

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 643 823**

51 Int. Cl.:

A61K 31/716 (2006.01)
A23K 20/163 (2006.01)
A23K 50/40 (2006.01)
A61K 31/7004 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2009 E 09172172 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2017 EP 2218337**

54 Título: **Simulación de los efectos metabólicos de restricción calórica por administración de anti-metabolitos de glucosa**

30 Prioridad:

13.02.2009 US 371101

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.11.2017

73 Titular/es:

**IAMS EUROPE B.V. (100.0%)
Vosmatenweg 4
7742 PB Coevorden, NL**

72 Inventor/es:

**PITHA, JOSEPH;
ROTH, GEORGE S.;
HAYEK, MICHAEL GRIFFIN;
MASSIMINO, STEFAN PATRICK;
CEDDIA, MICHAEL ANTHONY;
DAVENPORT, GARY MITCHELL y
BURR, JOHN RUSSELL**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 643 823 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

Simulación de los efectos metabólicos de restricción calórica por administración de anti-metabolitos de glucosa

Campo de la invención.

5 La presente invención se refiere al uso de anti-metabolitos de glucosa para alterar la utilización de glucosa o de otras fuentes de carbohidratos y para simular efectos metabólicos de restricción calórica con el propósito de mantener y/o atenuar una disminución de la salud, la actividad funcional y/o biomarcadores de longevidad en un mamífero. La presente invención se refiere además al uso de anti-metabolitos de glucosa para simular efectos de restricción calórica con el propósito de mantener y/o atenuar una disminución en la calidad de vida de un mamífero. En la presente descripción se revelan composiciones que comprenden un componente de carbohidrato seleccionado, o extracto de material vegetal seleccionado entre aguacate, alfalfa, higo, prímula y mezclas de los mismos.

Fundamento de la invención.

15 Hay teorías biológicas que han predicho correctamente la conclusión de que una restricción de la ingesta calórica por la privación de alimentos ralentiza ciertos procesos celulares indeseables en animales de laboratorio, muchos de los cuales están asociados con el envejecimiento y las enfermedades relacionadas con la edad.

En particular, se ha demostrado que la restricción calórica prolonga de forma consistente la duración de la vida, demora el comienzo y la progresión lenta de tumores, y retarda el envejecimiento fisiológico en muchos sistemas. De hecho, la investigación que abarca más de sesenta años ha demostrado que la restricción calórica es una intervención nutricional que prolonga de forma consistente la longevidad en animales. Véase Weindruch y Walford, "The Retardation of Ageing and Disease by Dietary Restriction", Springfield, IL: Charles C. Thomas (1988); Yu, "Modulation of Ageing Processes by Dietary Restriction", Boca Raton: CRC Press (1994); y Fishbein, "Biological Effects of Dietary Restriction", Springer, Nueva York (1991). Estos efectos de la restricción calórica sobre la duración de vida y la tumorigénesis han sido publicados muchas veces desde los primeros estudios de McKay. Véase McKay et al., "The Effect of Retarded Growth upon the Length of Lifespan and Upon Ultimate Body Size", J. Nutr., Vol. 10, págs. 63 - 79 (1935). De hecho, en las dos décadas pasadas, un resurgimiento del interés por la restricción calórica en la gerontología ha dado lugar a la aceptación general de que esta manipulación dietética retarda el envejecimiento fisiológico en muchos sistemas. Véanse Weindruch y Walford, "The Retardation of Ageing and Disease by Dietary Restriction", Springfield, IL: Charles C. Thomas (1988); Yu, "Modulation of Ageing Processes by Dietary Restriction", Boca Raton: CRC Press (1994); y Fishbein, "Biological Effects of Dietary Restriction", Springer, Nueva York (1991) y Masoro, E. J. "Overview of Caloric Restriction and Ageing", Mech. Ageing Dev., Vol. 126, págs. 913 - 922 (2005).

Las reducciones en la glucosa en ayunas y los niveles de insulina y mejoras en la sensibilidad a la insulina son biomarcadores de la restricción calórica fáciles de medir. Los roedores sometidos a restricción calórica presentan menores niveles de glucosa ayunas e insulina, y los niveles máximos de glucosa e insulina alcanzados durante un de glucosa se reducen en los de restricción calórica. Véase Kalant et al., "Effect of Diet Restriction on Glucose Metabolism and Insulin Responsiveness and Ageing Rats", Mech. Ageing Dev., Vol. 46, págs. 89 - 104 (1988). También se sabe que la hiperinsulinemia es un factor de riesgo asociado con varios de estos procesos patológicos, incluyendo enfermedades del corazón y diabetes (Balkau y Eschwege, Diabetes Obes, Metab. 1 (Suppl.1): S23 - 31, 1999). La disminución de los niveles de insulina y de la temperatura corporal son dos de los indicadores más fiables de la alteración de este perfil metabólico (Masoro et al., J. Gerontol. Biol. Sci. 47: B202 - B208, 1992); Koizumi et al., J. Nutr. 117: 361 - 367, 1987; Lane et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 93: 4154 - 4164, 1996).

La manoheptulosa como anti-metabolito de la glucosa está relacionada con la glucosa. Sin embargo, debido a las diferencias estructurales con la glucosa, tales anti-metabolitos de la glucosa bloquean o inhiben ciertos aspectos del metabolismo de los carbohidratos y por tanto pueden simular los efectos de la restricción calórica (Rezek et al., J. Nutr., 106: 143 - 157, 1972). Estos anti-metabolitos ejercen varios efectos fisiológicos, incluyendo la reducción del peso corporal, la disminución de los niveles de insulina en plasma, la disminución de la temperatura corporal, el retraso en la formación y crecimiento de tumores, y el aumento de las concentraciones de hormona glucocorticoide circulante (para una revisión, véase Roth et al., Ann. NY Acad. Sci. 928: 305 - 315, 2001). Estos efectos fisiológicos resultan de la inhibición del metabolismo de los carbohidratos.

50 En cuanto tal, el uso de antimetabolitos de glucosa como componentes para mantener y/o atenuar una disminución en la salud, la actividad funcional y/o los biomarcadores de longevidad en mamíferos, por ejemplo disminuyendo las anomalías del metabolismo de la glucosa, sería beneficioso. Sería beneficioso proporcionar anti-metabolitos de glucosa que tengan efectos fisiológicos sobre los procesos celulares asociados con el envejecimiento y enfermedades relacionadas con la edad. Sería beneficioso proporcionar anti-metabolitos de glucosa que tengan efectos fisiológicos sobre los procesos celulares asociados con el envejecimiento y enfermedades relacionadas con la edad. Sería beneficioso proporcionar anti-metabolitos de la glucosa que tengan efectos fisiológicos sobre los procesos celulares asociados con el envejecimiento y con enfermedades relacionadas con la edad, en donde los efectos fisiológicos mantienen y/o atenúan la disminución de la calidad de vida de un mamífero. Sería beneficioso

5 proporcionar componentes para mantener y/o atenuar una disminución en la calidad de vida de un mamífero, tal como, pero sin limitarse a ello, mantener y/o atenuar una disminución en la composición corporal total y mantener y/o atenuar la disminución de la movilidad funcional de un mamífero. Sería beneficioso proporcionar composiciones que comprendan tales componentes de anti-metabolito de la glucosa. Sería beneficioso proporcionar composiciones que comprendan componentes de anti-metabolito de la glucosa que puedan mantener y/o atenuar una disminución en la calidad de vida de un mamífero.

El documento WO 2005/110037 A2 se refiere a composiciones de alimento para mascotas que comprenden un componente elegido entre 2-desoxi-D-glucosa, 5-tio-D-glucosa, 3-O-metilglucosa, 1,5-anhidro-D-glucitol, 2,5-anhidro-D-manitol, manoheptulosa, y mezclas de los mismos.

10 El documento WO 2008/093302 A2 se refiere a un método para hacer disminuir la inflamación y el estrés oxidativo en un mamífero, que comprende: administración a un mamífero de una composición que comprende un anti-metabolito de la glucosa; y en donde dicha composición comprende cantidades del anti-metabolito de la glucosa suficientes para reducir el nivel de una glutatona oxidada y/o atenuar la relación de glutatona reducida o glutatona oxidada en la sangre del mamífero subsiguiente a la administración del anti-metabolito de la glucosa.

15 El documento US 2002/035071 A1 se refiere a un método para obtener resultados biológicos asociados con la restricción calórica ganada por administración de una composición que contiene al menos un agente activo que bloquea el metabolismo de la glucosa como fuente de energía de las células en cantidades efectivas para bloquear el metabolismo de la glucosa, a un animal en necesidad de la misma.

Compendio de la invención.

20 La presente invención se refiere al uso no terapéutico como se define en la reivindicación 1^a. Se describe el uso de manoheptulosa para la elaboración de una composición para mantener y/o atenuar una disminución de la calidad de vida de un mamífero, en donde dicha composición proporciona una dosificación de manoheptulosa a dicho mamífero sobre una base diaria de aproximadamente 0,001 gramos por kilogramo de peso corporal del mamífero a aproximadamente 1 gramo por kilogramo de peso corporal del mamífero.

25 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende manoheptulosa para su uso en un método para el tratamiento como se define en la reivindicación 3^a. Se describe una composición que comprende manoheptulosa para mantener y/o atenuar la disminución de la calidad de vida de un mamífero, en donde dicha manoheptulosa se proporciona en una dosificación a dicho mamífero sobre una base diaria de aproximadamente 0,001 gramos por kilogramo de peso corporal de dicho mamífero a aproximadamente 1 gramo por kilogramo de peso corporal de dicho mamífero.

Breve descripción de los dibujos.

La Figura 1 es una representación gráfica de concentraciones en serie de manoheptulosa en plasma en perros Labrador Retrievers adultos alimentados con una única comida de una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 0, 1 ó 2 mg/kg de peso corporal del perro.

35 La Figura 2 es una representación gráfica de concentraciones en serie de manoheptulosa en plasma en perros Labrador Retrievers adultos que han recibido dos comidas iguales de una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 2 mg/kg de peso corporal del perro.

40 La Figura 3 es una representación gráfica del promedio anual de la masa corporal magra de perros más viejos a lo largo de un período de 4 años de alimentación con una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 0 o 2 mg/kg de peso corporal del perro.

La Figura 4 es una representación gráfica del promedio anual de la densidad mineral ósea de perros de mayor edad en un período de 4 años de alimentación con una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 0 a 2 mg/kg de peso corporal del perro.

45 La Figura 5 es una representación gráfica del promedio anual del contenido mineral óseo de perros más viejos en un período de 4 años de alimentación con una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 0 ó 2 mg/kg de peso corporal del perro.

50 La Figura 6 es una representación gráfica del promedio de la fuerza muscular, expresado como potencia muscular, de perros más viejos durante los meses 19 a 46 de un período de 4 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que contienen manoheptulosa a una dosis de 0 o 2 mg/kg de peso corporal del perro. La fuerza muscular inicial se toma en el mes 22 del estudio.

La Figura 7 es una representación gráfica del porcentaje de perros más viejos que salta con éxito más de varias alturas relativas a la altura individual de sus hombros a lo largo de un año de un periodo de 4 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que contienen manoheptulosa a una dosis 0 o 2 mg/kg de peso corporal del perro. La capacidad de salto se establece durante 4 trimestres consecutivos comenzando en el mes 37.

- 5 La Figura 8 es una representación gráfica del porcentaje de perros más viejos que salta con éxito en las plataformas de mesa de varias alturas relativas a la altura de los hombros a lo largo de un año de un período de 4 años de alimentación con composiciones equilibradas nutricionalmente que contienen manoheptulosa a una dosis de 0 o 2 mg/kg de peso corporal del perro. La capacidad de salto se establece durante 4 trimestres consecutivos comenzando en el mes 37.
- La Figura 9 es una representación gráfica del promedio anual de la masa corporal magra de perros más jóvenes a lo largo de un período de 3 años de alimentación con una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 0 o 2 mg/kg de peso corporal del perro.
- 10 La Figura 10 es una representación gráfica del promedio anual de la densidad mineral ósea de perros más jóvenes a lo largo de un período de 3 años de alimentación con una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 0 o 2 mg/kg de peso corporal del perro.
- La Figura 11 es una representación gráfica del promedio anual del contenido mineral óseo de perros más jóvenes durante un período de 3 años de alimentación con una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 0 o 2 mg/kg de peso corporal del perro.
- 15 La Figura 12 es una representación gráfica del promedio de la fuerza muscular, expresado como potencia muscular, de perros más jóvenes durante los meses 6 a 32 de un período de 3 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que contienen manoheptulosa a una dosis de 0 o 2 mg/kg de peso corporal del perro. La fuerza muscular inicial se toma en el mes 8 del estudio.
- 20 La Figura 13 es una representación gráfica del porcentaje de perros más jóvenes que saltan con éxito a varias alturas relativas a la altura individual del hombro durante un año de un período de 3 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que contienen manoheptulosa a una dosis de 0 ó 2 mg/kg de peso corporal del perro. La capacidad de salto se establece durante 4 trimestres consecutivos a partir del mes 8.
- 25 La Figura 14 es una representación gráfica del porcentaje de perros más jóvenes que saltan con éxito sobre plataformas de mesa de varias alturas relativas a la altura individual del hombro durante un año de un período de 3 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que contienen manoheptulosa a una dosis de 0 ó 2 mg/kg de peso corporal del perro. La capacidad de salto se evalúa durante 4 trimestres consecutivos comenzando en el mes 8.
- La Figura 15 es una vista lateral derecha del esqueleto de un perro.

Descripcion detallada de la invención.

- 30 Todos los porcentajes y relaciones se calculan en peso a menos que se indique otra cosa. Todos los porcentajes y relaciones se calculan basándose en la composición total a menos que se indique otra cosa.
- Las composiciones del presente texto pueden comprender, consisten esencialmente en, o consisten en cualquiera de las características o realizaciones que se describen en el presente texto.
- 35 Se describen en el presente texto composiciones que comprenden manoheptulosa y el uso de manoheptulosa para la elaboración de una composición para el mantenimiento y/o atenuación de una disminución de la calidad de vida de un mamífero. Sin ánimo de limitarse por la teoría, se cree que la manoheptulosa es un anti-metabolito de la glucosa. Véase por ejemplo la solicitud de patente de EE. UU. nº 2002/0035701.
- 40 La presente invención se dirige al uso de tales composiciones para mantener y/o atenuar la disminución de la calidad de vida de un mamífero tal como un animal de compañía. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la calidad de vida de un mamífero incluye, pero no se limita a ello, mantener y/o atenuar la disminución de la composición corporal total y mantener y/o atenuar la disminución de la movilidad funcional de un mamífero. El mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la composición corporal total de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la salud musculoesquelética del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud musculoesquelética de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en la salud muscular y/o la salud de esquelética del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución en la salud muscular y/o de la fuerza muscular del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud esquelética de un mamífero es el mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la densidad mineral ósea y/o del contenido mineral óseo del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la
- 45 atenuación de la disminución de la movilidad funcional de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en las actividades de la vida diaria del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de las actividades de la vida diaria es el mantenimiento y/o atenuación de la disminución de actividades tales como, pero sin limitarse a ellas, jugar, andar, escalar, saltar y correr. En otra realización, el mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud musculoesquelética se elige entre el grupo que consiste en el mantenimiento y/o atenuación de la
- 50

disminución de la fuerza muscular de dicho mamífero, el mantenimiento y/o atenuación de la disminución del poder de tracción o arrastre de dicho mamífero, y combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en la actividad de salto de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la capacidad de salto de obstáculos y/o sobre superficies.

5 La presente invención se refiere al uso de manohéptulosa para alterar la utilización de glucosa u otras fuentes de carbohidratos y para simular los efectos metabólicos de la restricción calórica. Sin ánimo de limitarse por la teoría, el uso actual de componentes de manohéptulosa para alterar el metabolismo de la glucosa sirve para reducir la tasa metabólica a través de la inhibición de la glucosa como fuente de energía a nivel celular. El uso juicioso de componentes que bloquean el metabolismo normal de la glucosa celular puede dar como resultado cambios en la función fisiológica que son similares a los que surgen de la restricción calórica. Se ha demostrado de forma consistente que la restricción calórica prolonga la longevidad en los animales. Véanse Weindruch y Walford, "The Retardation of Ageing and Disease by Dietary Restriction", Springfield, IL: Charles C. Thomas (1988); Yu, "Modulation of Ageing Processes by Dietary Restriction", Boca Raton: CRC Press (1994); y Fishbein, "Biological Effects of Dietary Restriction", Springer, Nueva York (1991).

