para proporcionar al animal los nutrientes en cantidades comprendidas aprox. entre 1,2 y 2,2 g/kg del peso corporal del animal. En otra forma de ejecución se fórmula el suplemento para proporcionar al animal los nutrientes en cantidades comprendidas aprox. entre 1,4 y 2,0 g/kg del peso corporal del animal. En una forma especial de ejecución se fórmula el suplemento para proporcionar al animal los nutrientes en cantidades comprendidas aprox. entre 1,6 y 1,8 g/kg del peso corporal del animal.

La composición puede adaptarse al uso en cualquier forma típica de suplementos dietéticos para animales. En una forma de ejecución, el suplemento se fórmula como pienso para animal de compañía, por ejemplo en forma de golosina para animales de compañía, por ejemplo en forma de galletas o de bocado masticable. En otras formas de ejecución, el contenido de nutrientes recién descrito puede proporcionarse en forma de gel, pasta, jalea (gelatina) o bebida. Por consiguiente, la humedad o contenido de agua o contenido de vehículos inertes pueden variar, como podrán comprender los expertos.

La composición puede contener además uno o más agentes adicionales para mejorar el rendimiento físico (deportivo), ampliar el metabolismo, prolongar la resistencia y/o influir en la recuperación después del ejercicio. Los agentes que mejoran el rendimiento físico y/o los agentes de recuperación incluyen a los antioxidantes, por ejemplo la vitamina C, la vitamina E; o la vitamina A, compuestos tales como el succinato o sus sales o derivados, varios cofactores enzimáticos (p. ej. la coenzima Q10), electrolitos tales como el sodio, potasio, los suplementos o extractos vegetales y similares. En algunas formas de ejecución, las composiciones aquí descritas pueden administrarse también o ingerirse aprox. al mismo tiempo o en combinación con tales agentes adicionales o pueden formularse juntos en una composición única o en un kit único que contenga diversas composiciones. Entre otras cosas, dichos agentes adicionales pueden facilitar también la hidratación o rehidratación del animal, así como la oxigenación o reoxigenación de la sangre del animal.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método para mejorar el rendimiento físico de un animal, en especial un cánido, tal como se define en la presente reivindicación 7. El método consiste en administrar al animal un suplemento preejercicio que contiene (a) aprox. del 35 % al 60 % de proteínas y/o aminoácidos, que contienen una o más proteínas estructurales, una o más proteínas biodisponibles y uno o más aminoácidos de cadena ramificada; (b) aprox. del 20 % al 38 % de grasa, que contiene por lo menos una fuente de triglicéridos de cadena media; y (c) aprox. del 5 % al 25 % de hidratos de carbono, que, en un aspecto, contienen hidratos de carbonos complejos.

En una forma de ejecución, el suplemento se administra antes del ejercicio, por ejemplo, aprox. entre cero y 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 ó 60 minutos antes del ejercicio. En una forma de ejecución, el suplemento se administra aprox. entre 10 minutos y 20 minutos o entre 20 minutos y 40 minutos o entre 40 minutos y 60 minutos antes del ejercicio. En una forma especial de ejecución, el suplemento se administra aprox. 30 minutos antes del ejercicio. En caso de ejercicio prolongado, el suplemento puede administrarse de forma periódica durante dicho ejercicio. Por ejemplo, el suplemento adicional puede proporcionarse después de 30, 60, 90 o más minutos de ejercicio continuo.

El método proporciona la administración de una cantidad efectiva de la composición para mejorar el rendimiento físico. La cantidad efectiva requerida es una cantidad suficiente para conseguir uno o más de los efectos siguientes: (1) nivel más alto de BCAA en la sangre aprox. a los 30 minutos después de la administración, (2) mayor nivel de leucina en la sangre aprox. al cabo de 30 minutos de la administración; (3) mayor disponibilidad de ácidos grasos libres y/o glicerina para los músculos que realizan el ejercicio, por ejemplo, medida en los niveles circulantes más elevados de estas sustancias en la sangre; (4) evitación sustancial de secreción de insulina después de la administración (p. ej. inferior al 5 %); (5) reducción del catabolismo de proteínas inducido por la actividad; (6) mayor biosíntesis de proteínas; (7) oxigenación sanguínea estable o aumentada, (8) producción reducida por lo menos de una hormona de estrés; (9) producción reducida de productos de oxidación de proteínas, (10) aumento o agotamiento reducido de agentes endógenos de tamponamiento del pH, por ejemplo niveles de beta-alanina y/o carnosina para compensar la producción de ácido láctico inducida por el ejercicio y/o (11) reducción de la fatiga o reducción del dolor. Estos niveles pueden medirse del modo aquí descrito comparando los niveles con o sin uso de las composiciones presentes antes del ejercicio.

El método puede aplicarse a cualquier animal o grupo de animales que participen en una actividad física, en especial a aquellos que están sometidos a una actividad agotadora, por ejemplo que trabajan, que se adiestran, que realizan deportes de competición y similares. En particular, estos animales son cánidos, por ejemplo perros empleados para el trabajo, perros de competición o perros que acompañan a sus cuidadores humanos por ejemplo en caminatas, marchas a trote corto, excursiones o carreras.

Los métodos de la invención para mejorar el rendimiento deportivo (físico) con la administración del suplemento dietético aquí descrito pueden implicar también la administración de agentes adicionales para mejorar el rendimiento deportivo o cualquier otro objetivo beneficioso secundario, por ejemplo ampliar la recuperación después de un ejercicio agotador o minimizar las consecuencias estresantes del ejercicio, tal como se ha descrito antes. La administra-

ción del suplemento dietético para mejorar el rendimiento deportivo puede ser anterior, simultánea o posterior o puede realizarse después de la administración de los demás agentes. Por ejemplo, el suplemento preejercicio y uno o más agentes de recuperación pueden tomarse antes del inicio, durante o después de haber finalizado la actividad física.

Se proporciona también un envase que contiene una composición de la invención y una etiqueta, un logotipo, una gráfica, un símbolo, un eslogan o similares que identifican al envase y a la composición de su interior, indicando que es útil para mejorar el rendimiento deportivo de un animal. En una forma de ejecución, el envase contiene un suplemento dietético preejercicio que contiene (a) aprox. del 35 % al 60 % de proteínas y/o aminoácidos, que contienen una o más proteínas estructurales, una o más proteínas biodisponibles y uno o más aminoácidos de cadena ramificada; (b) aprox. del 20 % al 38 % de grasa, que contienen por lo menos una fuente de triglicéridos de cadena media; y (c) aprox. del 5 % al 25 % de hidratos de carbono. El envase contiene además una palabra o palabras, una figura, un dibujo, un logotipo, una gráfica, un símbolo, un acrónimo, un eslogan, una frase o cualquier otro dispositivo o combinación de los mismos, ya sea directamente en dicho envase o en la etiqueta pegada al mismo, que indica que el contenido del envase es útil para mejorar el rendimiento físico de un animal. En algunas formas de ejecución, el envase puede llevar las palabras "mejora el rendimiento deportivo", "prolonga la resistencia", "estimula el metabolismo" u otra expresión equivalente impresa en dicho envase. Puede emplearse en la invención cualquier envase o material de envase idóneo para contener la composición, p. ej. una bolsa, una caja, una botella (frasco), una lata, una bolsa pequeña (pouch) y similares fabricados con papel, plástico, lámina, metal o similares.

Se describe el uso de de una o más composiciones aquí descritas para fabricar un medicamento destinado a mejorar el rendimiento deportivo en un animal, en especial de un cánido. El medicamento puede contener además uno o más agentes que mejoren el rendimiento físico o mejoren la recuperación después del ejercicio, vitaminas, electrolitos, antioxidantes, extractos vegetales, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), analgésicos, medicación contra el dolor o combinaciones de los mismos. Los medicamentos se fabrican en general mezclando un compuesto o composición con los excipientes, tampones, ligantes, plastificantes, colorantes, diluyentes, agentes de compactación (compresión), lubricantes, saborizantes, agentes humectantes y otros ingredientes que los expertos ya conocen como útiles para la producción de medicamentos o para la formulación de medicamentos que son idóneos para la administración a un animal.

La invención puede ilustrarse además con el ejemplo siguiente, aunque se da por supuesto que este ejemplo se incluye meramente con fines de ilustración y en modo alguno está pensado para limitar el alcance de la invención, a menos que se indique explícitamente lo contrario.

Ejemplo 1

Se realizan estudios de alimentación con un pienso preejercicio para determinar la eficacia, la dosis a administrar y así como la recomendación de ritmo (coordinación) antes del ejercicio. Los objetivos de los estudios son: (1) determinar la dosis efectiva de alimentación de un bocado (snack) preejercicio evaluando la aparición de nutrientes clave y metabolitos de los componentes dietéticos en la sangre de los perros después de la alimentación; y (2) determinar el tiempo de alimentación efectivo antes del ejercicio empleando la dosis de alimentación elegida en el objetivo 1.

Metodología

Se efectúa un ensayo de alimentación empleando perros adultos para evaluar la biodisponibilidad del aminoácido leucina y de los aminoácidos totales de cadena ramificada después de la ingestión del pienso a ensayar.

Se realiza un ensayo de ritmo sin ejercicio: se mantienen en ayunas todos los perros (peso corporal (BW) medio: 22 kg +/- 2,7 kg) durante una noche, pero se les concede libre acceso al agua. Se dividen en tres grupos de tratamiento, cada uno de ellos está formado por 15 perros. Los grupos de ensayo reciben como alimentación 1,6 g de pienso/kg de peso corporal, formado por galleta desmenuzada extruida seca a base de pollo y arroz, formulado para que contenga por lo menos un 30 % de proteína en bruto y por lo menos un 20 % de grasa en bruto, como representativo de un pienso para aumentar el rendimiento físico de los cánidos (Nestle Purina, St. Louis, MO) o bien un pienso de ensayo, aproximadamente a las 9 de la mañana (am). Se incluye un tercer grupo de control que representa a los animales que no reciben ningún alimento antes del ejercicio (están en ayunas). Se extraen las muestras de sangre antes de la alimentación y en varios períodos de tiempo después de dicha alimentación (0, 30 y 60 min después de la ingestión).

Dietas del ensayo

- pienso de control: galleta desmenuzada extruida seca a base de pollo y arroz, formulado para que contenga por lo menos un 30 % de proteína en bruto y por lo menos un 20 % de grasa en bruto, como representativo de un pienso para aumentar el rendimiento físico de los cánidos. Se pretende que contenga hasta un 31 % de proteína en bruto, porcentaje referido al pienso administrado.

- pienso de ensayo: formulado para que contenga un 44 % de proteína en bruto, porcentaje referido al pienso administrado.

5 En la siguiente tabla 1 se recogen los ingredientes de las fórmulas y los porcentajes de la fórmula de ensayo empleada en la prueba de alimentación.

Tabla 1

ingredientes del pienso del ensayo	fórmula del ensayo
corazones de ternera	60,5
L-leucina	0,9
sémola de soja 80-0	5,0
aceite de coco	7,2
proteínas de soja modificadas (SPI 1510)	5,5
concentrado de proteínas de suero	6,0
glicerina	5,0
GDL NE	1,2
sabor Flavor Smoke P-50	0,3
propionato cálcico	0,12
sal	1,5
ácido fosfónico	0,5
colorante caramelo	0,75
ajo en polvo	0,5
aislado de proteínas de soja	2,0
gelatina TG	1,5
lecitina de soja	2,0
ácido sórbico	0,28
PMX Naturox Plus	0,1
mezcla de vitaminas	0,125

10 Resultados del ensayo

Ingestión de los piensos del ensayo y proteínas

A continuación se indican las cantidades medias de pienso ingerido en cada grupo de tratamiento.

	material administrado	materia seca	L-leu ingerida
• pienso de control:	1,6 g/kg de peso corporal	1,5 g/kg de peso corporal	56,8 mg/kg de peso corporal
• fórmula del ensayo:	1,6 g/kg de peso corporal	1,2 g/kg de peso corporal	56,6 mg/kg de peso corporal

20 Las cantidades ingeridas de proteína en bruto media (en base a la materia seca) se indican a continuación para cada grupo de tratamiento.

En base a la materia seca:

- pienso de control: 0,49 g/kg de peso corporal
- pienso de ensayo 0,53 g/kg de peso corporal

Efecto del pienso del ensayo en la biodisponibilidad de la L-leucina

30 En este ensayo se evalúa la aparición de aminoácidos en el suero del perro después de haber ingerido 1,6 g de pienso/kg de peso corporal (pienso del ensayo o pienso de control) o sin pienso. Los resultados se recogen en la siguiente tabla 2.

35 Tabla 2. Concentración media de L-leucina (+/- SEM) en el suero de los animales de los grupos de tratamiento.

	grupos de tratamiento			valor P de ANOVA
	grupo de control sin alimentación	grupo de control con alimentación	grupo de ensayo con alimentación	
tiempo después de la alimentación (minutos)	en ayunas	pienso de control	pienso prototipo	
concentración de leucina en el suero (nmoles/ml)				

0	178,1 +/- 7,4	172,6 +/- 9,6	188,5 +/- 8,3	NS ¹
30	163,9 +/- 7,4	170,9 +/- 7,5	191,7 +/- 7,2	<0,05
60	166,3 +/- 7,3	201,7 +/- 11,3	197,5 +/- 8,0	<0,05
concentración de aminoácidos de cadena ramificada en el suero (nmoles/ml)				
0	479 +/- 15	480 +/- 26	499 +/- 16	NS ¹
30	452 +/- 18	479 +/- 22	499 +/- 11	NS ¹
60	461 +/- 17	528 +/- 27	507 +/- 18	NS ¹
¹ NS: no significativo desde el punto de vista estadístico				

Los datos demuestran de modo específico que la fórmula del pienso de ensayo es superior por su capacidad de ampliar de manera significativa la entrega de la L-Leu (ANOVA, P<0,45), indicada por un aumento del 12,2 % en la aparición del aminoácido en el suero a los 30 min de la ingestión, comparada con una cantidad similar de una fórmula de aumento de rendimiento como comida principal (pienso de control). Los dos piensos de ensayo, administrados a razón de 1,6 g de pienso por kg de peso corporal entregan en realidad la misma cantidad de L-leucina dietética al animal, pero la fórmula del ensayo es la única capaz de ampliar la biodisponibilidad de la L-leucina en el animal al cabo de 30 min de la ingestión.