15 Como se usa en el presente texto, el "mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud, de la actividad funcional y de los biomarcadores de longevidad", con referencia a un mamífero, incluye medidas tanto cualitativas como cuantitativas, tales como, por ejemplo, prolongar la vida del mamífero, retrasar el proceso de envejecimiento fisiológico, reducir la incidencia de la enfermedad, mantener la vitalidad, y combinaciones de las mismas.

20 En una realización, la invención se refiere a un método para el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la calidad de vida de un mamífero. La capacidad de la invención para el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en la calidad de vida puede demostrarse, pero sin limitarse a ello, por el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en la composición corporal total, mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la movilidad funcional de un mamífero, y sus combinaciones. El mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la composición corporal total de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la salud musculoesquelética del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud musculoesquelética de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la salud muscular y/o la salud esquelética del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud muscular de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la masa corporal magra y/o de la fuerza muscular del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud musculoesquelética se elige entre el grupo consistente en mantener y/o atenuar la disminución de la fuerza muscular de dicho mamífero, mantener y/o atenuar la disminución de la potencia de tracción de dicho mamífero, y sus combinaciones. Se cree que el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la masa corporal magra y/o de la fuerza muscular proporcionan el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la funcionalidad muscular tal como, pero sin limitarse a ellas, la potencia y la flexibilidad. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud esquelética de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la densidad mineral ósea y/o del contenido mineral óseo del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la movilidad funcional de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en las actividades de la vida diaria del mamífero. El mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en las actividades de la vida diaria es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de actividades tales como, pero sin limitarse a ellas, jugar, andar, escalar, saltar y correr. Por ejemplo, el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en la actividad de salto de un mamífero es el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en la capacidad de saltar sobre obstáculos y/o en superficies. El mantenimiento y/o atenuación en la disminución de la composición corporal y la movilidad funcional permiten al mamífero mantener niveles normales de actividad voluntaria a pesar del avance en la edad. Es ampliamente aceptado por los expertos en la técnica que la movilidad, la locomoción, el movimiento y/o la actividad de un mamífero requieren un sistema musculoesquelético sano y funcional compuesto por huesos (esqueleto), músculos y diversos tejidos conjuntivos y estructuras tales como cartílago, tendones, ligamentos y articulaciones. La invención puede mantener y/o atenuar la disminución de las medidas de locomoción, movilidad y/o actividad tales como, sin limitarse a ellas, la marcha, la velocidad, la simetría, la tasa de velocidad, la distancia recorrida, los episodios de movimiento, el aguante y la resistencia. Estos pueden tener como resultado el mantenimiento y/o atenuación de la disminución en las actividades de la vida diaria, tales como jugar, andar, correr, saltar, escalar, subir escaleras, bajar escaleras, ponerse de pie, acostarse, dormir y compañía social. Pueden extenderse beneficios adicionales a los mamíferos de rendimiento que están implicados en mayores niveles de actividad física y/o deportes tales como, pero sin limitarse a ellos, la caza, la carrera corta, correr, arrastrar, trineo, recuperación y agilidad. La capacidad de mantenimiento y/o atenuación de la disminución en estas actividades regulares y de rendimiento con la edad avanzada conducen al mantenimiento y/o atenuación de la disminución en la calidad de vida del mamífero. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución en la calidad de vida de un mamífero también puede incluir una reducción de la grasa corporal, la adiposidad y/o el control de la obesidad.

60 En una realización, la invención puede mantener y/o atenuar la disminución del sistema inmunitario del mamífero. La inmunidad se divide en inmunidad natural y adaptativa. La rama adaptativa del sistema inmunitario está representada por la inmunidad celular y la humoral y se define por respuestas mejoradas de las células T y B. Estas respuestas se miden mediante ensayos tales como, pero sin limitarse a ellos, la respuesta linfoproliferativa de

- 5 timidina tritiada, la alteración del porcentaje relativo y absoluto de las poblaciones de glóbulos blancos medidas por inmunofluorescencia, los cambios del perfil de citoquinas Th1 y Th2 medidas mediante ensayos comercialmente disponibles, la respuesta de producción del título de anticuerpo a la vacuna y otros antígenos, disminución de la producción de eicosanoides y tromboxanos de las series 2 y 4 y aumento de la producción de eicosanoides y tromboxanos de las series 3 y 5 medidos mediante kits disponibles comercialmente. La evaluación de la rama natural o innata del sistema inmunitario se basa en el aumento de la respuesta citotóxica de las células asesinas naturales, medida mediante el ensayo de liberación de Cr-51.
- 10 En una realización, la invención puede mantener y/o atenuar la disminución en la salud, actividad funcional y/o biomarcadores de la longevidad reduciendo la incidencia de enfermedades que incluyen, sin limitarse a ellas, obesidad, diabetes, enfermedad tiroidea, cardiopatía, síndrome metabólico, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, ictus y cáncer. La incidencia de estas enfermedades puede reducirse por la facultad de la presente invención de manejar el estrés oxidativo y la inflamación. El mantenimiento y/o atenuación de la disminución de la salud del mamífero puede reflejarse en los biomarcadores de longevidad tales como temperatura corporal, insulina, sensibilidad a la insulina, chequeo médico realizado por un médico internista usando métodos estándar tales como exámenes físicos, análisis de sangre, recuentos sanguíneos completos, radiografías, resonancia y TAC, pueden mostrar los beneficios de la presente invención sobre el éxito en el envejecimiento y la calidad de vida del mamífero.
- 15 Los beneficios adicionales de calidad de vida incluyen, pero sin limitarse a ellos, la interacción del individuo con su entorno tal como comportamiento, temperamento, compañerismo, bienestar social, respuesta al estrés, cognición y habilidades sensoriales incluyendo visión, audición, olfato, gusto, tacto y saciedad. Los beneficios adicionales de calidad de vida incluyen, y no se limitan a ellos, una mejor apariencia física tal como el físico, estatura, condición corporal, condición de la piel, condición del cabello y un vínculo social más deseable, como el vínculo entre un ser humano y un animal de compañía. Los beneficios adicionales de calidad de vida pueden reflejarse en varios índices calculados de salud, bienestar, movilidad, actividad, vitalidad, fragilidad, vida funcional, ciclo sano y longevidad activa.
- 20 La capacidad de la invención para el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la calidad de vida puede estar ligada a la presencia de componentes anti-metabolito de glucosa en diversos fluidos y tejidos biológicos después de la administración de las composiciones de la invención al mamífero. Estos fluidos biológicos incluyen, pero no se limitan a ellos, heces, orina, sangre, saliva, transpiración, fluido espinal, líquido sinovial, leche. Los tejidos biológicos incluyen, pero no se limitan a ellos, hígado, músculo, tejido adiposo, riñón, tejido gastrointestinal, bucal, nasal, piel, cabello y/o las células derivadas de estos tejidos.
- 25 Los mamíferos tratados en el presente texto incluyen vertebrados e invertebrados tales como, por ejemplo, insectos (por ejemplo, la mosca de la fruta) y/o nemátodos (por ejemplo, *Caenorhabditis elegans*). Los seres humanos y los animales de compañía se tratan ventajosamente en el presente texto. Como se usa en el presente texto, "animal de compañía" significa un animal doméstico. Preferiblemente, "animal de compañía" significa un perro, gato, conejo, hurón, caballo, vaca o similar. Más preferiblemente, "animal de compañía" significa un perro o un gato.
- 30 El componente anti-metabolito de la glucosa que se usa de acuerdo con la presente invención es manoheptulosa. Ventajosamente, la manoheptulosa puede estar presente en las composiciones mencionadas como un componente de materia vegetal tal como un extracto de aguacate, harina de aguacate u otra fuente enriquecida de manoheptulosa. Ejemplos no limitantes de fuentes enriquecidas de mannoheptulosa son alfalfa, higo o prímula. La materia vegetal puede incluir el fruto, la semilla (o hueso), las ramas, las hojas o cualquier otra porción relevante de la planta o combinaciones de las mismas.
- 35 El aguacate (también conocido comúnmente como pera del cocodrilo, aguacate, o palta) contiene fuentes inusualmente enriquecidas de manoheptulosa, así como azúcares relacionados y otros carbohidratos. El aguacate es un fruto de árbol subtropical de hoja perenne, que crece con todo éxito en áreas de California, Florida, Hawai, Guatemala, México, las Indias Occidentales, Sudáfrica y Asia.
- 40 Las especies de aguacate incluyen, por ejemplo, *Persea Americana* y *Persea nubigena*, incluyendo todos los cultivares dentro de estas especies ilustrativas. Los cultivares pueden incluir "Anaheim", "Bacon", "Creamhart", "Duke", "Fuerte", "Ganter", "Gwen", "Hass", "Jim", "Lula", "Lyon", "Mexicola Grande", "Murrieta Green", "Nabal", "Pinkerton", "Queen", "Puebla", "Reed", "Rincón", "Ryan", "Spinks", "Topa Topa", "Whitsell", "Wurtz", y "Zutano". El fruto del aguacate es particularmente preferido para su uso en la presente invención, que puede contener el hueso o en el que el hueso se elimina o al menos se elimina parcialmente. Los frutos de *Persea Americana* son particularmente preferidos para su uso en la presente invención, así como los frutos de cultivares que producen frutos más grandes (por ejemplo, aproximadamente 12 onzas o más cuando la fruta está madura), tales como Anaheim, Creamhart, Fuerte, Hass, Lula, Lyon, Murrieta Green, Nabal, Reina, Puebla, Reed, Ryan y Spinks.
- 45 También se ha publicado que la materia vegetal procedente de la alfalfa, la higuera o la prímula proporciona niveles de manoheptulosa relativamente altos. La alfalfa se conoce también como *Medicago sativa*. También puede utilizarse higo, o *Ficus carica* (incluyendo higo racemosa o higo sicómoro, por ejemplo), así como prímula o *Primula officinalis*.

Se ha descubierto que niveles particulares de manoheptulosa son útiles aquí. En particular, se ha encontrado que niveles relativamente bajos, así como dosis relativamente altas del componente, aunque útiles, pueden proporcionar una eficacia menor que la óptima para los propósitos deseados. La dosificación dependerá del componente anti-metabolito de la glucosa usado y variará dependiendo del tamaño y la condición del mamífero al que se va a administrar el anti-metabolito de la glucosa. En una realización, la dosificación del componente proporcionado a un mamífero sobre una base diaria puede ser de aproximadamente 1, 2 o 5 mg/kg a aproximadamente 15, 20, 50, 100, 150 o 200 mg/kg, en donde "mg" se refiere al nivel del componente y "kg" se refiere a kilogramos de peso corporal del mamífero. En una realización, la dosificación al mamífero, sobre una base diaria, puede ser de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 15 mg/kg, de aproximadamente 2 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg, o de aproximadamente 2 mg/kg a aproximadamente 5 mg/kg. En ciertas realizaciones, esto puede traducirse a composiciones que comprenden menos de aproximadamente 5%, o menos de aproximadamente 2%, o de aproximadamente 0,0001% a aproximadamente 0,5% del componente, todo en peso de la composición. El nivel de componente puede ser determinado por un experto en la técnica basándose en una diversidad de factores como, por ejemplo, la forma de la composición (por ejemplo, si es una composición seca, una composición semi-húmeda, una composición húmeda o un suplemento, o cualquier otra forma o mezcla de las mismas). El experto en la materia será capaz de utilizar la dosificación preferida y determinar el nivel óptimo de componente dentro de una composición dada.

Del mismo modo, cuando se utiliza un extracto o harina de materia vegetal en las composiciones de la presente invención, los niveles óptimos de extracto o harina pueden depender del nivel de componente eficaz dentro de dicho extracto o harina. Se han encontrado extractos y/o harinas óptimos que comprenden de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 99% del componente anti-metabolito de la glucosa, alternativamente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 75% del componente anti-metabolito de la glucosa, alternativamente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 50% del componente anti-metabolito de la glucosa, alternativamente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 25% del componente anti-metabolito de la glucosa, todo en peso del extracto o harina. En la presente invención se han encontrado extractos y/o harinas óptimos en los que el componente antimetabolito de la glucosa puede ser de aproximadamente 0,5, 1, 2, 5 o 10% a aproximadamente 15, 25, 50 o 75% en peso del extracto y/o harina.

La presente invención se dirige a una composición destinada a la ingestión por un mamífero. Las composiciones incluyen alimentos destinados a suministrar las necesidades dietéticas necesarias, así como golosinas (por ejemplo, bizcochos) u otros suplementos alimenticios. Opcionalmente, la composición de la presente invención puede ser una composición seca (por ejemplo, una croqueta), una composición semi-húmeda, una composición húmeda o cualquier mezcla de las mismas. Alternativamente o adicionalmente, la composición es un suplemento, tal como una salsa, agua potable, yogur, polvo, suspensión, artículo para masticar, golosina (por ejemplo, galletas) o cualquier otra forma de suministro.

Además, en una realización la composición está nutricionalmente equilibrada. Tal como se utiliza en el presente texto, la expresión "nutricionalmente equilibrada", con referencia a la composición, significa que la composición tiene nutrientes conocidos requeridos para mantener la vida en cantidades y proporciones adecuadas basadas en recomendaciones de autoridades reconocidas en el campo de la nutrición.

Las composiciones utilizadas en la presente invención pueden comprender opcionalmente uno o más componentes adicionales. Otros componentes son beneficiosos para ser incluidos en las composiciones usadas en la presente invención, pero son opcionales para los propósitos de la invención. En una realización, las composiciones pueden comprender, sobre una base de materia seca, de aproximadamente 10% a aproximadamente 90% de proteína cruda, alternativamente de aproximadamente 20% a aproximadamente 50% de proteína cruda, alternativamente de aproximadamente 20% a aproximadamente 40% de proteína cruda, en peso de la composición, o alternativamente de aproximadamente 20% a aproximadamente 35% de proteína cruda, en peso de la composición. El material de proteína cruda puede comprender proteínas basadas en vegetales tales como soja, cereales (maíz, trigo, etc.), semillas de algodón, y cacahuete, o proteínas animales tales como caseína, albúmina y proteína de carne. Entre los ejemplos no limitantes de proteína de carne útiles en la presente invención se incluye una fuente de proteína seleccionada entre el grupo que consiste en carne de buey, cerdo, cordero, aves de corral, pescado y mezclas de los mismos.

Además, las composiciones pueden comprender, sobre una base de materia seca, de aproximadamente 5% a aproximadamente 40% de grasa, alternativamente de aproximadamente 10% a aproximadamente 35% de grasa, en peso de la composición

Las composiciones de la presente invención pueden comprender además una fuente de hidratos de carbono. Son fuentes ilustrativas los granos o cereales tales como arroz, maíz, milo, sorgo, cebada, trigo y similares.

Las composiciones pueden contener también otros materiales tales como, pero sin limitarse a ellos, suero seco y otros subproductos lácteos, pulpa de remolacha, celulosa, fibra, aceite de pescado, lino, vitaminas, minerales, saborizantes, antioxidantes y taurina.

Las siguientes ilustraciones no limitantes ejemplifican los diversos anti-metabolitos de la glucosa de la presente invención:

Disminución de la utilización de glucosa como fuente de energía por cetosas:

5 La manoheptulosa está presente en cantidades razonables en algunos alimentos (p. ej., los aguacates pueden contener hasta un 5% de manoheptulosa, en peso húmedo) y pueden clasificarse como sustancia "generalmente reconocida como segura" para el consumo humano. En los estudios de metabolismo, las dosis de 10 gramos de manoheptulosa se administraron de forma segura a seres humanos por vía oral. Alrededor del 5% de la manoheptulosa ingerida apareció en la orina después de la administración oral. El destino de la manoheptulosa inyectada ha sido previamente investigado en ratas: el 66% fue excretado sin cambiar, 29% fue metabolizado y, un día después de la inyección, el 5% permanecía en el cuerpo (Simon et al., Arch. Biochem. Biophys, 69, pp. 592 - 601 (1957)).

La disponibilidad de glucosa para las células también puede reducirse usando otros suplementos dietéticos distintos de los específicamente identificados en el presente texto, que tienen un efecto similar sobre el metabolismo de la glucosa que puede tener como resultado una inhibición del procesamiento de la glucosa.