Además, los datos demuestran de modo específico que la fórmula del pienso de ensayo es superior por su capacidad de ampliar de manera cuantitativa la entrega de aminoácidos totales de cadena ramificada, indicada con el aumento del 4 % en la aparición de aminoácidos en el suero al cabo de 30 min de la ingestión, comparada con una cantidad similar de la fórmula de rendimiento físico de la comida principal (pienso de control).

Resumen de los beneficios de los ensayos

Los estudios anteriores pueden resumirse del modo siguiente:

- la dosis efectiva se sitúa aproximadamente entre 1,6 g y 1,8 g de pienso del ensayo por kg de peso corporal. Esto equivale aproximadamente a una barra de 36-40 gramos para un perro de 50 libras (lb) (= 50 x 0,45 kg).
- el tiempo de la alimentación efectiva es aproximadamente de 30 minutos antes del ejercicio.

Ejemplo 2

Se lleva a cabo un ensayo de alimentación empleando el diseño experimental y fórmulas de control y de ensayo similares a las descritas en el ejemplo 1, excepto que en este ensayo los perros se someten a ejercicio.

En este ensayo se evalúa la aparición de aminoácidos en el suero del perro después de la ingestión de 1,6 g de pienso/kg de peso corporal (pienso de la fórmula del ensayo o pienso de control) o sin pienso. La alimentación con el pienso del ensayo o de control tiene lugar 60 minutos antes del ejercicio. El ejercicio de correr a 5-6 mph (millas por hora) se mantiene durante 90 minutos. Los datos siguientes se obtienen de la sangre extraída 30 min antes del ejercicio, inmediatamente antes del ejercicio y 60 min después del inicio del ejercicio.

Los datos demuestran de modo específico que las concentraciones de leucina en el suero son significativamente menores en los perros que no reciben el pienso preejercicio. Las fórmulas de pienso del ensayo o de pienso de control producen la prevención de la disminución de la concentración de leucina en la sangre inducida por el ejercicio, después de 60 min de realizar dicho ejercicio. Tanto el pienso de control como el pienso del ensayo se administran a razón de 1,6 g de pienso por kg de peso corporal. No obstante, el pienso del ensayo contiene solamente un 2,72 % de leucina, mientras que el pienso de control contiene un 3,57 % de leucina. Incluso así la alimentación da lugar a niveles similares de leucina en la sangre antes y durante el ejercicio (tabla 3).

- contenido de proteína en la fórmula del ensayo: un 36,4 % referido al material alimentado, un 44,66 % referido a la materia seca
- contenido de proteína en la fórmula de control: un 30,7 % referido al material alimentado, un 33,04 % referido a la materia seca

Tabla 3. Concentración media de L-leucina (+/- SEM) y de BCAA en el suero de los animales de los grupos de tratamiento.

	grupos de tratamiento			valor P de ANOVA
	grupo de control sin alimentación	grupo de control con alimentación	grupo de ensayo con alimentación	
tiempo relativo al ejercicio (minutos)	en ayunas	pienso de control	pienso prototipo	
concentración de leucina en el suero (nmoles/ml)				
-30	154,7 +/- 8,0	159,2 +/- 9,3	161,6 +/- 5,5	NS ¹

0	152,5 +/- 7,7	167,0 +/- 6,3	167,0 +/- 5,6	NS ¹
60	131,6 +/- 6,2	156,4 +/- 7,4	150,8 +/- 5,6	<0,05
concentración de aminoácidos de cadena ramificada en el suero (nmoles/ml)				
0	466 +/- 16	479 +/- 20	484 +/- 14	NS ¹
30	465 +/- 20	502 +/- 16	504 +/- 16	NS ¹
60	426 +/- 18	472 +/- 18	479 +/- 17	0,08

¹ NS: no significativo desde el punto de vista estadístico

Ejemplo 2

5 Se realiza una prueba de ejercicio empleando perros adultos para evaluar la ingestión de un suplemento nutritivo rico en proteínas y grasas antes del ejercicio con arreglo a una forma de ejecución de la presente invención. De modo específico, los datos recogidos en este documento se basan en una fórmula que contiene aproximadamente un 4,3 % de L-leucina total (referido al material alimentado; un 5,5 % referido a la materia seca) comparado con el 3,6 % de L-leucina total (referido al material alimentado; un 4,6 % referido a la materia seca) indicados en las fórmulas examinadas previamente. Por consiguiente, la cantidad de L-leucina de la dosis ingerida aumenta de 57 mg/kg de peso corporal a 68 mg/kg de peso corporal. En cambio, el contenido total de proteínas es un 1,5 % inferior (referido a materia seca) si se compara con las fórmulas examinadas previamente (datos recogidos a continuación).

15 En el ejemplo presente se generan datos relativos a la entrega de nutrientes clave antes y durante el ejercicio cuando se administran en un pienso preejercicio antes del ejercicio y generan datos adicionales relativos al ejercicio que respaldan los beneficios metabólicos y fisiológicos asociados con la mejora del rendimiento deportivo (físico) y/o el metabolismo durante el ejercicio.

Resumen de los beneficios de los ensayos

20 Los estudios anteriores pueden resumirse del modo siguiente:

- la composición reduce la descomposición de las proteínas y la oxidación de los aminoácido,
- la composición reduce la rotura de las células musculares y el estrés celular,
- la composición reduce la rotura de las células hepáticas y el estrés celular,
- 25 • la composición reduce la oxidación de las proteínas causada por compuestos reactivos de nitrógeno,
- la composición mejora la capacidad de tamponado de las células musculares y/o las concentraciones de carnosina en el suero
- la composición mejora las concentraciones de beta-alanina facilitando la promoción de la síntesis endógena de la carnosina y
- 30 • la composición mejora las concentraciones de osmolitos en el suero y/o las concentraciones de taurina en el suero.

Metodología

Animales y tratamiento

35 La prueba de ejercicio se realiza empleando perros de raza cruzada Husky x Pointer (N = 38; edad comprendida entre 2 y 9 años; promedio: 4,7 años +/- 2,2 de desviación estándar (SD); de peso corporal medio: 23,7 kg +/- 3,3 SD). Se eligen los perros para participar en la prueba y se dividen en 3 grupos de tratamiento teniendo en cuenta su edad, su peso corporal y su capacidad para el ejercicio.

40 Todos los perros se acondicionan para el ejercicio durante 3 semanas antes de la fase de tratamiento. El acondicionamiento consiste en emplear una rueda de ejercicio que se mueve a razón de 7-8 mph (millas por hora) 2 ó 3 veces por semana durante 3 semanas. La duración del ejercicio se aumenta gradualmente a lo largo del período de acondicionado de 3 semanas para asegurar que todos los perros puedan correr durante las 2 h de ejercicio de la fase de tratamiento.

45 Los tratamientos experimentales se realizan en un grupo de control (N = 13), que no recibe ningún pienso preejercicio, y en 2 grupos de pienso de ensayo, que reciben un pienso de tipo galleta desmenuzada seca, similar a la fórmula de pollo y arroz de la comida principal (1,6 g por kg de peso corporal; N = 13) o una fórmula de ensayo (barra del tipo ProPlan Prime; 1,6 g por kg de peso corporal; N = 13), 30 minutos antes del inicio del ejercicio. Todos los perros se alimentan de modo regular una vez al día y se les concede libre acceso al agua.

La temperatura ambiental durante el ejercicio se sitúa entre 50 y 65°F (aprox. entre 10 y 18°C).

55 Fase de tratamiento para el ejercicio

La fase de tratamiento incluye una tanda de ejercicios de 2 h en los días 1, 4, 7, 10, 13, 17, 18 y 19. Los efectos de

un solo día de ejercicio (1 d) se evalúan recogiendo muestras de sangre en el día 7. Los efectos de 3 días de ejercicio consecutivos se evalúan recogiendo muestras de sangre en el día 19 (3 d). Salvo un caso, todas las tandas de ejercicio se llevan a cabo empleando la rueda de ejercicio a una velocidad de 7-8 mph durante 2 horas. La excepción consiste en que el día 18 durante el ensayo de ejercicios de 3 días, en el que los perros se ejercitan durante 25 min a 13 mph corriendo en forma de grupo sujetado con arneses. Se dividen los perros en 4 grupos de ejercicio que incluyen 9 ó 10 perros por grupo, en los que los 3 tratamientos se representan en cada grupo de ejercicio. En los días de extracción de sangre (días 7 y 19), los perros se paran temporalmente después de los 60 min de ejercicio iniciales para obtener de ellos una muestra de sangre y después corren en dirección opuesta durante el resto del ejercicio.

Se extraen cuatro muestras de sangre en el día 7 y el día 19; 1ª) inmediatamente después de ingerir el pienso de tratamiento de preejercicio (30 min antes del ejercicio), 2ª) 30 min después de ingerir el pienso preejercicio (inmediatamente antes de iniciar el ejercicio), 3ª) después de 60 min de ejercicio y 4ª) después de 120 min de ejercicio (final del ejercicio).

Dietas de ensayo

Las dietas se configuran de este modo.

• Pienso de control: representativo de un pienso de comida principal comercial que contiene pollo y arroz. Se pretende que contenga:

- un 31-33,5 % de proteína en bruto, porcentaje referido al material alimentado (un 33,7 % referido a la materia seca)
- un 28-35 % de hidratos de carbono, porcentaje referido al material alimentado (un 34,4 % referido a la materia seca)
- un 20-23 % de grasa en bruto, porcentaje referido al material alimentado (un 23,3 % referido a la materia seca)

• Pienso del ensayo: formulado para que contenga:

- un 32 % de proteína en bruto, porcentaje referido al material alimentado (un 42 % referido a la materia seca)
- un 23-25 % de grasa en bruto, porcentaje referido al material alimentado (un 30-32 % referido a la materia seca)

Pienso del ensayo e ingestión de proteína

Las cantidades medias de pienso ingerido se recogen a continuación para grupo de tratamiento.

	<u>porcentaje de material alimentado</u>	<u>porcentaje de materia seca</u>
• pienso de control	1,6 g/kg de peso corporal	1,5 g/kg de peso corporal
• fórmula de ensayo	1,6 g/kg de peso corporal	1,2 g/kg de peso corporal

La cantidad media de proteína en bruto ingerida por peso corporal se indica seguidamente para cada tratamiento grupo.

- pienso de control: 0,49 g/kg de peso corporal
- fórmula de ensayo: 0,51 g/kg de peso corporal

La cantidad media de L-leucina ingerida (referida al material alimentado y a la materia seca) se indica a continuación para cada tratamiento grupo.

- pienso de control: 56,8 mg/kg de peso corporal
- fórmula de ensayo: 68,0 mg/kg de peso corporal

Resultados de las pruebas

Con esta prueba se evalúa la aparición de la 3-metilhistidina (3MH) y creatina-quinasa en el suero del perro como biomarcadores del quebranto de las proteínas musculares y la rotura de las células musculares inducida por el ejercicio, respectivamente. La aparición de la asparagina-aminotransferasa (AST) se considera en general un biomarcador procedente del músculo y del hígado y relacionado con la rotura y la lesión celulares (Banfi y col., 2012). El ejercicio produce como es natural una mayor carga oxidante, que, en parte, provoca la rotura y el vertido de las membranas celulares (estrés celular), que se pone de manifiesto observando en la sangre los aumentos de varias enzimas, metabolitos y/o electrolitos específicos de los músculos; algunos de ellos se han convertido en indicadores clave del deterioro de las fibras musculares inducido por el ejercicio y de la rotura de la integridad de la membrana, por ejemplo la lactato-deshidrogenasa (LDH) y creatina-quinasa (CK; Banfi y col., 2012). Los perros que realizan ejercicios prolongados para aumentar la resistencia (Strasser y col., 1997; Davenport y col., 2001; Wakshlag y col.

2004; McKenzie y col., 2007), aceleraciones fuertes de corta duración (menos de 2 min) (Lassen y col., 1986; Snow y col., 1988; Rose y col., 1989; Ilkiw y col., 1989; Rovira y col., 2007) o carreras repetidas de búsqueda de piezas abatidas (duración aproximadamente 10 min; Matwichuk y col., 1999; Steiss y col., 2004; Steiss y col., 2008) sufren cambios debidos al ejercicio en varios analitos hematológicos. Se ha publicado en múltiples artículos que estos cambios inducidos por el ejercicio se sitúan dentro de intervalos clínicamente “normales”, aunque muchos sean estadísticamente diferentes de los niveles de reposo y puedan asociarse a un mayor estrés oxidante. Por lo tanto, el seguimiento de estos marcadores sanguíneos proporciona una base para evaluar la manera, en la que las intervenciones dietéticas pueden compensar el estrés metabólico y fisiológico natural asociado con el ejercicio.