15 Los métodos de la invención pueden llevarse a la práctica administrando un componente descrito en el presente texto por vía oral o parenteral, aunque se preferiría la administración oral. Cuando se desea reducir el metabolismo de los tejidos, como complemento al tratamiento del trauma, el componente puede administrarse por vía intravenosa.

20 Además de los efectos de los anti-metabolitos de la glucosa sobre la insulina y el metabolismo relacionado en perros, los ratones alimentados con una composición que contiene por ejemplo manoheptulosa, también muestran niveles reducidos de insulina en plasma y un peso corporal ligeramente reducido. Ambos puntos finales están estrechamente relacionados con el metabolismo alterado de la glucosa y/o los carbohidratos, similar al provocado por la restricción calórica dietética. Incluso es más importante desde un punto de vista metabólico fundamental que las moscas de la fruta y/o nemátodos alimentados con manoheptulosa muestran una prolongación de la vida útil de casi el 50%, un efecto comparable al que ejerce la restricción calórica en una serie de especies animales.

EJEMPLOS.

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar la invención y no se pretende que limiten el alcance de la misma en modo alguno.

Ejemplo 1.

30 Preparación de harina de aguacate que contiene manoheptulosa.

Se obtuvieron aguacates frescos (variedad Lula) de Fresh King Incorporated (Homestead, FL). Los aguacates se abrieron manualmente y los huesos se retiraron y se desecharon. El resto de la piel y la pulpa se trituró por medio de una máquina Hobart Commercial Food Preparation (Nº de serie 11-10410235) usando un tamiz de 12¼. El aguacate molido se transfirió entonces a un liofilizador Edwards (modelo Super Modulyo, Crawely, Sussex, Inglaterra). El liofilizador se ajustó a -20°C durante las primeras 24 horas, -5°C durante las siguientes 24 horas y 5°C durante las últimas 72 horas. Tras sacarla del liofilizador, la harina se trituró hasta dar un polvo usando un molino Straub Grinding Mill (modelo 4E, Filadelfia, PA). Se analizó la harina de aguacate y se encontró que contenía aproximadamente 10,35% de manoheptulosa, en peso de la harina. Cabe señalar que la cantidad de manoheptulosa que se encuentra en los aguacates varía con la cepa y estado de madurez particulares, teniendo algunos aguacates poca o ninguna cantidad de manoheptulosa.

Ejemplo 2.

Administración a perros beagle de harina de aguacate que contiene manoheptulosa.

45 El uso de manoheptulosa con el propósito de mantener o atenuar una disminución en la salud, en la actividad funcional y/o en biomarcadores de la longevidad como resultado de la simulación de la restricción calórica, fue probado en perros beagle mediante la medida de la reducción de insulina. Como se ha discutido, y es ahora ampliamente aceptado en la técnica, la reducción de insulina es un distintivo de la restricción calórica y, por tanto, un indicador y/o biomarcador adecuado.

50 Se utilizaron para el estudio 12 beagles en total y se alimentaron con una composición comercial estándar (Eukanuba Senior Maintenance Formula) a lo largo del período de estudio. Se extrajeron muestras de sangre en ayunas 7, 6, 4 y 2 días antes de la administración de manoheptulosa. La manoheptulosa se suministró a los perros en forma de una harina de aguacate liofilizada que contiene de aproximadamente 10% a aproximadamente 12% de manoheptulosa, en peso de la harina. Esta preparación se ajustó para proporcionar dosis de manoheptulosa de 2, 20 y 200 mg/kg de peso corporal (MH-2, MH-20, MH-200, respectivamente). Se recogieron muestras de sangre en ayunas 1, 3, 5 y 7 días después del inicio de la administración de manoheptulosa.

Los niveles de insulina se redujeron hasta un 35% en perros que habían recibido la harina de aguacate en comparación con perros en el caso de composiciones similares que no habían recibido harina de aguacate con sus composiciones. Esos cambios fueron similares a las disminuciones encontradas en animales con dietas calóricas restringidas. En cambio, las concentraciones de glucosa en plasma de perros alimentados con la misma composición estándar que no contenía la harina de aguacate no mostraron tales efectos.

Sin ánimo de limitarse a ninguna teoría, el mecanismo por el que se reduce la insulina se refiere al hecho de que la glucosa ha de ser metabolizada por el páncreas para estimular la secreción de insulina (German et al., Proc. Nat. Acad. Sci., 90, 1781- 1785 (1993)). Se cree que la manoheptulosa inhibe la hexoquinasa, la enzima inicial implicada en el metabolismo de la glucosa. Por consiguiente, la reducción de los niveles de insulina indica que la manoheptulosa ha inhibido efectivamente el metabolismo de la glucosa, imitando de este modo la restricción calórica. Este efecto de la manoheptulosa sobre la hexoquinasa indicaría el uso de manoheptulosa dirigido a la inhibición del crecimiento tumoral como una alternativa a la administración de 2-desoxi-D-glucosa. Véase Board et al., Cancer Res., 55 (15): 3278 - 3285 (1995). La manoheptulosa presentaría una alternativa segura a la 2-desoxi-D-glucosa, ya que evitaría algunos efectos adversos observados cuando la 2-desoxi-D-glucosa es administrada durante un tiempo prolongado.

Ejemplo 3.

Se prepara un extracto de aguacate que contiene niveles aumentados de manoheptulosa de acuerdo con el siguiente proceso opcional, y se le utiliza en composiciones de la presente invención.

Se proporciona fruta entera de aguacate (aproximadamente 900 kilogramos). El fruto se corta y se eliminan los huesos, parcial o totalmente, proporcionando alrededor de 225 kilogramos de mitades de aguacate deshuesado. El aguacate crudo se carga en un desintegrador, después de lo cual se carga además con algo de agitación, agua (aproximadamente 3000 kg) y CELLUBRIX (comercialmente disponible de Novozymes A/S) (aproximadamente 1 litro). La mezcla se sigue agitando y se calienta al mismo tiempo hasta aproximadamente 66°C. A la terminación de la carga, se añade más CELLUBRIX (aproximadamente 1 litro), y toda la mezcla se mantiene bajo agitación durante aproximadamente 12 horas a un pH controlado de aproximadamente 5,5. A continuación, la temperatura se aumenta más hasta aproximadamente 80°C y después se mantiene durante al menos aproximadamente 2 horas. La mezcla vegetal digerida resultante se filtra después a 80°C para proporcionar el extracto de carbohidrato como filtrado. El extracto de hidratos de carbono se evapora a continuación en un sistema de recirculación simplificado a 80°C, bajo vacío, para proporcionar el extracto de carbohidratos que tiene de aproximadamente 10% a aproximadamente 20% de sólidos y un pH de aproximadamente 5,5. Después el extracto se sigue concentrando usando un secador de ventana de refractancia para proporcionar aproximadamente 100 kilogramos del extracto en forma de un polvo cristalino (con un rendimiento de aproximadamente 11% de extracto de carbohidrato, basado en la masa de partida de la fruta de aguacate entera, que se analiza como un rendimiento de aproximadamente 0,25% a aproximadamente 4,5% de manoheptulosa, basado en la masa de partida de la fruta de aguacate entera). Se ha de observar que la cantidad de manoheptulosa que se encuentra en los aguacates varía con la cepa particular y el estado de madurez de la fruta. El extracto se puede usar en las composiciones de la presente invención.

Ejemplo 4.

La Tabla 1 ilustra dos composiciones de croquetas que tienen los siguientes componentes en las cantidades aproximadas indicadas, que se preparan utilizando métodos que son estándar en la técnica, incluyendo la extrusión, y se administran a perros y/o gatos como alimento diario:

Tabla 1

Componente	Ejemplo 4A (Cantidad de componente indicada como %p)	Ejemplo 4B (Cantidad de componente indicada como %p)
Extracto de aguacate *	0,02	0,01
Pollo, harina subproducto del pollo, harina de pescado y huevo	44	47
Grasa de pollo	8	6
Pulpa de remolacha	2	3
Sales	2,5	2
Vitaminas y minerales **	1	1
Minoritarios ***	3,5	4

Grano (maíz, sorgo, cebada, arroz, trigo)	el resto	el resto
---	----------	----------

* El aguacate puede ser sustituido por otro material vegetal que tenga un contenido de manoheptulosa aumentado. La incorporación de una fuente de manoheptulosa reemplaza probablemente una cantidad similar de una fuente de grano en la composición.

5 ** Las vitaminas y los minerales pueden incluir: vitamina E, betacaroteno, vitamina A, ácido ascórbico, pantotenato cálcico, biotina, vitamina B₁₂, vitamina B₁, niacina, vitamina B₂, vitamina B₆, vitamina D₃, vitamina D₂, ácido fólico, cloruro de colina, inositol, carbonato cálcico, fosfato dicálcico, cloruro potásico, cloruro sódico, óxido de zinc, sulfato de manganeso, sulfato de cobre, óxido de manganeso, sulfato ferroso, yoduro potásico, carbonato de cobalto.

10 *** Los minoritarios pueden incluir: Aceite de pescado, semilla de lino, harina de lino, celulosa, saborizantes, antioxidantes, taurina, levadura, carnitina, sulfato de condroitina, glucosamina, luteína y extracto de romero.

Ejemplo 5.

La Tabla 2 ilustra una composición de salsa de sabor a carne de buey que se prepara combinando los siguientes componentes de una manera convencional:

Tabla 2

Componente	% p
Manoheptulosa *	0,14
Grasa de pollo	3,0
Partículas de carne de buey atomizadas y caldo	3,0
Goma xantano	0,5
Semillas de lino	0,2
Verduras	0,2
Vitaminas **	0,06
Minerales **	0,04
Acido fosfórico	0,95
Sabor de carne de buey	0,1
Agua	el resto

15 * La manoheptulosa puede ser sustituida con otro componente como se describe en el presente texto. La incorporación de una fuente de manoheptulosa reemplaza probablemente una cantidad similar de agua en la composición.

20 ** Las vitaminas y minerales pueden incluir: vitamina E, betacaroteno, vitamina A, ácido ascórbico, pantotenato cálcico, biotina, vitamina B₁₂, vitamina B₁, niacina, vitamina B₂, vitamina B₆, vitamina D₃, vitamina D₂, ácido fólico, cloruro de colina, inositol, carbonato cálcico, fosfato dicálcico, cloruro potásico, cloruro sódico, óxido de zinc, sulfato de manganeso, sulfato de cobre, óxido de manganeso, sulfato ferroso, yoduro potásico, carbonato de cobalto.

25 Una onza fluida de la composición de salsa se mezcla con media taza de una composición estándar diariamente antes de alimentar a un mamífero. Las cantidades de la composición de salsa se determinan según desee el cuidador del mamífero.

Ejemplo 6.

Administración una vez al día de manoheptulosa en una composición equilibrada nutricionalmente, administrada a perros Labrador Retriever adultos:

La farmacocinética de la manoheptulosa puede determinarse en seis perros Labrador Retriever machos adultos alimentados con una composición nutricionalmente equilibrada que proporciona manoheptulosa a niveles de 0, 1 ó 2 mg/kg de peso corporal del perro. Se proporciona manoheptulosa como fuente enriquecida de extracto de aguacate en las dietas de 1 y 2 mg/kg. La media de edad de los perros es de 4,2 años y la edad oscila entre 3,3 y 6,1 años. El promedio del peso corporal de todos los perros es de 33 kg y el peso corporal oscila entre 28 y 36 kg. Los perros son adaptados durante 14 días a una composición de control nutricionalmente equilibrada (Eukanuba Senior Maintenance Formula) que no contiene manoheptulosa, extracto de aguacate ni harina de aguacate (0 mg/kg manoheptulosa). Las dos composiciones que contienen manoheptulosa son la composición testigo o de control nutricionalmente equilibrada formulada con extracto de aguacate para proporcionar una dosis de manoheptulosa de 1 ó 2 mg/kg de peso corporal cuando se alimenta a un perro. La cantidad de composición ofrecida a los perros se basa en directrices de alimentación para la composición de control y el intervalo de peso objetivo y condición corporal de los perros. Después de 14 días, los perros son alimentados con una de las tres composiciones durante 9 días. El día 9, los perros son alimentados con su asignación diaria de composición como única comida a las 07:30. El perro 1 y el perro 2 son alimentados con la composición de control que contiene 0 mg/kg de manoheptulosa, el perro 3 y el perro 4 se alimentan con la composición que contiene 1 mg/kg de manoheptulosa, y el perro 5 y el perro 6 se alimentan con la composición que contiene 2 mg/kg de manoheptulosa. La farmacocinética de la manoheptulosa después de la administración diaria de manoheptulosa en una composición nutricionalmente equilibrada se determina recogiendo muestras de sangre en serie (3 mL) de cada perro el día 9 usando un sistema de recogida de sangre Vacutainer y venopunción yugular. Se recogen muestras de sangre a -30, 0, 30, 60, 90, 120, 240, 360, 480, 600, 720 y 1.440 minutos en relación con cada perro que recibe su asignación diaria total de composición como única comida. Las concentraciones de manoheptulosa en el plasma se miden usando espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida de alto rendimiento, como se describe a continuación en el presente texto.

Se utiliza un modelo monocompartmental para calcular la farmacocinética de la manoheptulosa basada en los niveles de manoheptulosa en el plasma después de la administración oral diaria de manoheptulosa en una composición nutricionalmente equilibrada ($P_{V(t)}$). El modelo es: $P_{V(t)} = \text{dosis}/(a \text{ BW}) e^{-kt}$ donde: a = tamaño de la agrupación de manoheptulosa (dosis/enriquecimiento en t_0), BW = peso corporal, k = constante de velocidad de eliminación $(\ln E_t - \ln E_0)/-t$, y t = tiempo. El área bajo cada curva de manoheptulosa en plasma se determina usando un análisis de varianza de una dirección de medidas repetidas (GraphPad Prism versión 4.00 para Windows).

La Figura 1 es una representación gráfica de las concentraciones en serie de manoheptulosa en plasma en perros Labrador Retrievers adultos alimentados con una única comida de una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 0 mg/kg (perros 1 y 2), 1 mg/kg (perros 3 y 4) o 2 mg/kg (perros 5 y 6). La manoheptulosa en plasma alcanza concentraciones máximas en perros adultos entre 6 y 8 horas después del consumo de una única comida de una composición que contiene manoheptulosa. Las concentraciones de manoheptulosa en el plasma vuelven a niveles no detectables 24 horas después del consumo de la comida única diaria. La manoheptulosa en el plasma sigue una cinética de primer orden con la administración oral diaria de 1 ó 2 mg/kg de manoheptulosa en una composición nutricionalmente equilibrada. El modelo matemático muestra que la manoheptulosa tiene una vida mitad de 6,25 horas y un tiempo de rotación de 9,0 horas después de una administración oral diaria de manoheptulosa (2 mg/kg) en una composición nutricionalmente equilibrada. Los niveles de manoheptulosa en plasma responden a los niveles de manoheptulosa en la dieta de manera dependiente de la dosis. La alimentación de una composición que contiene 2 mg/kg de manoheptulosa da como resultado concentraciones de manoheptulosa en plasma más altas en comparación con las composiciones de alimentación que contienen 0 y 1 mg/kg de manoheptulosa. La manoheptulosa no se detecta en el plasma de perros que consumen una composición que contiene 0 mg/kg de manoheptulosa. El área bajo la curva es significativamente diferente para las tres composiciones y depende de la dosis oral de manoheptulosa administrada al perro. No hay un área medible bajo la curva de manoheptulosa en plasma para perros que consumen una composición carente de manoheptulosa en comparación con mayores áreas bajo la curva con composiciones que proporcionan 1 ó 2 mg/kg de manoheptulosa por peso corporal del perro.

Ejemplo 7.

Administración doble diaria de manoheptulosa en una composición nutricionalmente equilibrada dada a perros Labrador Retriever más viejos.

La farmacocinética de la manoheptulosa puede determinarse en diez perros Labrador Retriever adultos, hembras, alimentados con una composición nutricionalmente equilibrada que proporciona manoheptulosa a niveles de 0 ó 2 mg/kg de peso corporal del perro. La manoheptulosa se proporciona como extracto de aguacate en la dieta de 2 mg/kg. La media de edad de los perros es de 7,1 años y la edad oscila entre 5,3 y 8,4 años. Los perros tienen la misma edad en los dos grupos de composición. El promedio de peso corporal de todos los perros es de 29 kg y oscila entre 25 y 35 kg. La composición de 0 mg/kg se da como una composición de control nutricionalmente equilibrada (Eukanuba Senior Maintenance Formula) y no contiene manoheptulosa, extracto de aguacate o harina de aguacate. La composición de 2 mg/kg es la composición de control nutricionalmente equilibrada formulada para contener extracto de aguacate para proporcionar manoheptulosa a una dosis de 2 mg/kg de peso corporal del perro. La cantidad de composición ofrecida a los perros se basa en directrices de alimentación para la composición de

control y el intervalo de peso objetivo y la condición corporal de los perros. Los perros son alimentados con la mitad de su asignación diaria de composición a las 07:30 y la mitad restante a las 13:30. Los perros 1, 2, 3, 4 y 5 se alimentan con la composición que contiene 2 mg/kg de manoheptulosa y los perros 6, 7, 8, 9 y 10 se alimentan con la composición que contiene 0 mg/kg de manoheptulosa. La farmacocinética de la manoheptulosa después de la administración dos veces al día de manoheptulosa en una composición nutricionalmente equilibrada se determina tomando muestras de sangre en serie (3 mL) de cada perro usando un sistema de recogida de sangre Vacutainer y venopunción yugular. Se recogen muestras de sangre a 0, 120, 240, 360, 480, 600, 720 y 1.440 minutos con relación a cada perro que recibe su asignación diaria total de composición en dos comidas separadas pero iguales. Las concentraciones de manoheptulosa en el plasma se miden usando espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida de alto rendimiento como se describe a continuación en la presente memoria.

Se utiliza un modelo monocompartimental para calcular la farmacocinética de la manoheptulosa basándose en los niveles de manoheptulosa en el plasma después de la administración oral de manoheptulosa dos veces al día en una composición nutricionalmente equilibrada ($P_{V(t)}$). El modelo es: $P_{V(t)} = \text{dosis} / (a \cdot BW) e^{-kt}$ donde: a = tamaño de la agrupación de manoheptulosa (dosis / (enriquecimiento en t_0)), BW = peso corporal, k = constante de velocidad de eliminación ($\ln E_t - \ln E_0$) / - t, y t = tiempo.

La Figura 2 es una representación gráfica de las concentraciones en serie de manoheptulosa en plasma en perros Labrador Retrievers adultos alimentados con dos comidas iguales de una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a una dosis de 2 mg/kg de peso corporal (perros 1, 2, 3, 4 y 5). No está presente manoheptulosa detectable en el plasma de perros alimentados con la composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa (0 mg/kg). Los niveles de manoheptulosa en plasma aumentan desde niveles indetectables en el momento de la alimentación inicial 10 a niveles máximos en 4 horas en perros alimentados con una composición nutricionalmente equilibrada que contiene extracto de aguacate para proporcionar manoheptulosa a una dosis de 2 mg/kg de peso corporal. Un segundo pico en las concentraciones de manoheptulosa en el plasma se produce 4 horas después de administrar una comida de la tarde 12 de la misma composición que contiene manoheptulosa a una dosis de 2 mg/kg de peso corporal. Las concentraciones en plasma de manoheptulosa vuelven a niveles indetectables a la mañana siguiente. Similar a la administración oral una vez al día, la manoheptulosa en el plasma sigue una cinética de primer orden con una administración oral de manoheptulosa dos veces al día en una composición nutricionalmente equilibrada que proporciona manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. El modelo matemático muestra que la administración oral de manoheptulosa dos veces al día en una composición nutricionalmente equilibrada, tiene como resultado una vida mitad de manoheptulosa de 5,42 horas y un tiempo de rotación de 7,8 horas después de la comida de la mañana y una vida mitad de 5,63 horas y un tiempo de rotación de 3,90 horas después de la comida de la tarde.

Ejemplo 8.

Administración a largo plazo de manoheptulosa en una composición nutricionalmente equilibrada, administrada a un conjunto de perros Labrador Retriever adultos más viejos.

Un total de 39 perros Labrador Retriever más viejos son alimentados con una composición nutricionalmente equilibrada que proporciona manoheptulosa a niveles de 0 ó 2 mg/kg de peso corporal del perro. El promedio de edad de los perros (12 machos castrados, 27 hembras esterilizadas) al inicio de un estudio de 4 años es de 6,7 años con un intervalo de 5,1 a 8,2 años para el perro más joven y el más viejo del conjunto, respectivamente. La composición de 0 mg/kg se da como una composición de control nutricionalmente equilibrada (Eukanuba Senior Maintenance Formula) y no contiene manoheptulosa, extracto de aguacate ni harina de aguacate. La composición de 2 mg/kg es la composición de control nutricionalmente equilibrada formulada con extracto de aguacate para proporcionar manoheptulosa a una dosis de 2 mg/kg de peso corporal del perro. La composición nutricionalmente equilibrada que contiene 0 mg/kg de manoheptulosa se denomina Dieta 1 en este Ejemplo. La composición nutricionalmente equilibrada que contiene 2 mg/kg de manoheptulosa se denomina Dieta 2 en este Ejemplo. La cantidad diaria de alimento para cada perro más viejo se basa en la cantidad de alimento requerida para mantener el peso corporal objetivo y la condición corporal de cada perro como se describe más adelante en el Método de Administración de Alimentación Animal. Los perros más viejos son alimentados con la mitad de su asignación diaria de alimentos a las 07:30 y 14:30 cada día. El consumo de las composiciones nutricionalmente equilibradas por perros más viejos durante los años 1, 2, 3 y 4 es como promedio 436, 409, 392 y 385 g/día para los perros alimentados con Dieta 1 y 428, 389, 392 y 390 g/día para los perros alimentados con Dieta 2, respectivamente. Se usan medidas mensuales, trimestrales, semestrales y/o anuales para evaluar el mantenimiento y/o la atenuación en la disminución de la calidad de vida del mamífero.

La Tabla 3 muestra el peso corporal en el año 0 y en el año 4 de perros más viejos alimentados con Dieta 1 y Dieta 2.

Tabla 3

Perros más viejos	Año	Dieta 1	Dieta 2
-------------------	-----	---------	---------

		Media	Mínimo	Máximo	Media	Mínimo	Máximo
Peso corporal	0	28,4	19,2	35,2	28,9	20,2	41,4
	4	30,7	22,4	39,4	31,5	24,3	40,0

La figura 3 es una representación gráfica del promedio de masa corporal magra anual de perros de más de 4 años de alimentación de composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) de peso del perro. La masa corporal magra de perros individuales se mide anualmente por DEXA como se describe a continuación en el presente texto. A medida que aumenta el promedio de edad de los perros más viejos de 6,7 a 10,7 años, la cantidad de masa corporal magra no cambia apreciablemente cuando se consume una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. En cambio, los perros más viejos que consumen una composición nutricionalmente equilibrada y carente de manoheptulosa pierden constantemente masa corporal magra durante 4 años. La manoheptulosa suministrada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o atenúa la disminución de la masa corporal magra de los perros más viejos a medida que envejecen.

La figura 4 es una representación gráfica del promedio de la densidad mineral ósea anual de perros más viejos de más de 4 años de alimentación de composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) de peso del perro. La densidad mineral ósea de perros individuales se mide anualmente por DEXA como se describe más adelante en este documento. A medida que los perros más viejos aumentan en media de edad de 6,7 a 10,7 años, se observa mantenimiento y/o atenuación en la disminución de la densidad mineral ósea cuando se consume una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. En cambio, se observa una disminución de la densidad mineral ósea en perros más viejos que consumen una composición nutricionalmente equilibrada, carente de manoheptulosa a partir del año 2, con una disminución constante a partir de entonces. La manoheptulosa suministrada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o atenúa la disminución en la densidad mineral ósea de perros más viejos a medida que envejecen.

La figura 5 es una representación gráfica del promedio del contenido anual de minerales óseos de perros más viejos sobre 4 años de alimentación de composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) de peso del perro. El contenido de minerales óseos de perros individuales se mide anualmente mediante DEXA como se describe más adelante en el presente texto. A medida que los perros más viejos aumentan en la media de edad de 6,7 a 10,7 años, se observa un aumento del contenido mineral óseo en el primer año y el contenido mineral óseo continúa aumentando después al consumir una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. En cambio, los perros más viejos que consumen una composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa no muestran un cambio apreciable en el contenido mineral óseo a lo largo de 4 años, excepto un aumento transitorio en el año 3 que retorna a los niveles previos en el año 4. La manoheptulosa proporcionada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene o mejora el contenido mineral óseo de perros más viejos a medida que envejecen.

La figura 6 es una representación gráfica del promedio de la fuerza muscular expresada como potencia muscular de perros más viejos durante 4 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) del peso corporal del perro. La fuerza muscular de los perros individuales se determina mensualmente a partir del mes 19 como se describe más adelante en el presente texto. Los datos se agrupan trimestralmente para el análisis y la información comenzando a partir del mes 22. Al mes 31, la fuerza muscular es mayor en perros más viejos que consumen una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. La fuerza muscular continúa mejorando con la administración oral de manoheptulosa a largo plazo en una composición nutricionalmente equilibrada. En cambio, la fuerza muscular no aumenta al cabo del tiempo y permanece constante para los perros más viejos que consumen una composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa. La manoheptulosa suministrada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o mejora la fuerza muscular de los perros más viejos a medida que envejecen.

La figura 7 es una representación gráfica del porcentaje de perros más viejos que saltan con éxito a varias alturas en relación con la altura individual de su hombro durante cuatro trimestres consecutivos de un periodo de 4 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) del peso corporal del perro. La capacidad de salto de perros individuales se determina trimestralmente como se describe más adelante en el presente texto. La evaluación inicial (inicio del primer trimestre) se realiza al mes 37 del estudio y continúa durante un año. Los cuatro trimestres consecutivos se representan como números de referencia 20, 22, 24 y 26, respectivamente en la figura 7.

5 La Tabla 4 muestra las medias de mínimos cuadrados para medir alturas de los hombros de perros más viejos alimentados con Dieta 1 y Dieta 2 y el valor de probabilidad de la comparación por parejas de los dos grupos. La altura del hombro del perro individual se utiliza aquí más adelante como el estándar para evaluar la capacidad de salto individual. La altura máxima saltada con éxito por un perro individual se expresa como un porcentaje de la altura individual de sus hombros. Un valor de p superior a 0,10 indica que no hay diferencia significativa en la altura de los hombros de los perros más viejos asignados a la Dieta 1 y la Dieta 2.

Tabla 4

Perros más viejos	Dieta 1	Dieta 2	Valor de P
Altura del hombro, cm	21,6	21,9	0,494

10 La Tabla 5 muestra el valor de la probabilidad para la comparación por parejas a lo largo de los cuatro trimestres para el porcentaje de perros más viejos alimentados con Dieta 1 y Dieta 2 que saltan con éxito una altura relativa a su altura de hombro individual. La evaluación de la capacidad funcional se basa en la capacidad de los perros más viejos para saltar alturas que oscilan entre el 60 y el 100% de su altura individual. Un valor de p comunicado menor o igual a 0,10 indica una diferencia estadísticamente significativa entre la Dieta 1 y la Dieta 2 a lo largo de los cuatro trimestres de prueba para el porcentaje de perros que saltan con éxito alturas similares.

15 Tabla 5

Altura de salto con éxito como porcentaje de la altura del hombro, %	60	70	80	90	100
Valor P comparando Dieta 1 con Dieta 2	0,043	0,074	0,097	0,089	0,016

20 Un mayor porcentaje de perros pueden saltar con éxito alturas que normalmente se consideran no extenuantes para perros normales y sanos (60 o 70% de la altura de los hombros). A medida que la altura de salto aumenta a 80, 90 o 100% de la altura de los hombros, un porcentaje menor de perros más viejos puede saltar con éxito estas alturas demostrando una actividad más exigente y desafiante físicamente y/o prueba para perros más viejos. En los cuatro trimestres, un mayor porcentaje de perros más viejos son capaces de saltar con éxito todas las alturas cuando consumen una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal en comparación con perros que consumen una composición equilibrada nutricionalmente carente de manoheptulosa. La manoheptulosa suministrada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o atenúa la disminución en la capacidad de salto de los perros más viejos a medida que envejecen.

30 La Figura 8 es una representación gráfica del porcentaje de perros más viejos que saltan con éxito sobre plataformas de altura variable en relación con la altura de hombro individual durante cuatro trimestres consecutivos de un período de 4 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) del peso corporal del perro. La capacidad de salto de perros individuales se determina trimestralmente como se describe más adelante en el presente texto. La evaluación inicial (inicio del primer trimestre) se hace el mes 37 del estudio y continúa durante un año. Los cuatro trimestres consecutivos se representan como números de referencia 20, 22, 24 y 26, respectivamente, en la figura 8.

35 La Tabla 6 muestra el valor de probabilidad para la comparación por parejas en los cuatro trimestres para el porcentaje de perros más viejos alimentados con Dieta 1 y Dieta 2 que saltan con éxito sobre plataformas de mesa de altura creciente con relación a la altura de hombro individual. La evaluación de la capacidad funcional se basa en la capacidad de los perros para saltar con éxito sobre plataformas de mesa de diferentes alturas que van desde 60% a 100% de la altura de su hombro individual. Un valor de p informado menor o igual a 0,10 indica una diferencia estadísticamente significativa entre la Dieta 1 y la Dieta 2 en los cuatro trimestres de prueba para el porcentaje de perros saltando con éxito sobre plataformas de mesa de alturas similares. Un valor de p informado que es mayor que 0,10 indica una capacidad de salto similar para ambos grupos en los cuatro trimestres.

Tabla 6

Altura de la plataforma como porcentaje de la altura del hombro, %	60	70	80	90	100
Valor de P que compara la Dieta 1 con la Dieta 2	0,402	0,074	0,001	0,002	0,002

Un mayor porcentaje de perros pueden saltar con éxito en alturas de plataforma que se consideran típicamente no extenuantes para perros normales y sanos (60 o 70% de la altura de sus hombros). A medida que la altura de la plataforma aumenta a 80, 90 o 100% de la altura de hombro individual, un porcentaje menor de perros más viejos puede saltar con éxito a plataformas más altas demostrando una actividad y/o prueba más exigente y físicamente desafiante para perros más viejos. A lo largo de los cuatro trimestres, un mayor porcentaje de perros más viejos puede saltar con éxito a plataformas que tienen 70, 80, 90 y 100% de la altura de hombro cuando consumen una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. El éxito de salto mejorado en las alturas más altas de la plataforma se mantiene durante los cuatro trimestres de prueba en comparación con los perros alimentados con una composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa a medida que el éxito de su salto disminuye con el tiempo. La manoheptulosa proporcionada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o atenúa la disminución en la capacidad de salto de los perros más viejos a medida que envejecen.

Ejemplo 9.

Administración prolongada de manoheptulosa en una composición nutricionalmente equilibrada a un grupo de perros Labrador Retriever adultos más jóvenes:

Un total de 41 perros Labrador Retriever más jóvenes son alimentados con una composición nutricionalmente equilibrada que proporciona manoheptulosa a niveles de 0 ó 2 mg/kg de peso corporal del perro. La media de edad de los perros (12 machos castrados, 29 hembras esterilizadas) al inicio del estudio de alimentación de 36 meses es de 4,0 años con un intervalo de 2,0 a 6,1 años para el perro más joven y el más viejo del grupo, respectivamente. La composición de 0 mg/kg se da como una composición de control nutricionalmente equilibrada (Eukanuba Senior Maintenance Formula) y no contiene manoheptulosa, extracto de aguacate ni harina de aguacate. La composición de 2 mg/kg es la composición de control nutricionalmente equilibrada formulada con extracto de aguacate para proporcionar manoheptulosa a una dosis de 2 mg/kg de peso corporal del perro. La composición nutricionalmente equilibrada que contiene 0 mg/kg de manoheptulosa se denomina Dieta 1 en este Ejemplo. La composición nutricionalmente equilibrada que contiene 2 mg/kg de manoheptulosa se denomina Dieta 2 en este Ejemplo. La tolerancia alimenticia diaria para cada perro más joven se basa en la cantidad de alimento requerida para mantener el peso corporal objetivo y la condición corporal de cada perro como se describe más adelante en el Método de Administración de Alimentación Animal. Los perros más jóvenes son alimentados con la mitad de su asignación diaria de alimentos a las 07:30 y las 14:30 cada día. El consumo de las composiciones nutricionalmente equilibradas por perros más jóvenes durante los años 1, 2 y 3 es de 419, 354 y 384 g/día de media para los perros alimentados con Dieta 1 y 443, 373 y 402 g/día para los perros alimentados con Dieta 2, respectivamente. Se usan medidas mensuales, trimestrales, semestrales y/o anuales para evaluar el mantenimiento y/o la atenuación de la disminución de la calidad de vida del mamífero.