Catabolismo de proteínas: los datos demuestran que la fórmula del pienso del ensayo comparada con una fórmula de control es superior por su capacidad en reducir el catabolismo de las proteínas, como indica el mantenimiento de concentraciones un 10 % más bajas de 3MH en el suero antes del inicio del ejercicio y un 7-10 % más bajas durante un solo día de ejercicio (tabla 4). La fórmula del pienso del ensayo reduce también el catabolismo de las proteínas en un 5 % si se compara con el de los perros en ayunas antes del inicio del ejercicio. La administración del pienso de control en forma de suplemento de preejercicio parece aumentar el catabolismo de las proteínas durante el ejercicio, si se compara con los perros que se alimentan con el pienso del ensayo y con los perros de control que se mantienen en ayunas.

Además, después de un acondicionamiento continuo con ejercicio con o sin el suplemento preejercicio durante 3 semanas, seguido por una tanda de ejercicio 3-d, las concentraciones de 3MH en el suero de los perros alimentados con el pienso del ensayo después del d-3 se sitúan un 9 % por debajo antes del ejercicio y se mantienen un 12 % por debajo después de 60 min de ejercicio si se comparan con las de los perros a los que se ha administrado el pienso de control. El pienso de la fórmula del ensayo proporciona una reducción incluso mayor del catabolismo de las proteínas si se comparan con los perros en ayunas, ya que la 3MH tiene una concentración aprox. un 15 % menor antes del inicio del ejercicio y permanece por lo menos un 7 % menor durante el ejercicio.

Rotura de células musculares/marcadores de lesiones musculares: la fórmula del pienso del ensayo comparada con la fórmula de control es superior por su capacidad de respaldar una lesión muscular reducida durante el ejercicio, indicada por concentraciones menores de CK en el suero antes del inicio del ejercicio 1-d (26 %) y en un 29 % durante la tanda única de ejercicio de 2 horas (tabla 4). La administración del pienso de control como suplemento preejercicio parece desembocar en concentraciones de CK que son ligeramente elevadas antes del inicio del ejercicio y que son más elevadas en los perros en ayunas durante y después del ejercicio, si se comparan con los perros de control mantenidos en ayunas.

Después del acondicionamiento continuo en el ejercicio durante 3 semanas con o sin suplemento preejercicio, seguido por una tanda de ejercicio 3-d, las concentraciones de CK en el suero después del d-3 son relativamente similares antes del ejercicio, pero después de 2 h de ejercicio la ingestión de cualquier pienso de tratamiento se traduce en una reducción de las concentraciones de CK aprox. en un 40 % si se comparan con las de los perros mantenidos en ayunas antes del ejercicio.

Las concentraciones de AST en el suero son un 8-15 % menores en todas las muestras de momentos temporales antes y durante un solo día de ejercicio en los perros a los que se administra la fórmula del pienso del ensayo si se comparan con los perros en ayunas o con los perros que reciben el pienso de control. En las tandas de ejercicios de d-3, las concentraciones de AST siguen una respuesta similar a las concentraciones de CK, en las que el perro del grupo de tratamiento tiene concentraciones de AST que son un 32 % inferiores al finalizar el ejercicio de 2 h.

Oxidación de aminoácidos y ureagénesis:

Los aminoácidos derivados de la digestión de las proteínas de la dieta contribuyen a una acumulación intracelular de aminoácidos muy activa, que no puede expandirse. Los aminoácidos en exceso de las proteínas de la dieta y/o de la descomposición endógena de las proteínas aumentan esta acumulación de aminoácidos. Por consiguiente, los aminoácidos en exceso siguen 3 caminos distintos: 1º la síntesis de nuevas proteínas, 2º la oxidación para generar energía que conduce a la síntesis de urea para la eliminación del nitrógeno (ureagénesis) y/o 3º la conversión en otros compuestos (véase la revisión de Schutz, 2011). Existe relación según la cual cuanto mayores sean proteínas de la dieta y por tanto los aminoácidos en exceso que se oxidan, tanto mayor será la producción de urea.

Las concentraciones de urea en el suero en la tanda de ejercicio de 1 d son similares a las existentes antes del ejercicio, pero se convierten en elevadas con 60 min de ejercicio de los perros que se alimentan con las barras de suplemento preejercicio con respecto a los perros de control que se mantienen en ayunas. Los perros que se alimentan con el pienso de control tienen una concentración de urea un 10 % más elevada al final del ejercicio de 2 h si se comparan con los perros de control en ayunas, mientras que los perros que se alimentan con el pienso del ensayo tienen una concentración solamente un 6 % más alta. Esto indica que la proteína del pienso de control se oxida en mayor grado durante el ejercicio, lo cual es consistente con la elevación de la concentración de la 3MH observada en los perros que se alimentan con el pienso de control, por lo tanto tiene menos impacto en reducir el catabolismo de las proteínas con respecto al pienso del ensayo.

Después del acondicionamiento continuo con ejercicio durante 3 semanas con o sin suplemento preejercicio, seguido por una tanda de ejercicio de 3 d, las concentraciones medias de urea en el suero en el día d-3 son máximas en el grupo del pienso de control antes del ejercicio y durante el ejercicio. De modo específico, los perros que se alimentan con el pienso de control tienen una concentración de urea en el suero que es un 5 % más alta que la que tienen los perros del grupo del pienso de control o los perros de control en ayunas. Con un ejercicio de 60 min, la concentración de urea en los perros que se alimentan con el pienso de control es un 8 % y un 11 % más alta que la de los perros que se alimentan con el pienso de ensayo o la de los perros en ayunas. Por lo tanto, los perros que se alimentan con el pienso de control antes del ejercicio están metabolizando los aminoácidos en un nivel más elevado, pero debido a que los niveles de 3MH son también elevados, esto indica que la ingestión de la composición de proteínas del pienso de control no reduce el catabolismo de dichas proteínas durante el ejercicio.