La Tabla 7 muestra el peso corporal en el año 0 y el año 3 de perros más jóvenes alimentados con Dieta 1 y Dieta 2.

Tabla 7

Perros más jóvenes	Año	Dieta 1			Dieta 2		
		Media	Mín.	Máx.	Media	Mín.	Máx.
Peso corporal, kg	0	28,7	19,9	39,7	29,0	22,8	36,6
	3	28,7	21,7	38,9	28,3	23,7	34,9

La figura 9 es una representación gráfica del promedio anual de masa corporal magra de perros más jóvenes durante 3 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) de peso corporal del perro. La masa corporal magra de perros individuales se mide anualmente por DEXA como se describe a continuación en la presente memoria. A medida que los perros más jóvenes aumentan en promedio de edad de 4,0 a 7,0 años, la cantidad de masa corporal magra no cambia apreciablemente cuando consumen una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. En cambio, los perros más jóvenes que consumen una composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa pierden más masa corporal magra durante 3 años. La manoheptulosa suministrada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o atenúa la disminución en la masa corporal magra de los perros más jóvenes a medida que envejecen.

La figura 10 es una representación gráfica del promedio de la densidad mineral ósea anual de perros más jóvenes durante 3 años de alimentación de composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) de peso corporal del perro. La densidad mineral ósea de perros individuales se mide anualmente por DEXA como se describe más adelante en el presente texto. A medida que los perros más jóvenes aumentan en promedio de edad de 4,0 a 7,0 años, se observa el mantenimiento y/o el aumento

de la densidad mineral ósea cuando consumen una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. En cambio, se observa una disminución de la densidad mineral ósea en perros más jóvenes que consumen una composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa comenzando después del año 1 con una disminución constante a partir de entonces. La manoheptulosa suministrada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o atenúa una disminución de la densidad mineral ósea de los perros más jóvenes a medida que envejecen.

La figura 11 es una representación gráfica del promedio del contenido anual de minerales óseos de perros más jóvenes durante 3 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) de peso corporal del perro. El contenido de minerales óseos de perros individuales se mide anualmente por DEXA como se describe más adelante en el presente texto. A medida que los perros más jóvenes aumentan en el promedio de edad de 4,0 a 7,0 años, el contenido de minerales óseos disminuye ligeramente cuando consumen una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. En cambio, los perros más jóvenes que consumen una composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa muestran una disminución en el contenido mineral óseo durante 3 años. La manoheptulosa suministrada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o atenúa la disminución en el contenido mineral óseo de perros más jóvenes a medida que envejecen.

La Figura 12 es una representación gráfica del promedio de la fuerza muscular expresada como potencia muscular de perros más jóvenes durante 3 años de alimentación de composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) de peso corporal del perro. La fuerza muscular de los perros individuales se determina mensualmente a partir del mes 6 como se describe más adelante en el presente texto. Los datos se agrupan trimestralmente para el análisis y presentación de informe a partir del mes 8. Para el mes 23, la fuerza muscular es mayor en los perros más jóvenes que consumen una composición nutricionalmente equilibrada que contiene manoheptulosa a un nivel de 2 mg/kg de peso corporal. La fuerza muscular continúa mejorando con la administración oral a largo plazo de manoheptulosa en una composición nutricionalmente equilibrada. En cambio, la fuerza muscular no aumenta con el tiempo y disminuye después del mes 20 para los perros más jóvenes que consumen una composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa. La manoheptulosa suministrada como extracto de aguacate en una composición nutricionalmente equilibrada mantiene y/o atenúa la disminución de la fuerza muscular de los perros más jóvenes a medida que envejecen.

La Figura 13 es una representación gráfica del porcentaje de perros más jóvenes que saltan con éxito a varias alturas en relación con la altura de su hombro individual durante cuatro trimestres consecutivos de un período de 3 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) del peso corporal del perro. La capacidad de salto de perros individuales se determina trimestralmente como se describe más adelante en el presente texto. La evaluación inicial (inicio del primer trimestre) se realiza al mes 22 del estudio y continúa durante un año. Los cuatro trimestres consecutivos están representados como números de referencia 30, 32, 34 y 36, respectivamente, de la figura 13.

La Tabla 8 muestra las medias de mínimos cuadrados para las alturas de los hombros medidas de los perros más jóvenes alimentados con la Dieta 1 y la Dieta 2 y el valor de probabilidad de la comparación por parejas de los dos grupos. La altura del hombro del perro individual se utiliza en el presente texto más adelante como estándar para evaluar la capacidad de salto individual. La altura máxima saltada con éxito por un perro individual se expresa como porcentaje de su altura de hombro individual. Un valor de p superior a 0,10 indica que no hay diferencia significativa en la altura de los hombros para perros más jóvenes asignados a la Dieta 1 y la Dieta 2.

Tabla 8

Perros más jóvenes	Dieta 1	Dieta 2	Valor de P
Altura del hombro, cm	21,8	22,5	0,123

La Tabla 9 muestra el valor de probabilidad para la comparación por parejas en los cuatro trimestres para el porcentaje de perros más jóvenes alimentados con Dieta 1 y Dieta 2 que saltan con éxito una altura relativa a su altura de hombro. La evaluación de la capacidad funcional se basa en la capacidad de los perros más jóvenes para saltar con éxito alturas que van desde 60 a 100% de su altura individual del hombro. Un valor de p obtenido menor o igual a 0,10 indica una diferencia estadísticamente significativa entre la Dieta 1 y la Dieta 2 en los cuatro trimestres de prueba para el porcentaje de perros que saltan con éxito alturas similares. Un valor de p mayor que 0,10 indica una capacidad de salto similar para ambos grupos en los cuatro trimestres.

Tabla 9

Altura de salto como porcentaje de altura de los hombros, %	60	70	80	90	100
Valor de P comparando la Dieta 1 frente a la Dieta 2	0,001	0,664	0,362	0,531	0,959

5 Un mayor porcentaje de perros más jóvenes pueden saltar con éxito alturas que normalmente se consideran no extenuantes para perros normales y sanos (60 o 70% de la altura de sus hombros). A medida que la altura del salto aumenta a 80, 90 o 100% de la altura de los hombros, un porcentaje menor de perros más jóvenes puede saltar con éxito estas alturas demostrando una actividad y/o prueba para perros más jóvenes más exigente y físicamente desafiante. Con la excepción del 60% de las alturas de sus hombros, el porcentaje de perros más jóvenes que saltan con éxito la altura requerida es similar, al margen del consumo de una composición nutricionalmente equilibrada que proporciona un nivel de manoheptulosa de 0 ó 2 mg/kg de peso corporal. Sólo a una altura no extenuante del 60% del hombro individual, un mayor porcentaje de perros más jóvenes que consumen Dieta 2 puede superar a perros que consumen la Dieta 1. El beneficio de mantener y/o atenuar la disminución de la capacidad de salto no se sostiene a niveles de altura más elevados, lo que significa un nivel similar de capacidad de salto en ambos grupos de perros más jóvenes.

15 La Figura 14 es una representación gráfica del porcentaje de perros más jóvenes que saltan con éxito sobre plataformas de mesa de diferentes alturas con respecto a la altura de hombro durante 3 años de alimentación con composiciones nutricionalmente equilibradas que proporcionan manoheptulosa a niveles de 0 mg/kg (Dieta 1) o 2 mg/kg (Dieta 2) del peso corporal del perro. La capacidad de salto de perros individuales se determina trimestralmente, como se describe más adelante en este documento. La evaluación inicial (inicio del primer trimestre) se realiza al cabo del mes 22 del estudio y continúa durante un año. Los cuatro trimestres consecutivos están representados como números de referencia 30, 32, 34 y 36, respectivamente, de la figura 14.

25 La Tabla 10 muestra el valor de probabilidad para la comparación por parejas en los cuatro trimestres para el porcentaje de perros más jóvenes alimentados con Dieta 1 y Dieta 2 que saltan con éxito sobre las plataformas de mesa de altura creciente con relación a su altura de hombro individual. La evaluación de la capacidad funcional se basa en la capacidad de los perros más jóvenes para saltar con éxito sobre las plataformas de mesa de diferentes alturas que van desde el 60 al 100% de su altura de hombros individual. Un valor de p obtenido menor o igual a 0,10 indica una diferencia estadísticamente significativa entre la Dieta 1 y la Dieta 2 en los cuatro trimestres de prueba para el porcentaje de perros que saltan con éxito sobre plataformas de mesa de alturas similares. Un valor de p mayor que 0,10 indica una capacidad de salto similar para ambos grupos en los cuatro trimestres.

30 Tabla 10

Altura de la plataforma como porcentaje de la altura del hombro, %	60	70	80	90	100
Valor de P comparando la Dieta 1 frente a la Dieta 2	0,554	0,031	0,144	0,642	0,230

35 Un porcentaje mayor de perros puede saltar con éxito a las alturas de plataforma de mesa que normalmente se consideran no extenuantes para los perros normales y sanos (60 o 70% de la altura de sus hombros). A medida que la altura de la plataforma aumenta a 80, 90 o 100% de su altura de hombro individual, un menor porcentaje de perros más jóvenes pueden saltar con éxito a plataformas más altas demostrando una actividad y/o una prueba más exigente y físicamente desafiante para perros más jóvenes. Con la excepción del 70% de las alturas de los hombros, el porcentaje de perros más jóvenes capaces de saltar con éxito sobre plataformas de una altura específica es similar al margen del consumo de una composición nutricionalmente equilibrada que proporciona un nivel de manoheptulosa de 0 o 2 mg/kg del peso corporal. Sólo a una altura no extenuante del 70% de la altura del hombro individual, un mayor porcentaje de perros más jóvenes que consumen Dieta 1 puede superar a los perros que consumen Dieta 2. El beneficio del mantenimiento y/o la atenuación de la disminución en la capacidad de salto no se sostiene a mayores niveles de altura, lo que significa un nivel similar de capacidad de salto en ambos grupos de perros más jóvenes.

La similitud en la capacidad de salto de los perros más jóvenes alimentados con la Dieta 1 y la Dieta 2 es probablemente dependiente de sus edades actuales. Es aceptado por los expertos en la técnica que los perros más jóvenes tienden más a realizar la mayor parte de las pruebas físicas y no se aprecian diferencias sutiles de la capacidad en edades más jóvenes. Es de esperar que la capacidad de salto de los perros más jóvenes que consumen la composición carente de manoheptulosa (Dieta 1) no se puede mantener debido a la disminución de la masa corporal magra, la densidad mineral ósea, el contenido mineral óseo y la fuerza muscular. Se espera que las disminuciones en la masa corporal magra, densidad mineral ósea, contenido mineral óseo y fuerza muscular se manifestarán como una disminución en la movilidad funcional de los perros más jóvenes a medida que envejecen.

Métodos.

10 Gestión de la Alimentación Animal.

Los perros son sometidos a un período de línea base y alimentados con una composición nutricionalmente equilibrada carente de manoheptulosa, extracto de aguacate o harina de aguacate. El período de alimentación basal se utiliza para establecer la asignación diaria de alimentos de perros individuales para mantener el peso corporal ideal y los rangos de condición corporal para cada perro. Una evaluación inicial por un veterinario con licencia determina el rango ideal de peso corporal y condición corporal para cada perro basado en el estándar de la raza para perros Labrador Retriever y el tamaño corporal de cada perro. La asignación alimenticia diaria se puede ajustar a medida de las necesidades hasta que el perro esté dentro de su margen ideal de peso corporal y condición corporal. Una vez que se consigue el peso corporal y la condición corporal ideales, la asignación diaria de alimentos se fija en esa cantidad para mantener a cada perro dentro de estos márgenes. La asignación diaria fija de alimentos se mantiene durante el resto del período de referencia y el siguiente período de prueba. Pueden tener lugar ajustes a la asignación diaria fija si la condición corporal de un perro cae fuera de un margen aceptable de 2 a 4 como se describe en la Tabla 11. La puntuación de condición corporal se evalúa trimestralmente de acuerdo con los criterios descritos en la Tabla 11. El ajuste de alimento máximo permitido para un perro individual se limita a ± 50 gramos de comida al día. La cantidad de este ajuste depende de la puntuación actual de la condición corporal del perro en relación con el intervalo preferido de 2 a 4. La nueva asignación alimenticia se mantiene durante el siguiente trimestre antes de repetirse la puntuación de la condición corporal. Esta disposición evita oscilaciones grandes y rápidas en la ingesta de alimentos y ayuda a mantener a cada perro en un margen saludable y estable de peso corporal y condición corporal durante el período de alimentación.

Tabla 11

Puntuación	Descripción	Características y criterios
1	Extremadamente delgado	<ul style="list-style-type: none"> Las costillas, vértebras lumbares y huesos pélvicos son visibles a distancia y se sienten sin hacer presión. No hay grasa palpable sobre la base de la cola, la columna vertebral o las costillas Ausencia evidente de masa muscular Pliegue abdominal cóncavo severo cuando se ve desde un lado Forma de reloj de arena acusada cuando se ve desde arriba
2	Peso inferior al normal	<ul style="list-style-type: none"> Costillas palpables con poca presión; pueden ser visibles Mínima grasa palpable sobre las costillas, la columna vertebral, la base de la cola Aumento del pliegue abdominal cóncavo cuando se ve desde un lado Forma acusada de reloj de arena a la cintura cuando se ve desde arriba

3	Ideal	<ul style="list-style-type: none"> • Costillas y columna palpables con ligera presión pero no visibles; sin exceso de cobertura de grasa • Las costillas se pueden ver con el movimiento del perro • Buen tono muscular aparente • Pliegue abdominal cóncavo cuando se ve desde un lado • Forma suave de reloj de arena a la cintura cuando se ve desde arriba
4	Sobrepeso	<ul style="list-style-type: none"> • Costillas palpables con ligera cobertura de grasa en exceso que son difíciles de sentir por palpación • Aspecto general carnosos y robusto • El pliegue cóncavo abdominal disminuido o ausente cuando se ve desde el lado • Pérdida de forma de reloj de arena a la cintura con la espalda ligeramente ensanchada cuando se ve desde arriba • Las costillas no se ven con el movimiento del perro
5	Obesidad extrema	<ul style="list-style-type: none"> • Costillas y columna vertebral no palpables bajo una espesa cobertura de grasa • Depósitos de grasa visibles sobre el área lumbar, la base de la cola y la columna vertebral • El abdomen es convexo con o sin un bulto ventral colgante • La espalda está muy ensanchada

Absorciómetro de rayos X de energía dual (DEXA)

- 5 Las medidas de composición del cuerpo entero de masa corporal, grasa, densidad mineral ósea y contenido mineral óseo de los perros adultos se obtienen con el uso de un aparato Dual Energy X-Ray Absorptiometer (DEXA). Los escáneres DEXA de perros anestesiados son realizados por un técnico veterinario registrado o un veterinario licenciado usando un Densitómetro Óseo de Rayos X serie Hologic® Delphi QDR® de (Modelo Delphi-A número de serie 70852; Bedford, MA). Se realiza una calibración de control de calidad antes del inicio de la exploración y se siguen procedimientos de operación estándar como se describe en la Guía del Usuario para el densitómetro óseo de Rayos X con QDR® para Windows®.
- 10 Los perros se mantienen en ayunas durante un mínimo de 12 horas antes de la hora de la anestesia y el escaneo DEXA. Los pesos corporales en ayunas se recogen antes de la anestesia y se registran. Se siguen técnicas veterinarias estándar para proporcionar una inducción, un mantenimiento y una recuperación de la anestesia seguros y efectivos utilizando procedimientos apropiados de sedación y tranquilización para los perros. Se montan suministros anestésicos que incluyen agujas, jeringas y lágrimas artificiales, así como tubos endotraqueales de
- 15 varios tamaños.
- 20 El perro es sedado usando una combinación pre-anestésica de Acepromazina (0,55 mg/kg de inyección intramuscular) y Atropina (0,04 mg/kg de inyección subcutánea), y después se le pone sobre la mesa de DEXA, El perro se anestesia usando Propofol (7 mg/kg) administrado a través de un catéter intravenoso asegurado. El perro es intubado con un tubo endotraqueal y se le suministra oxígeno al 100 %. Una máquina de anestesia con gas está disponible para el caso de que deba administrarse isoflurano si el perro comienza a recuperarse antes de completarse la exploración. Se recogen señales vitales incluyendo la frecuencia respiratoria y el pulso después de la inducción con Propofol (antes de la exploración) e inmediatamente después de la exploración de 90 segundos.
- 25 El perro se sitúa sobre su esternón con la cabeza y el cuello lo más rectos que sea posible. Los miembros delanteros se giran caudalmente y se colocan en el lado del perro. Los miembros traseros se extienden y se colocan lo más rectos posible. La cola se endereza y se pone entre las extremidades traseras. La columna vertebral es colocada por el técnico para que esté lo más recta posible cuando se ve frontalmente. Si es necesario, el técnico corregirá cualquier curvatura al cuerpo del perro resituándolo. La longitud del perro se mide desde la punta de la nariz hasta aproximadamente 2,54 cm (una pulgada) más allá de la punta del pie trasero usando una cinta métrica. Estos datos se introducen en el programa Hologic QDR Series, de acuerdo con los procedimientos estándar de la

guía del usuario para el Densitómetro Óseo de Rayos X con QDR® para Windows®. Se selecciona “Cuerpo Entero” como tipo de exploración. El brazo C de la unidad DEXA hace tres pasadas sobre el perro en aproximadamente 90 segundos, momento en el cual termina la exploración.

5 Después de DEXA, se interrumpe la anestesia al final del procedimiento. El oxígeno sigue siendo suministrado al perro por lo menos cinco minutos antes de ser desconectado de la máquina. El perro es trasladado a una jaula de recuperación donde se retira el tubo endotraqueal una vez que el perro recupera su reflejo de deglución.

10 DEXA proporciona medidas de cuerpo entero de la densidad mineral ósea, contenido mineral óseo, grasa total, masa corporal magra, masa corporal magra + contenido mineral óseo, masa total y porcentaje (%) de grasa. El porcentaje (%) de la masa magra del cuerpo entero se calcula como “masa corporal magra total”/“masa corporal total” x 100.

Fuerza muscular.

La fuerza muscular de los perros, expresada como potencia muscular, se mide usando un sistema formado por un arnés de tracción de peso y una pila de pesas equipada con un sistema de poleas. El siguiente equipo se utiliza para realizar pruebas de resistencia:

- 15
- Arnés de tracción de peso para el perro: hecho adaptado para medidas del peso corporal y el cuerpo del perro; construido de material de nilón; un tamaño de arnés para un perro Labrador Retriever adulto típico, por ejemplo, tendrá un orificio de cabeza de circunferencia de 63,5 cm (25 pulgadas) con relleno de espuma y será de 109,2 cm (43 pulgadas) de longitud desde el centro del cuello hasta el anillo en D (PullDoggies.com).
- 20
- Pila de pesos y sistema de poleas: polea individual, independiente, pila de 68 kg (150 libras) de peso, sin estruendo (Therapy Systems, Roseville, CA) modificada para acomodar un peso total de 34 kg (75 libras) en incrementos de 2,3 kg (5 libras) (pesos adicionales de 2,3 kg (5 libras) también de Therapy Systems)
 - Medidor de Fuerza Intercomp CS200 (Intercomp Comp., Medina, MN)
 - Cronómetro digital calibrado, modelo no. 61161 - 350 (Control Company, Friendswood, TX)
- 25
- Rodillo hilado de césped, gris, 0,91 m (3 ft) de anchura x 3,6 m (12 ft) de longitud x 1,27 cm (0,5 pulgadas) de grosor, estera anti-fatiga (Scottissue, Inc., Dayton, OH); personalizado identificando la longitud de la estera en incrementos de 0,10 metros usando un rotulador permanente. También está marcada en la estera una distancia de tracción máxima de 2,4 metros.
- 30
- SitStay Clicker (SitStay, Inc, Lincoln, NE) dispositivos marcadores de adiestramiento animal de refuerzo positivo; o equivalente.
 - Dispositivos de estimulación (por ejemplo, juguetes, croquetas de dieta como golosinas).

35 Antes de realizar la primera prueba de resistencia, cada perro experimenta un proceso de entrenamiento y aclimatación de varios pasos para familiarizarlo con el arnés y el acto de arrastrar pesos. Se ajusta un perro en el arnés y lo lleva durante las actividades normales en un patio de juego al aire libre. Cuando el perro está cómodo usando el arnés, se une al arnés una cántara de leche vacía de 1 galón para desensibilizar al perro a los ruidos y sensaciones asociadas con la acción de tirar de algo. Se agregan a la cántara de leche cantidades crecientes de peso añadiendo guijarros. El perro está listo para realizar la prueba una vez que muestra con éxito la actividad normal y juega mientras tira de la jarra de leche llena de guijarros. El tiempo requerido para completar el proceso de aclimatación puede oscilar entre días y semanas, dependiendo de la personalidad del perro concreto.

40 Todos los perros son entrenados con un *clicker* o chasca. El entrenamiento con *clicker* es un método de entrenamiento animal basado en la psicología del comportamiento que estriba en marcar el comportamiento que se desea y recompensarlo. El comportamiento deseado se marca mediante el uso de una chasca o *clicker*, un dispositivo mecánico que produce un sonido "clic" corto y distinto, que le dice al animal exactamente cuándo está haciendo lo correcto. Esta forma clara de comunicación, combinada con un refuerzo positivo, es una manera efectiva, segura y humana de enseñar a cualquier animal cualquier comportamiento que pueda realizar física y mentalmente. El entrenador humano hace "clic" en el momento en que se produce el comportamiento, y luego entrega una recompensa apropiada (por ejemplo, comida, interacción humana, juguete). Una vez que los perros son entrenados, el *clicker* puede no ser necesario diariamente, pero se continúan las recompensas como refuerzo positivo.

50 Una vez que los perros son entrenados y acostumbrados al arnés, los pesos de arrastre y la técnica de refuerzo positivo del *clicker*, un mínimo de dos técnicos llevan a cabo las dos fases de la prueba de resistencia: la prueba de tracción reforzada y la prueba de tracción de repetición. Se pone a cada perro un arnés de tracción de peso, que luego se engancha a la pila de pesas y al sistema de polea. La fuerza máxima de tracción pico se recoge utilizando

un Medidor de Fuerza Intercomp CS200 calibrado, que funciona de acuerdo con procedimientos operativos estándar descritos en el Manual del Usuario de Intercomp CS200. El medidor de fuerza se reajusta después de cada intento de tirón. Se registra la máxima fuerza de tracción pico pero no se utiliza en el cálculo del trabajo o de la potencia.

5 Primero se realiza una prueba de tracción reforzada. Un tirón con éxito se define como el peso que un perro puede arrastrar una distancia de 2,4 metros en un tiempo de 30 segundos. Un técnico sirve como entrenador del perro y anima al perro a que comience el arrastre usando varios dispositivos de animación (por ejemplo, juguetes, croquetas de dieta como golosinas, y/o encomio vocal). En ningún momento el técnico toca al perro para proporcionar asistencia. El segundo técnico pone a cero el medidor de fuerza y dispara el cronómetro cuando el perro da su primer paso. Cuando el perro alcanza la línea de 2,4 metros, el técnico apoya el peso arrastrado, para evitar que el perro retroceda, mientras se detiene el cronómetro. El peso de tracción (kg), la distancia de arrastre (2,4 m), el tiempo transcurrido (s) y la fuerza máxima de tracción pico (kg-fuerza) son registrados por el técnico. Los pesos se aumentan en incrementos de 2,27 kg (5 libras) (hasta un máximo de 34 kg (75 libras)) hasta que el perro no logra completar el arrastre dentro de la distancia y el tiempo asignados. Si un perro no alcanza el máximo de 34 libras, se registran el peso de tracción, la distancia de arrastre, el tiempo transcurrido y la máxima fuerza de tracción para el tirón final sin éxito.

10 Al término de la prueba reforzada, se lleva a cabo una prueba de tracción de repetición. El peso de tracción para la prueba de repetición se retorna al peso máximo arrastrado con éxito por el perro durante la prueba de tracción reforzada. Utilizando refuerzo positivo, el perro tira de este mismo peso durante un máximo de 10 veces sobre la misma distancia de 2,4 metros. Cada tirón repetido debe completarse dentro de 30 segundos para que se considere un tirón con éxito. El tiempo requerido para arrastrar el peso la distancia de 2,4 metros se recoge usando el cronómetro y se registra para cada repetición. Se registra la máxima fuerza de tracción pico pero no se utiliza en el cálculo de trabajo o potencia. Si un perro no puede realizar los 10 arrastres repetidos, se registran el peso de tracción, la distancia de arrastre, el tiempo transcurrido y la fuerza de tracción pico máxima para la tracción final sin éxito.

25 Los datos recogidos se utilizan para calcular el trabajo llevado a cabo y la potencia ejercida por cada perro durante cada arrastre individual utilizando las siguientes ecuaciones.

- Fuerza (newtons) = Masa x aceleración
 - Masa (kg) = peso individual arrastrado con éxito por el perro
 - Aceleración = $9,80665 \text{ m/s}^2$
- 30 • Trabajo (julios) = Fuerza x distancia (m)
- Potencia (vatios) = Trabajo/tiempo (s)

El trabajo total y la potencia total se calculan para cada perro sumando todos los arrastres individuales de refuerzo y repetición en una medida global de la fuerza muscular.

Actividades de la vida diaria.

35 Las actividades de las medidas de la vida diaria (ADL) pueden recogerse utilizando actividades tales como el salto sobre mesas de la plataforma (ADL-Table) o salto sobre obstáculos (ADL-Jump). Estas actividades permiten a los perros demostrar su agilidad y capacidad para llevar a cabo las tareas diarias normales. Las medidas de la actividad están diseñadas para simular acciones comunes de los perros en un entorno doméstico y que típicamente se vuelven más difíciles de realizar cuando los perros envejecen. Se requiere un mínimo de dos técnicos para llevar a cabo cada prueba de actividad. Un técnico sirve como entrenador de perros y otro técnico registra los datos.

40 Antes de la recopilación de datos, los técnicos entrenan a todos los perros para que realicen las actividades usando técnicas de estímulo positivo y de refuerzo, como el entrenamiento con chasca (*clicker*) que se describió anteriormente. Los perros son guiados a través de cada actividad por un entrenador que utiliza dispositivos de estímulo (por ejemplo, juguetes, croquetas de dieta como golosinas) y/o halagos vocales. En ningún momento el entrenador toca al perro para proporcionar asistencia.

45 La altura del hombro de cada perro individual se mide con una cinta métrica y se registra. La altura del hombro se define como la distancia 42 entre la parte inferior de la pata delantera derecha (suelo) al punto proximal de la espina escapular 40, como se ilustra en la figura 15.

50 La actividad ADL-Table requiere que el perro salte arriba y abajo desde la plataforma de cuatro mesas de alturas graduadas, empezando por la altura de la mesa más baja primero. La actividad ADL-Jump requiere que el perro salte por encima de un obstáculo que aumenta gradualmente la altura de las barras. Cada una de estas dos actividades se describe con más detalle a continuación. Para ambas actividades, los perros se puntúan por el número de intentos a cada altura graduada y la terminación con éxito de cada altura.

ES 2 643 823 T3

La actividad ADL-Table se realiza en una habitación interior equipada con los siguientes elementos:

- Una mesa (“Baja”) construida de aluminio soldado con pintura antideslizante aplicada a la parte alta de una plataforma de 0,91 m (3 ft) x 0,91 m (3 ft) (Agility-Equipment.com, Goffstown, NH). La altura de la mesa baja es de 17,8 cm (7 pulgadas) desde el piso hasta la parte superior de la superficie de la plataforma.
- 5 • Una mesa (“Media”) construida de aluminio soldado con pintura antideslizante aplicada a la parte alta de una plataforma de 0,91 m (3 ft) x 0,91 m (3 ft) (Agility-Equipment.com, Goffstown, NH). La altura de la mesa media es de 30,5 cm (12 pulgadas) desde el piso hasta la parte superior de la superficie de la plataforma.
- Una mesa (“Alta”) construida de aluminio soldado con pintura antideslizante aplicada a la parte alta de una plataforma de 0,91 m (3 ft) x 0,91 m (3 ft) (Agility-Equipment.com, Goffstown, NH). La altura de la mesa alta es de 40,6 cm (16 pulgadas) desde el piso hasta la parte superior de la superficie de la plataforma.
- 10 • Una mesa (“la más Alta”) construida de aluminio soldado con pintura antideslizante aplicada a la parte alta de una plataforma de 0,91 m (3 ft) x 0,91 m (3 ft) (Agility-Equipment.com, Goffstown, NH). La altura de la mesa más alta es de 61,0 cm (24 pulgadas) desde el suelo hasta la parte superior de la superficie de la plataforma.
- 15 • Rodillo hilado de césped, gris, espesor de 1,27 cm (0,5 pulgadas), estera anti-fatiga (Scottissue, Inc., Dayton, OH).
- Dispositivos de estimulación (por ejemplo, juguetes, asignación de croquetas de dieta para golosinas).
- Correas.

20 Todas las mesas se colocan sobre estereras grises para proporcionar una superficie de suelo no lisa y acolchada para los perros. La estera (0,91 m (3 ft) de ancho x 4,6 m (15 ft) de longitud) proporciona algo de amortiguamiento protector para los perros, ya que saltan arriba y abajo de cada mesa. Una segunda estera (0,91 m (3 ft) de ancho x 4,42 m (14,5 ft) de longitud) se apila sobre la parte superior de la primera estera y se pone frente a las mesas medianas, altas y más altas para la amortiguación extra.

25 Para realizar la actividad ADL-Table, el entrenador pasea al perro con correa a la mesa baja. El entrenador puede sujetar ligeramente la correa durante la actividad, dependiendo del perro. Se anima al perro a que salte o suba a la mesa con halagos vocales, juguetes o golosinas. Después de saltar sobre la plataforma se anima al perro a volver al suelo saltando o bajando de la mesa. El perro tiene dos intentos de realizar ambas actividades para recibir una puntuación exitosa. El evaluador registra “Sí” si el perro salta con éxito a la estructura y luego salta de nuevo al piso. Se registra un “No” si el perro no realiza la tarea como se describe o no intenta saltar hacia la estructura o desde la misma. También se registra el número de intentos (1 ó 2). Si el perro completa con éxito la actividad en la mesa Baja en su primer o segundo intento, el entrenador pasa inmediatamente al perro a la mesa Media y repite el mismo proceso. Si el perro completa con éxito la actividad en la mesa Media, el entrenador pasa inmediatamente al perro a la mesa Alta y repite el mismo proceso. Si el perro completa con éxito la actividad en la mesa Alta, el entrenador pasa inmediatamente al perro a la mesa más Alta y repite el mismo proceso. La prueba termina cuando el perro completa con éxito la actividad en la mesa más Alta o recibe una puntuación “No” en los dos intentos de una estructura. Se registra la altura más Alta de la mesa de plataforma lograda con éxito por el perro. La altura de éxito más alta (pulgadas) para un perro se expresa como porcentaje de su altura de hombro medida (pulgadas).

La actividad ADL-Jump se realiza en una sala interior equipada con lo siguiente:

- 40 • Estructura de obstáculos (salto) de aluminio (Agility-Equipment.com, Goffstown, NH), de 1,2 m (4 ft) de ancho y dotado de ranuras para barras horizontales a las siguientes alturas (medida desde el suelo hasta la parte superior de la barra):
 - Nivel 1 = 17,8 cm (7 pulgadas)
 - Nivel 2 = 27,9 cm (11 pulgadas)
 - Nivel 3 = 38,1 cm (15 pulgadas)
 - 45 ○ Nivel 4 = 48,2 cm (19 pulgadas)
 - Nivel 5 = 53,3 cm (21 pulgadas)
 - Nivel 6 = 58,4 cm (23 pulgadas)
 - Nivel 7 = 63,5 cm (25 pulgadas)

ES 2 643 823 T3

- Siete tuberías de PVC, de 1,9 cm (3/4 pulgadas) de diámetro x 1,2 m (4 ft) de longitud que funcionan como barras de obstáculo horizontales extraíbles.
- Rodillo hilado de césped, gris, espesor de 1,27 cm (0,5 pulgadas), estera anti-fatiga (Scottissue, Inc., Dayton, OH).