Tabla 4

tiempo relativo al ejercicio (minutos)	grupos de tratamiento			
	grupo de control ayunas	de en	grupo de control con pienso	de con ensayo con pienso
3-metilhistidina en suero (µg/ml)				
tanda de ejercicio de 1 d				
-30	1,61 +/- 0,50		1,61 +/- 0,45	1,66 +/- 0,55
0	1,58 +/- 0,52		1,67 +/- 0,89	1,50 +/- 0,52
60	1,67 +/- 0,55		1,80 +/- 0,45	1,62 +/- 0,41
120	1,68 +/- 0,46		1,87 +/- 0,44	1,73 +/- 0,50
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d				
-30	1,84 +/- 0,53		1,73 +/- 0,55	1,57 +/- 0,42
0	1,80 +/- 0,52		1,66 +/- 0,50	1,51 +/- 0,38
60	1,79 +/- 0,50		1,78 +/- 0,54	1,57 +/- 0,39
120	1,86 +/- 0,55		1,75 +/- 0,53	1,72 +/- 0,40
concentración de creatina-quinasa en suero (U/l)				
tanda de ejercicio de 1 d				
-30	63 +/- 19		84 +/- 31	62 +/- 13
0	65 +/- 22		75 +/- 29	63 +/- 17
60	98 +/- 38		118 +/- 42	94 +/- 30
120	112 +/- 33		147 +/- 75	104 +/- 36
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d				
-30	74 +/- 21		81 +/- 25	76 +/- 10
0	80 +/- 27		85 +/- 31	81 +/- 13
60	111 +/- 39		115 +/- 37	107 +/- 15
concentración de asparagina-aminotransferasa en suero (U/l)				
tanda de ejercicio de 1 d				
-30	21 +/- 9		21 +/- 12	18 +/- 9
0	22 +/- 9		22 +/- 11	19 +/- 9
60	31 +/- 10		30 +/- 11	28 +/- 10
120	35 +/- 9		35 +/- 12	29 +/- 10
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d				
-30	23 +/- 7		23 +/- 4	22 +/- 5
0	23 +/- 7		23 +/- 6	23 +/- 6
60	32 +/- 11		29 +/- 6	29 +/- 7
120	34 +/- 12		23 +/- 5	23 +/- 6
concentración de urea en suero (mg/dl)				
tanda de ejercicio de 1 d				
-30	508 +/- 86		509 +/- 166	519 +/- 137
0	496 +/- 75		493 +/- 156	502 +/- 128
60	528 +/- 104		566 +/- 81	546 +/- 126
120	553 +/- 105		608 +/- 103	587 +/- 156
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d				
-30	478 +/- 65		500 +/- 181	505 +/- 132
0	495 +/- 61		508 +/- 123	518 +/- 124
60	474 +/- 60		529 +/- 113	513 +/- 137
120	479 +/- 73		547 +/- 132	551 +/- 166
concentración media (+/- SD) de la 3-metilhistidina, creatina-quinasa, asparagina-aminotransferasa y urea en el suero de cánidos en diferentes tiempos referidos al ejercicio para cada uno de los grupos de tratamiento				

- Rotura de células hepáticas: en este ensayo se evalúa la aparición de la alanina-aminotransferasa (ALT), que en gran parte es un biomarcador procedente del hígado, pero que en cantidades menores se encuentra también en los riñones, corazón, músculos y guarda relación con la rotura y la lesión celulares (Banfi y col., 2012). Los datos demuestran que la fórmula del pienso del ensayo comparada con una fórmula de control o con los perros de control en ayunas es superior por su capacidad de reducir la rotura de las células hepáticas, que se indica por el mantenimiento de concentraciones más bajas de ALT en el suero antes del inicio de una tanda única de ejercicio por lo menos en un 7 % y un 9 %, respectivamente. Después de 60 y 120 min de ejercicio, las concentraciones de ALT permanecen bajas en los perros que se alimentan con el pienso del ensayo, mientras que los perros que se alimentan con el pienso de control o están en ayunas tienen concentraciones un 11 y 11 % más elevadas, respectivamente (tabla 5). Con un acondicionamiento de ejercicio continuado durante 3 semanas con o sin suplemento preejercicio, seguido por una tanda de 3 d de ejercicio, las concentraciones de ALT en el suero antes del ejercicio son elevadas en todos los grupos. Sin embargo, los perros que se alimentan con el pienso del ensayo tienen una concentración ligeramente más baja de ALT (3-5 %) antes de iniciar el ejercicio. Los perros que se alimentan con el pienso del ensayo tienen una concentración 3,5 y 4,5 % menor después de 60 y 120 min de ejercicio, respectivamente, si se comparan con los perros que se alimentan con el pienso de control. La fórmula del pienso del ensayo proporciona una diferencia incluso mayor si se compara con los perros en ayunas, ya que la concentración de ALT es un 10 y un 12 % más baja después de 60 y 120 min de ejercicio, respectivamente.

Tabla 5

concentración de alanina-aminotransferasa en suero (U/l)	grupo de control en ayunas	grupo de control con pienso	grupo de ensayo con pienso
tanda de ejercicio de 1 d			
-30	48 +/- 34	48 +/- 19	44 +/- 16
0	47 +/- 34	53 +/- 33	44 +/- 16
60	52 +/- 36	52 +/- 21	46 +/- 16
120	52 +/- 37	52 +/- 21	46 +/- 16
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d			
-30	61 +/- 22	59 +/- 19	58 +/- 25
0	60 +/- 22	59 +/- 21	57 +/- 24
60	65 +/- 25	61 +/- 22	58 +/- 24
120	65 +/- 25	59 +/- 20	57 +/- 24
concentración media (+/- SD) de alanina-aminotransferasa en suero de cánidos en diferentes tiempos en relación con el ejercicio de cada uno de los grupos de tratamiento			

Oxidación de proteínas por compuestos nitrogenados reactivos: el óxido nítrico (NO) en exceso reacciona con un radical superóxido y produce el peroxinitrito estable y muy reactivo. Este último produce la nitración de los restos tirosina de las proteínas para formar la 3-nitrotirosina (3-NT) y de este modo altera las funciones biológicas de las proteínas (Crow y Beckman, 1995, 1996). A menos se ha pensado que la formación de la nitrotirosina viene acompañada de enfermedades inflamatorias agudas o crónicas, en las que el nivel de óxido nítrico es elevado (ver revisión de Cai y Yan, 2013). Además, la 3-NT obtiene su importancia por las manifestaciones patológicas, ya que provoca lesiones oxidantes en las bases del DNA (Murata y Kawanishi, 2004). Aparte de estos estados patológicos y de la inflamación, el ejercicio agotador provoca también un daño celular debido a una mayor producción de la 3-NT como consecuencia del estrés nitrosativo. En un estudio anterior realizado con sujetos humanos que realizaban ejercicios de una intensidad inusual se documenta un nivel elevado de 3-NT en el suero y en la orina y esto sugiere que la 3-NT podría actuar también como importante herramienta de diagnóstico para las lesiones de intensidades diversas inducidas por el ejercicio (Radak y col., 2003). La investigación más reciente del ejercicio realizada en la gente ha demostrado además que una mayor formación de 3NT guarda una relación significativa con un mayor deterioro del DNA (Sinha y col., 2010).

En el ensayo se evalúa la aparición de la 3-nitrotirosina (3NT) en el suero antes y durante el ejercicio. Los datos demuestran que la fórmula del pienso del ensayo comparada con una fórmula de control o con los animales de control en ayunas es superior por su capacidad de minimizar la formación de la 3-NT, como indica el mantenimiento de concentraciones más bajas de 3-NT en el suero antes del inicio del ejercicio aprox. un 24-36 % y un 37 % al final de una sola tanda de 2 h de ejercicio comparadas con las que presentan los perros que se alimentan con el pienso de control (tabla 6). Los perros alimentados con el pienso del ensayo tienen concentraciones de 3NT más bajas si se comparan con las de los perros de control en ayunas y demuestran tener las concentraciones más bajas de 3NT al término del ejercicio. Los perros que se alimentan con el pienso de control tienen la concentración más alta de 3NT incluso cuando se comparan con los perros de control en ayunas.