- 5
- Dispositivos de estímulo (es decir, juguetes, croquetas de dieta asignadas para golosinas).

La estructura de obstáculos se pone en estera gris para proporcionar a los perros una superficie de suelo no resbaladiza y acolchada. Dos estereras (1,37 m (4,5 ft) de anchura x 4,57 m (15 ft) de longitud) se apilan doble para proporcionar una pista, áreas para saltar y aterrizar con acolchado extra a medida que los perros realizan esta actividad.

- 10
- Para realizar la actividad ADL-Jump, se pone una barra de obstáculos en la posición Nivel 1. El entrenador pasea el perro con la correa a una distancia en la pista de aproximadamente 1,83 m a 2,44 m (6 ft a 8 ft) del obstáculo. El perro es animado a saltar por encima del obstáculo con encomios vocales, juguetes o golosinas. El entrenador no toca al perro inmediatamente antes o durante la actividad. El entrenador puede sujetarlo ligeramente a la correa durante la actividad, dependiendo del perro. Para recibir una puntuación exitosa el perro debe saltar sobre el
- 15
- obstáculo, sin derribar la barra, en no más de dos intentos. El perro tiene dos intentos para saltar con éxito sobre el obstáculo. El evaluador registra "Sí" si el perro salta con éxito la altura sin derribar la barra. Se registra una puntuación de "No" si el perro no intenta saltar la altura o derriba la barra. También se registra el número de intentos (1 ó 2). Si el perro completa con éxito el obstáculo de Nivel 1 en su primer o segundo intento, se pone una segunda barra de obstáculo en el Nivel 2 e inmediatamente se repite el mismo procedimiento. El mismo proceso se sigue hasta la posición de Nivel 7 o hasta que el perro fracasa en sus dos intentos a una altura específica. Se registra la mayor altura alcanzada con éxito por el perro. La mayor altura con éxito (pulgadas) para un perro se expresa como un porcentaje de la altura medida de su hombro (pulgadas).
- 20

Espectrometría de Masas en Tándem con Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (LC/MS/MS):

- 25
- Se utiliza espectrometría de masas en tándem con cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC/MS/MS) para determinar la cantidad de manoheptulosa presente en el plasma de perros adultos. D-manoheptulosa y su patrón interno análogo químico (D₇-glucosa) se aíslan del plasma de perro mediante un procedimiento de precipitación de proteínas (descrito más adelante en el presente texto) usando un formato de 96 pocillos. El analito y el patrón interno se someten a análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) de fase inversa en una columna amino polimérica (partículas de 2,1 x 150 mm, 5 µm). La detección y cuantificación es por espectrometría de masas (MS) operando bajo múltiples condiciones de MS/MS de monitorización de la reacción. Las concentraciones de D-
- 30
- manoheptulosa en el plasma del perro pueden cuantificarse de aproximadamente 20 a 5000 ng/mL. El ensayo requiere una alícuota de 0,1 mL de plasma de perro recogido de un tubo de recogida de sangre con anti-coagulante Na₂EDTA. Las concentraciones de las muestras se determinan por retrocálculo usando una regresión lineal ponderada (1/x²) de una curva de calibración generada a partir de las normas de calibración de D-manoheptulosa preparadas.
- 35

Los siguientes reactivos y aparatos se usan para realizar los análisis:

Reactivos.

- Patrón externo de D-manoheptulosa de referencia analítica. Carbosynth, Compton-Berkshire, Reino Unido.
 - D-glucosa-1, 2, 3, 4, 5, 6, 6-d₇ (D₇-glucosa), Patrón interno del método de referencia (IS). Cambridge Isotope Laboratories, Andover MA.
 - Acetonitrilo (ACN). Disolvente para HPLC; o equivalente
 - Ácido fórmico (FA), 88%, Reactivo A. C. S.; o equivalente
 - Agua de calidad reactivo para análisis (ARW); o equivalente
 - Plasma de perro testigo no filtrado (blanco) con anti-coagulante Na₂EDTA. Bioreclamación; o equivalente
 - Lavado de agujas 1: (10:90) ACN: ARW con FA al 0,05%
 - Lavado de agujas 2: (95:5) ACN: ARW con FA al 0,1%
 - Fase móvil A: ARW con FA al 0,1%
 - Fase móvil B: ACN con FA al 0,1%
- 40
- 45

Aparatos.

ES 2 643 823 T3

- Pipetas de dispensación electrónicas (EDP), pipetas manuales.
- Bomba de HPLC. Shimadzu (Shimadzu, Kyoto, Japón) Controlador de sistema modelo SCL-10A vp y bombas LC-10AD vp con mezclador Gilson Modelo 811C (volumen 65 µL).
- 5 • Espectrómetro de masas. Sciex (Applied Biosystems/MS SCIEX; Foster City, CA) API 4000 Q-Trap o instrumento que cumple requisitos equivalentes usando software analítico.
- Actuador de dos posiciones. Valco Instruments Company Inc; Houston, TX).
- Columna analítica. Columna apHera NH₂ (Sigma - Aldrich, St. Louis, MO), 2,1 x 150 mm (partícula de 3 µm).
- 10 • Tapa de rosca con junta tórica de silicona. VWR Scientific Products (West Chester, Pa.) nº de cat. 20170-241.
- Viales de polipropileno, bordeado cónico, natural. Tubos de tapón roscado de 0,5 mL y 2 mL con tapón.
- Multi-Tube Vortexer. Marca VWR Scientific Products (West Chester, PA.); o equivalente.
- Placas de extracción/inyección de 96 pocillos de polipropileno de fondo redondo de 1,3 mL (Microliter Analytical Supplies Inc, Suwanee, GA., Cat. nº 07-3000); o equivalente.
- 15 • Estera de sellado para placas de recolección de 96 pocillos redondos de 1,3 mL. (Whatman Polyfiltronics, Rockland, MD, Cat. nº 7704 - 0105); o equivalente.
- Automuestreador. CTC Analytics HTS PAL (Leap Technologies, Carrboro, NC); o equivalente.
- Centrífuga. Beckman Coulter (Beckman Coulter; Fullerton, CA) Allegor X-15 con portador de microplacas y rotor SX4750A; o equivalente.

20 Procedimiento.

1. Preparación de la solución madre estándar de D-manoheptulosa y patrones de calibración:

Preparar soluciones madre $0,500 \pm 0,100$ mg/mL del patrón externo de referencia analítica de D-manoheptulosa en agua ARW. Conservar las soluciones en viales de polipropileno a 2 - 4 °C hasta que se usen. Para cada ensayo, preparar patrones frescos de calibración de D-manoheptulosa usando solución madre de D-manoheptulosa y agua ARW para concentraciones finales de 0,2, 0,4, 0,8, 2, 4, 8, 20, 40 y 50 µg/mL.

25 2. Preparación de soluciones de patrón interno (IS) de D₇-glucosa.

Solución de D₇-Glucosa (IS) (1000 µg/mL):

Preparar soluciones $1,000 \pm 0,100$ mg/mL de D₇-glucosa_Method Reference Standard en agua ARW. Conservar las soluciones en viales de polipropileno a una temperatura de -70 °C o inferior hasta su uso.

30 Solución IS de trabajo (~ 25 µg/mL):

Preparar una solución de 25 µg/ml usando solución madre de IS y agua ARW. Guardar la solución a aproximadamente 4 °C hasta su uso. La solución caduca después de 3 meses.

3. Preparación del lote:

35 Un lote de estudio incluye patrones de calibración, muestras de control de calidad (QC), blancos apropiados y especímenes de estudio. Las muestras pueden transferirse manualmente a su ubicación apropiada en la placa de 96 pocillos. Un lote de estudio puede contener un máximo de 96 muestras, incluyendo patrones de calibración, muestras de QC, blancos y especímenes de estudio. Los especímenes y muestras QC se descongelan a temperatura ambiente.

40 Patrones de calibración. Transferir 0,100 mL de cada muestra de calibración recién preparada a su posición asignada en la placa de extracción de 96 pocillos.

Especímenes de estudio y muestras de control de calidad. Las muestras se dejan descongelar a temperatura ambiente antes de pipetearlas. Diluir según sea necesario usando agua ARW. Transferir 0,100 mL de cada muestra a su posición asignada en la placa de extracción de 96 pocillos.

ES 2 643 823 T3

Blancos. Pipetear 0,100 mL de agua ARW en la posición asignada al blanco de reactivo en la placa de extracción de 96 pocillos. Pipetear 0,100 mL del plasma de perro testigo apropiado en las posiciones asignadas al blanco de plasma y patrón cero.

Añadir 0,025 mL de agua ARW a las posiciones de blanco.

- 5 Añadir 0,025 mL de solución IS de trabajo a todas las posiciones de la placa de extracción de 96 pocillos excepto las posiciones de blanco. Cubrir y agitar en vórtice la placa durante ~15 segundos.

Añadir 0,500 mL de acetonitrilo a todas las posiciones de la placa de extracción de 96 pocillos para la precipitación de proteínas. Cubrir y agitar en vórtice la placa durante ~15 segundos y luego centrifugar a ~3000 rpm durante ~10 minutos.

- 10 Transferir 0,400 mL del sobrenadante de la placa de extracción de 96 pocillos a la placa de inyección de 96 pocillos. Concentrar el sobrenadante hasta aproximadamente 0,2 mL mediante purga de nitrógeno.

Cubrir la placa de inyección de 96 pocillos y agitar en vórtice durante ~15 segundos.

Analizar todas las muestras mediante análisis de HPLC/MS/MS de acuerdo con las especificaciones del equipo como se describe a continuación.

- 15 Análisis.

Para realizar el análisis mediante HPLC/MS/MS, se usan los parámetros instrumentales enumerados a continuación para analizar aproximadamente 10 µL de cada una de las muestras del lote. Del sistema de adquisición de datos de MS se obtienen las áreas de pico (PA) para D-manoheptulosa y el patrón interno de cada muestra.

Parámetros de HPLC - API 4000 Q-Trap Sciex MS con bomba Shimadzu e inyector de salto.	
Caudal	350 µL/min
Volumen de inyección	10 µL (el volumen de inyección puede ajustarse para optimizar la sensibilidad de HPLC/MS/MS)
Tiempo de ejecución (retención de analito)	(6,0 min (~ 3,3 min para analito e IS))
Fase móvil A	ARW con ácido fórmico al 0,1%
Fase móvil B	ACN con ácido fórmico al 0,1%
Lavado con aguja 1	(10:90) ACN: ARW con ácido fórmico al 0,05%
Lavado con aguja 2	(95: 5) ACN: ARW con ácido fórmico al 0,1%
Temperatura de la columna de HPLC	Ambiente

Gradiente			
Tiempo	Fase Móvil A (%)	Móvil Fase B (%)	Válvula de derivación
0,0	25	75	a desecho
0,1	25	75	
1,0			a MS
3,5	35	65	
3,51	50	50	
4,5	50	50	
4,5			a desecho

ES 2 643 823 T3

4,51	25	75	
------	----	----	--

- 5 A continuación se encuentran las condiciones de funcionamiento típicas (parámetros) para los espectrómetros de masas Sciex API 4000 Q-Trap. Estos parámetros pueden ajustarse para optimizar la respuesta; sin embargo, estos parámetros no se pueden ajustar durante el funcionamiento, sino que para cada ejecución se debe utilizar un conjunto coherente de ajustes/parámetros del instrumento.

Parámetros del espectrómetro de masas	
Espectrómetro de masas	Sciex API 5000
Modo de ionización:	Turbo-Ion Spray-ESI
Polaridad:	Negativa
Temp Turbo:	350°C
CUR:	45
GS 1:	35
GS 2:	60
IS:	-3500
CAD:	Alto
DP:	-25
EP:	-11
CE:	-10
CXP:	-7

Iones utilizados en el modo MRM		
Compuesto	Ion matriz (m/z)	Ion producto (m/z)
D - manoheptulosa	255,0	209,0
D ₇ - glucosa	232,0	186,0

- 10 Se realiza un análisis de regresión lineal ponderada ($1/x^2$) para D-manoheptulosa en los patrones de calibración en Watson LIMS, para la señal observada (definida aquí como la relación de área de pico de cada analito a su patrón interno) en función de las concentraciones de analito. La concentración del analito en los patrones de calibración, muestras de control de calidad y especímenes de estudio se vuelve a calcular usando la ecuación de regresión generada residente en Watson LIMS.

La aceptación del análisis se establece mediante la evaluación de la curva de calibración estándar y la lectura de la muestra de QC y la satisfacción de los requisitos de idoneidad del sistema que siguen.

- 15 La idoneidad del sistema se establece usando soluciones de cualificación del rendimiento (PQ). Las preparaciones en solución de PQ son las siguientes:
- Cero PQ = STD 0 de un conjunto de muestras se utiliza como PQ cero.
 - Bajo PQ = el patrón más bajo de un conjunto de muestras se utiliza como PQ bajo.
 - Alto PQ = el estándar más alto de un conjunto de muestras se utiliza como PQ alto.

- 20 Se pueden combinar los patrones de una sola o varias series de muestras para hacer una solución de PQ. Las muestras de PQ se almacenan a ~11 °C y son estables para la duración de la estabilidad del proceso.

ES 2 643 823 T3

- Primero se hace una inyección de solución de calificación de rendimiento cero (PQ) seguida por una inyección de la solución de PQ baja. La sensibilidad del instrumento se asegura mediante la detección del analito en la solución de PQ bajo a una relación señal/ruido (S/N) > 4. Además, esta detección indica que cada cuádruple, Q1 y Q3, está debidamente calibrado para transmitir y detectar los iones matrices (Q1) y producto (Q3) adecuados de las especies que se monitorizan. A continuación se inyecta la solución de PQ alta seguida de inyecciones repetidas de la solución de PQ cero. La ausencia de permanencia se asegura por la falta de una excesiva corriente de iones para el analito en la última inyección en solución de PQ cero (debe ser <35% de esa señal observada en la inyección de solución de PQ baja). Una respuesta superior al 35% garantizaría procedimientos de limpieza de inyectores, etc., antes de proceder al análisis de especímenes.
- 5
- 10 Se analizan los patrones cero (plasma testigo), blancos de matriz de plasma y blancos de reactivo con fines diagnósticos. Los resultados de estos análisis no se emplean directamente para determinar la aceptación del análisis. Sin embargo, no debe aparecer ninguna respuesta > 10% de la respuesta del patrón interno más grande observada en la inyección o inyecciones de patrón cero en el tiempo de retención conocido del patrón interno en el plasma testigo o bien en los blancos de reactivo. Además, al menos uno de los patrones cero (plasma testigo) no debe producir corriente iónica en el tiempo de retención del analito que exceda el 50% de esa respuesta observada en la inyección de patrón bajo.
- 15

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso no terapéutico de una composición que comprende manoheptulosa para mantener y/o atenuar una disminución en la calidad de vida de un mamífero, proporcionando la composición una dosis de manoheptulosa a dicho mamífero sobre una base diaria de aproximadamente 0,001 gramo por kilogramo de peso corporal de dicho mamífero, a 1 gramo por kilogramo de peso corporal de dicho mamífero, comprendiendo dicho mantenimiento y/o atenuación de una disminución en la calidad de vida mantener y/o atenuar una disminución en la composición corporal total, mantener y/o atenuar una disminución en la movilidad funcional, y una combinación de lo mismo.
- 10 2. El uso no terapéutico según la reivindicación 1, en donde mantener y/o atenuar una disminución en la calidad de vida es mantener y/o atenuar una disminución en la movilidad funcional y se eligen entre el grupo que consiste en mantener y/o atenuar una disminución en las actividades de la vida diaria de dicho mamífero y mantener y/o atenuar una disminución en la capacidad de salto de dicho mamífero.
- 15 3. Una composición que comprende manoheptulosa para su uso en un método para el tratamiento para mantener y/o atenuar una disminución en la composición corporal total, en donde dicha composición que comprende manoheptulosa proporciona una dosis de manoheptulosa a dicho mamífero sobre una base diaria de aproximadamente 0,001 gramo por kilogramo de peso corporal de dicho mamífero, a 1 gramo por kilogramo de peso corporal de dicho mamífero, y en donde mantener y/o atenuar una disminución en la composición corporal total es mantener y/o atenuar la disminución en la salud músculoesquelética de dicho mamífero.
- 20 4. La composición según la reivindicación 3, para su uso según la reivindicación 3, en donde dichos mantenimiento y/o atenuación de una disminución en la salud músculoesquelética se eligen entre el grupo que consiste en mantener y/o atenuar una disminución de la salud muscular, mantener y/o atenuar una disminución de la salud esquelética, y combinaciones de lo mismo.
- 25 5. La composición según la reivindicación 4 para su uso según la reivindicación 4, en donde dichos mantenimiento y/o atenuación de una disminución de la salud muscular se eligen entre el grupo que consiste en mantener y/o atenuar una disminución de la masa muscular magra de dicho mamífero, mantener y/o atenuar una disminución de la fuerza muscular, y combinaciones de lo mismo.
- 30 6. La composición según la reivindicación 4 para su uso según la reivindicación 4, en donde dichos mantenimiento y/o atenuación de una disminución de la salud esquelética se eligen entre el grupo que consiste en mantener y/o atenuar una disminución de la densidad mineral ósea, mantener y/o atenuar una disminución del contenido mineral óseo, y combinaciones de lo mismo.
7. El uso no terapéutico según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, o de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en donde dicha composición está equilibrada nutricionalmente.
- 35 8. El uso no terapéutico según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 7, o de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, en donde dicha composición es una glosina.
- 40 9. El uso no terapéutico según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 7 o 8, o de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, en donde dicha composición está al menos parcialmente extruida.
- 45 10. El uso no terapéutico según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 7 a 9 o de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en donde dicho mamífero se elige entre el grupo que consiste en perros o gatos.
11. El uso no terapéutico según cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 7 a 10 o de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 10, para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 10, en donde la dosificación a dicho mamífero sobre una base diaria es de 1 mg a 200 mg por kg de peso corporal de dicho mamífero, preferiblemente de 1 mg a 20 mg, más preferiblemente de 1 mg a 15 mg.