Con un acondicionamiento de ejercicio continuado durante 3 semanas con o sin suplemento preejercicio, seguido por una tanda de ejercicios de 3 d, las concentraciones de 3NT antes del ejercicio en el día d 3 son un 50-60 % más bajas en los perros que se alimentan con el pienso del ensayo. Después de un ejercicio de 60 min, la concentración

de 3NT en los perros de control en ayunas y en los perros que se alimentan con el pienso de control es un 39 y un 37 % más alta que en los perros alimentados con el pienso del ensayo. Al final del ejercicio, las concentraciones de 3NT siguen siendo un 29-35 % más altas que en los perros alimentados con el pienso del ensayo.

5 Tabla 6

3-nitrotirosina en suero (µg/ml)	grupo de control en ayunas	grupo de control con pienso	grupo de ensayo con pienso
tanda de ejercicio de 1 d			
-30	1,7 +/- 0,9	2,0 +/- 1,3	1,5 +/- 0,8
0	1,7 +/- 0,8	2,4 +/- 1,6	1,5 +/- 0,7
60	2,1 +/- 1,4	2,7 +/- 1,9	1,9 +/- 1,2
120	2,5 +/- 2,0	2,8 +/- 1,9	1,7 +/- 0,7
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d			
-30	1,2 +/- 1,1	1,6 +/- 2,0	0,6 +/- 0,2
0	1,3 +/- 1,0	1,4 +/- 1,3	0,9 +/- 0,4
60	3,7 +/- 2,2	3,6 +/- 1,5	2,2 +/- 0,9
120	2,8 +/- 1,8	3,0 +/- 1,5	2,0 +/- 0,8
concentración media (+/- SD) de 3-nitrotirosina en suero de cánidos en diferentes tiempos en relación con el ejercicio de cada uno de los grupos de tratamiento			

10 Mebaolitos celulares para tamponar el pH: la carnosina es un dipéptido de beta-alanina y histidina sintetizado de manera endógena y se encuentra en concentraciones elevadas en los músculos del aparato locomotor. Debido a que la carnosina es inerte a la hidrólisis enzimática intracelular y no contribuye a la proteogénesis, funciona como tampón intracelular estable, en especial en el intervalo de pH de ejercicio de gran intensidad. La síntesis de la carnosina es un grado limitado por la disponibilidad dietética de la beta-alanina. En los humanos se ha puesto de manifiesto que los niveles aumentados de carnosina, generados por suplementos de b-alanina, aumentan la capacidad de ejercicio y el rendimiento físico en varios tipos de ejercicios de gran intensidad (Harris y Stellingwerff, 2013). Otro beta-aminoácido que aporta beneficios para el ejercicio es la taurina, de la que se ha demostrado que facilita la regulación de la hidratación celular (Lang, 2011) y proporciona otras funciones fisiológicas que conllevan un apoyo antiinflamatorio y antioxidante (Ripps y Shen, 2012; Ra y col., 2013).

20 En esta prueba se evalúa la aparición de la carnosina y la beta-alanina en el suero antes y durante el ejercicio. Los datos demuestran que la fórmula del pienso del ensayo comparada con una fórmula de control o con los perros de control en ayunas es superior por su capacidad de mantener concentraciones de carnosina y b-alanina más altas en el suero a los 30 min después de la ingestión. Durante el ejercicio, las concentraciones de carnosina son similares en los perros que se alimentan con el pienso del ensayo o con el pienso de control y estas concentraciones son un 8,7 y un 7 % más altas que las existentes en los perros de control en ayunas después de 60 y 120 min de ejercicio, respectivamente (tabla 7). Los perros alimentados con el pienso del ensayo tienen la concentración más alta de b-alanina en el suero antes y durante el ejercicio si se comparan no solo con los perros de control en ayunas, sino también con los perros alimentados con un pienso de control.

30 Con un acondicionamiento de ejercicio continuado con o sin suplemento preejercicio durante 3 semanas, seguido por una tanda de ejercicios de 3 d, la concentración media de carnosina preejercicio en el día d-3 es por lo menos un 9 % más elevada en los perros alimentados con el pienso del ensayo. Después de 60 min de ejercicio, la concentración de carnosina es la más alta en los perros que se alimentan con el pienso del ensayo en un 7 y un 12 % con respecto a los perros alimentados con un pienso de control y con los perros en ayunas, respectivamente. A los 120 min después del ejercicio, los perros alimentados con los piensos preejercicio tienen una concentración de carnosina más elevada que los perros de control en ayunas.

Los perros alimentados con los piensos preejercicio tienen una concentración de b-alanina en el suero más alta que los perros de control en ayunas, lo mismo se diga durante el ejercicio.

40 En esta prueba se evalúa la concentración de taurina en el suero antes y durante el ejercicio. Los datos demuestran que la fórmula del pienso del ensayo comparada con la fórmula de control o con los perros de control en ayunas es superior por su capacidad de promover concentraciones de taurina en el suero por lo menos un 6 % más altas a los 30 min después de la ingestión en el inicio de la tanda única de ejercicios de 2 h.

45 Con el acondicionamiento de ejercicio continuado con o sin suplemento preejercicio durante 3 semanas, seguido por una tanda de ejercicios de 3 d, la concentración media de taurina prealimentación y preejercicio en el día d-3 es por lo menos mayor en un 6 % en los piensos que se alimentan con el pienso del ensayo que en los perros alimentados con el pienso de control y un 14 % más alta que en los perros de control en ayunas. A cabo de 30 min de la ingestión e inmediatamente antes de iniciar el ejercicio, la de concentración taurina es por lo menos un 7 % más alta en los perros alimentados con el pienso del ensayo. Después de 60 min de ejercicio, la concentración de taurina es más

alta en los perros alimentados con el pienso del ensayo en un 17 y 13 % con respecto a los perros que se alimentan con un pienso de control y a los perros en ayunas, respectivamente.

5 Tabla 7

carosina en suero ($\mu\text{g/ml}$)	grupo de control en ayunas	grupo de control con pienso	grupo de ensayo con pienso
tanda de ejercicio de 1 d			
-30	6,99 +/- 1,72	7,29 +/- 1,43	7,34 +/- 0,65
0	6,57 +/- 1,60	6,47 +/- 2,02	7,04 +/- 1,06
60	8,16 +/- 2,18	8,89 +/- 1,18	8,86 +/- 1,72
120	9,10 +/- 2,30	9,63 +/- 1,57	9,74 +/- 1,57
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d			
-30	6,40 +/- 1,41	6,81 +/- 1,62	7,15 +/- 0,77
0	6,31 +/- 1,31	6,54 +/- 0,82	6,80 +/- 0,55
60	7,27 +/- 1,88	7,61 +/- 1,40	8,12 +/- 1,15
120	7,60 +/- 1,79	8,75 +/- 1,25	8,76 +/- 1,18
beta-alanina en suero ($\mu\text{g/ml}$)			
tanda de ejercicio de 1 d			
-30	0,54 +/- 0,14	0,54 +/- 0,16	0,57 +/- 0,12
0	0,46 +/- 0,12	0,49 +/- 0,17	0,53 +/- 0,12
60	0,59 +/- 0,24	0,64 +/- 0,15	0,68 +/- 0,16
120	0,62 +/- 0,17	0,62 +/- 0,18	0,65 +/- 0,12
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d			
-30	0,79 +/- 0,17	0,92 +/- 0,20	0,90 +/- 0,10
0	0,59 +/- 0,16	0,64 +/- 0,26	0,63 +/- 0,21
60	0,88 +/- 0,18	0,98 +/- 0,19	0,97 +/- 0,18
120	0,95 +/- 0,22	1,05 +/- 0,24	0,98 +/- 0,21
taurina en suero ($\mu\text{g/ml}$)			
tanda de ejercicio de 1 d			
-30	23,8 +/- 4,8	25,3 +/- 8,6	26,1 +/- 5,8
0	24,1 +/- 4,9	25,9 +/- 11,7	27,5 +/- 7,2
60	19,3 +/- 6,1	20,8 +/- 4,7	20,1 +/- 8,5
120	17,7 +/- 3,7	19,6 +/- 7,9	18,7 +/- 7,1
día 3 de una tanda de ejercicio de 3 d			
-30	17,5 +/- 3,8	18,8 +/- 7,2	20,0 +/- 3,8
0	17,1 +/- 3,0	18,4 +/- 7,1	19,7 +/- 3,4
60	16,0 +/- 3,5	15,4 +/- 4,6	18,1 +/- 5,1
120	15,2 +/- 7,3	13,6 +/- 3,7	14,3 +/- 2,3
concentración media (+/- SD) de carosina, b-alanina y taurina en suero de cánidos en diferentes tiempos en relación con el ejercicio de cada uno de los grupos de tratamiento			

REIVINDICACIONES

1. Un suplemento preejercicio para cánidos que contiene:
 - 5 a. del 35 % al 60 % proteínas o aminoácidos, que contienen una o más proteínas estructurales, una o más proteínas biodisponibles y uno o más aminoácidos de cadena ramificada;
 - b. del 20 % al 38 % grasa, que contiene por lo menos una fuente de triglicéridos de cadena media; y
 - c. del 5 % al 25 % hidratos de carbono;
- 10 dicha proteína estructural incluye músculo de animal,
dicha proteína biodisponible se elige entre suero, aminoácidos parcialmente hidrolizados de soja e hidrolizados y cualquier combinación de los mismos,
dichos aminoácidos de cadena ramificada incluyen a la L-leucina,
dicho suplemento se formula para proporcionar al cánido una nutrición total comprendida entre 1,2 g/kg de peso
15 corporal y 2,0 g/kg de peso corporal.
2. El suplemento de la reivindicación 1, en el que el músculo es el músculo del corazón.
3. El suplemento de la reivindicación 1, en el que la fuente de triglicéridos de cadena media es el aceite de coco.
- 20 4. El suplemento de la reivindicación 1, en el que los hidratos de carbono contienen hidratos de carbonos complejos.
5. El suplemento de la reivindicación 1, que contiene corazón de ternera, harina de soja y proteínas de soja.
- 25 6. El suplemento de la reivindicación 5, que contiene aceite de coco y L-leucina.
7. Un método no terapéutico para mejorar el rendimiento deportivo (físico) de un cánido, que consiste en:
 - a. identificar un cánido que va a realizar ejercicio; y
 - 30 b. administrar al cánido un suplemento preejercicio en un cantidad efectiva, el suplemento preejercicio contiene (i) del 35 % al 60 % de proteínas o aminoácidos, que contienen una o más proteínas estructurales, una o más proteínas biodisponibles y uno o más aminoácidos de cadena ramificada; (ii) del 20 % al 38 % de grasa, que contiene por lo menos una fuente de triglicéridos de cadena media; y (iii) del 5 % al 25 % hidratos de carbono, dicho suplemento se formula para proporcionar al cánido una nutrición total comprendida entre 1,2
35 g/kg de peso corporal y 2,0 g/kg de peso corporal,
- dicha proteína estructural del suplemento incluye músculo de animal,
dicha proteína biodisponible del suplemento se elige entre suero, aminoácidos parcialmente hidrolizados de soja e hidrolizados y cualquier combinación de los mismos,
40 dichos aminoácidos de cadena ramificada del suplemento incluyen a la L-leucina,
dicho suplemento se administra al cánido aprox. entre los cero minutos y los 60 minutos antes del ejercicio.
8. El método no terapéutico de la reivindicación 7, en el que el suplemento se administra al cánido aprox. entre los
45 cero minutos y los 30 minutos antes del ejercicio.
9. El método no terapéutico de la reivindicación 7, en el que el músculo es el músculo del corazón.
10. El método no terapéutico de la reivindicación 7, en el que la fuente de triglicéridos de cadena media del suplemento es el aceite de coco.
- 50 11. El método no terapéutico de la reivindicación 7, en el que los hidratos de carbono del suplemento contienen hidratos de carbonos complejos.
12. El método no terapéutico de la reivindicación 7, en el que la administración del suplemento no produce un aumento sustancial de la insulina en la sangre.
- 55 13. El método no terapéutico de la reivindicación 7, en el que, con respecto a los animales de control que no reciben el suplemento, el nivel de los aminoácidos de cadena ramificada en la sangre aumenta en el intervalo de tiempo comprendido entre los 30 y los 60 minutos después de que el animal haya ingerido el suplemento.
- 60 14. El método no terapéutico de la reivindicación 7, en el que el suplemento contiene leucina y, con respecto a los animales de control que no reciben el suplemento, el nivel de leucina en la sangre aumenta en el intervalo de tiempo comprendido entre los 30 y los 60 minutos después de que el animal haya ingerido el suplemento.

- 5 15. El método no terapéutico de la reivindicación 7, en el que la cantidad efectiva proporciona por lo menos uno de los efectos siguientes: (1) mayor concentración de leucina en la sangre en los 30 minutos que siguen a la administración; (2) secreción de insulina no superior a un aumento del 5 % después de la administración; (3) reducción del catabolismo de proteínas inducido por la actividad; (4) producción reducida de productos de oxidación de proteínas; (5) aumento o agotamiento reducido de los agentes endógenos que tamponan el pH, incluidas la beta-alanina y la carnosina; y (6) menor fatiga o reducción del dolor.