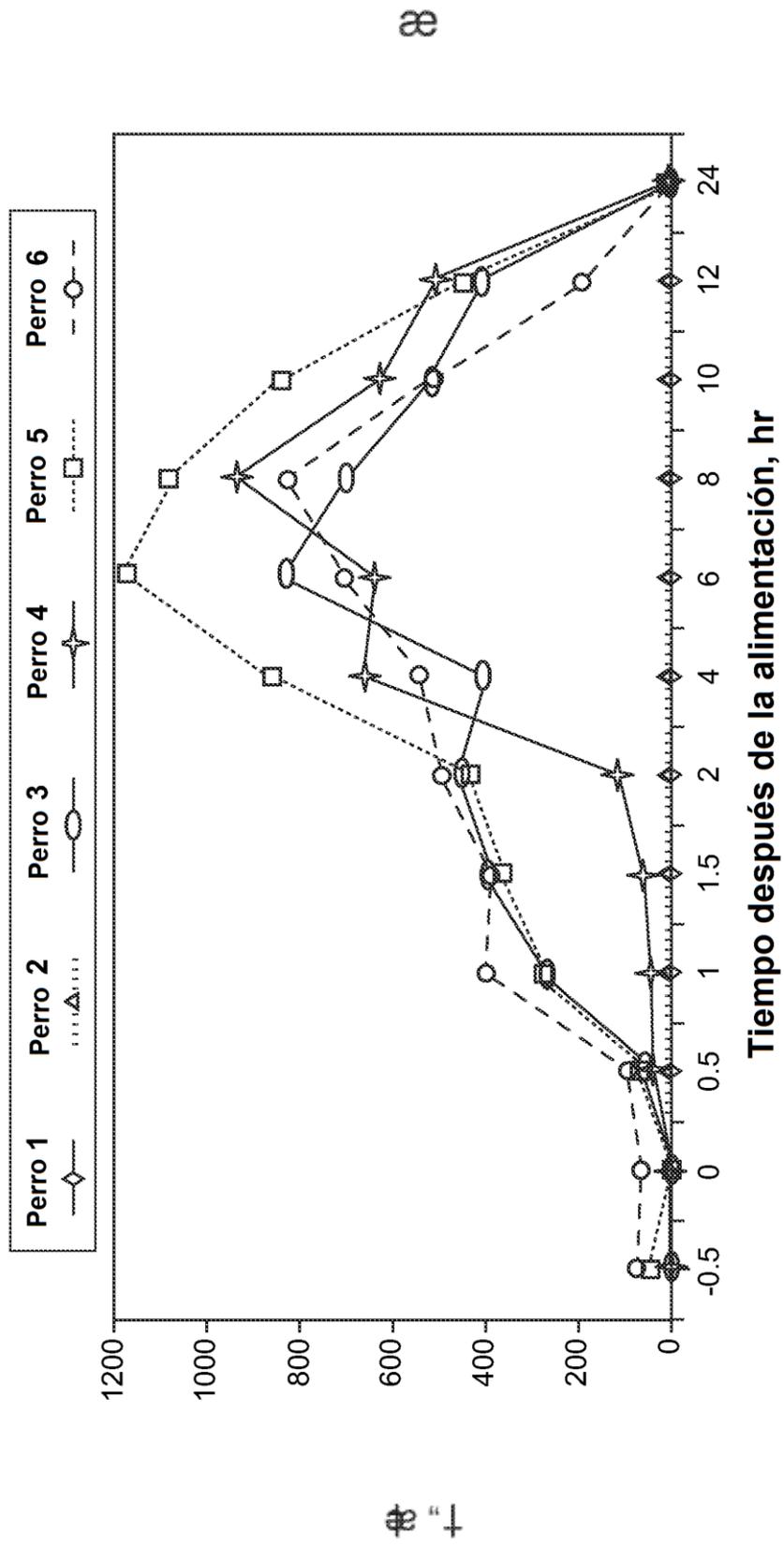
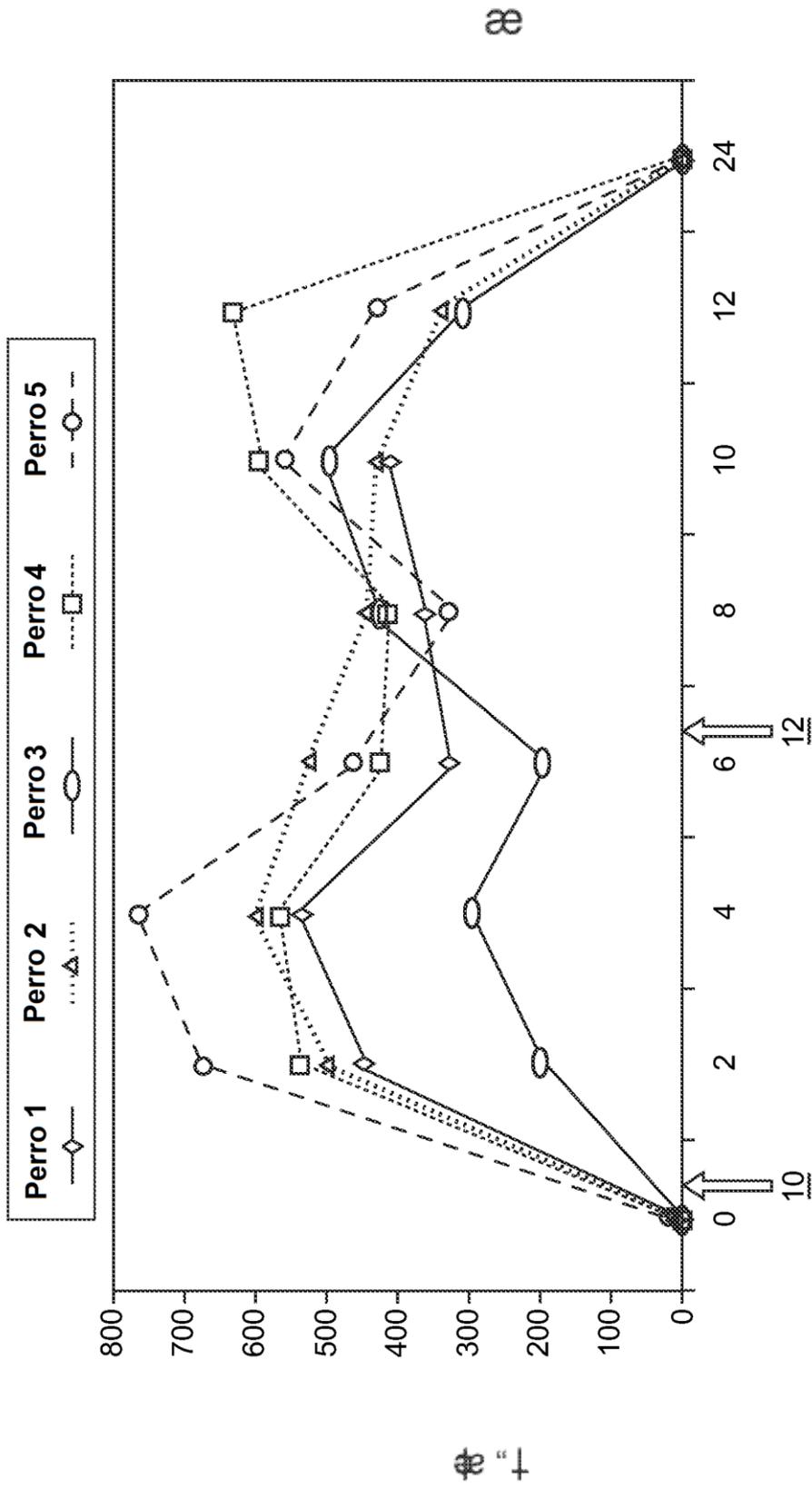


Fig. 1



Tiempo posterior a alimentación AM, hr

Fig. 2

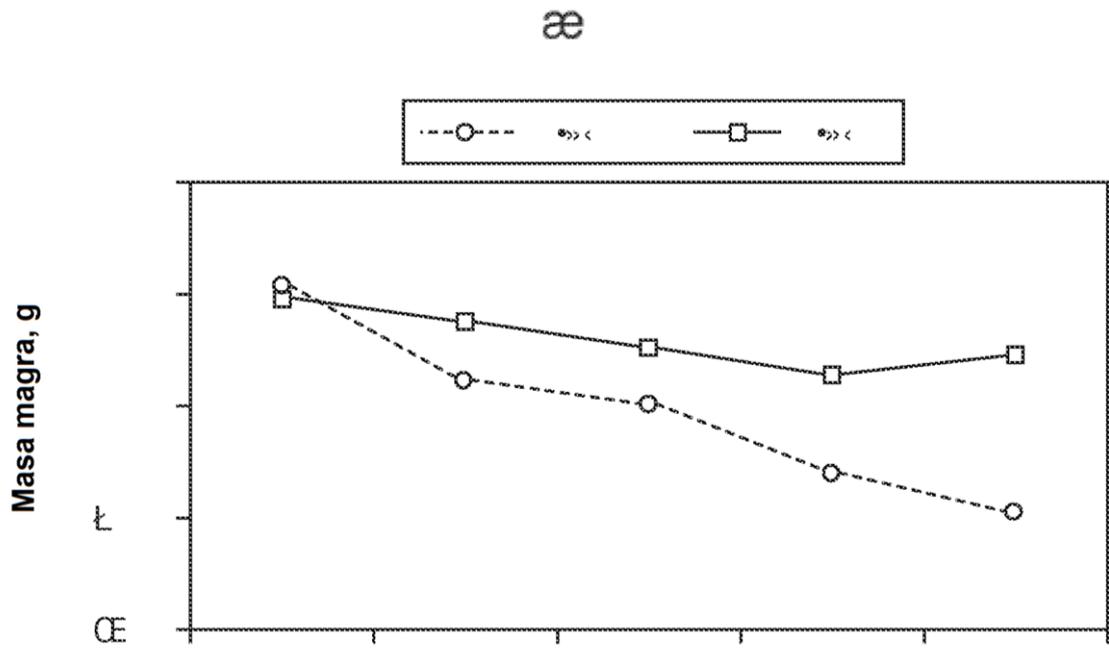


Fig.3

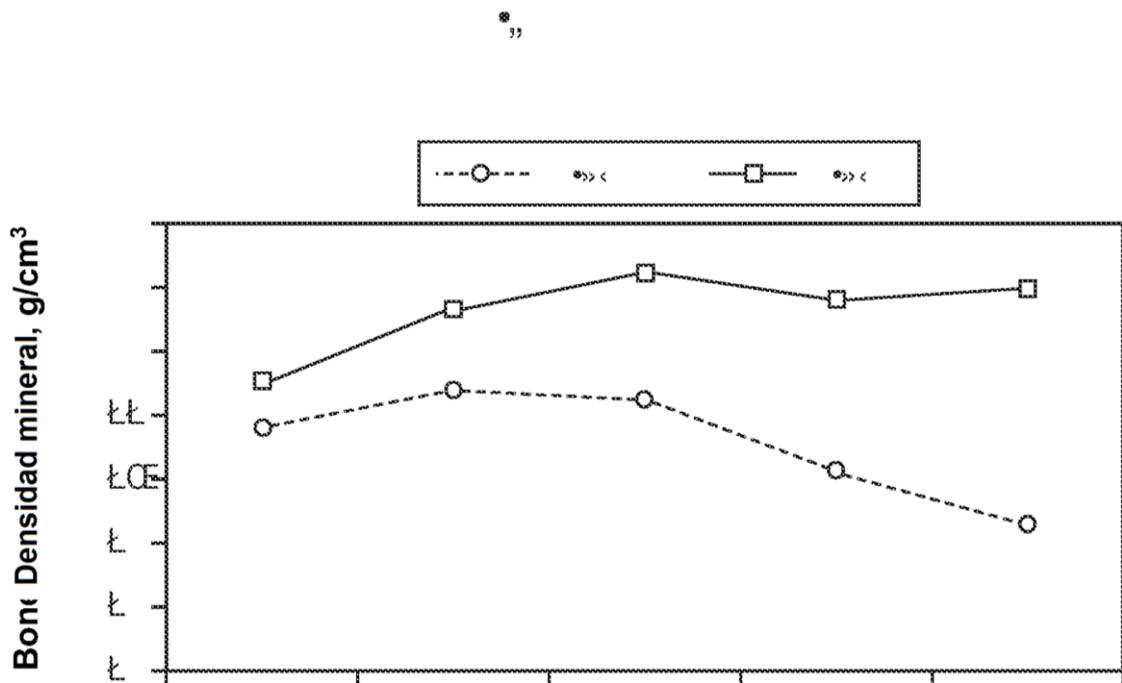


Fig 4

æ

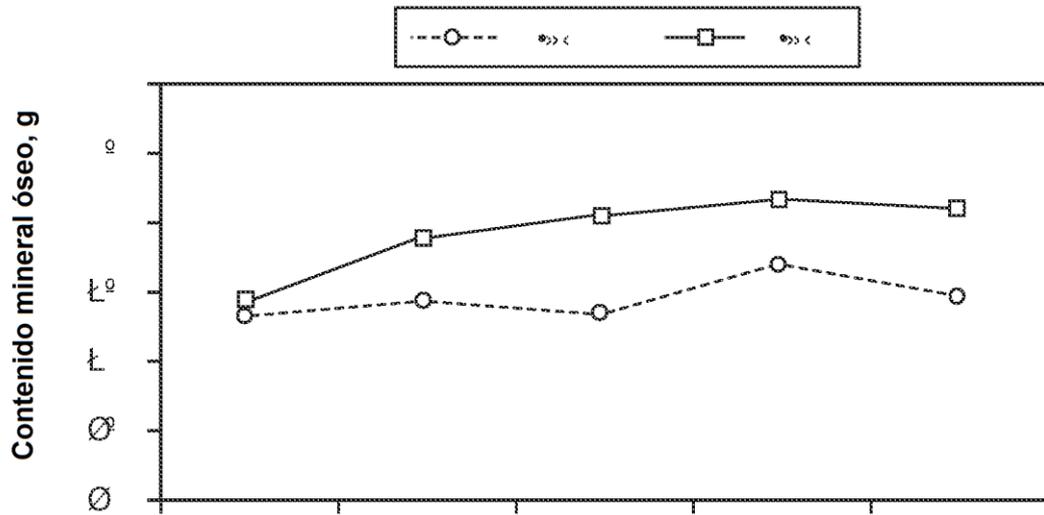


Fig. 5

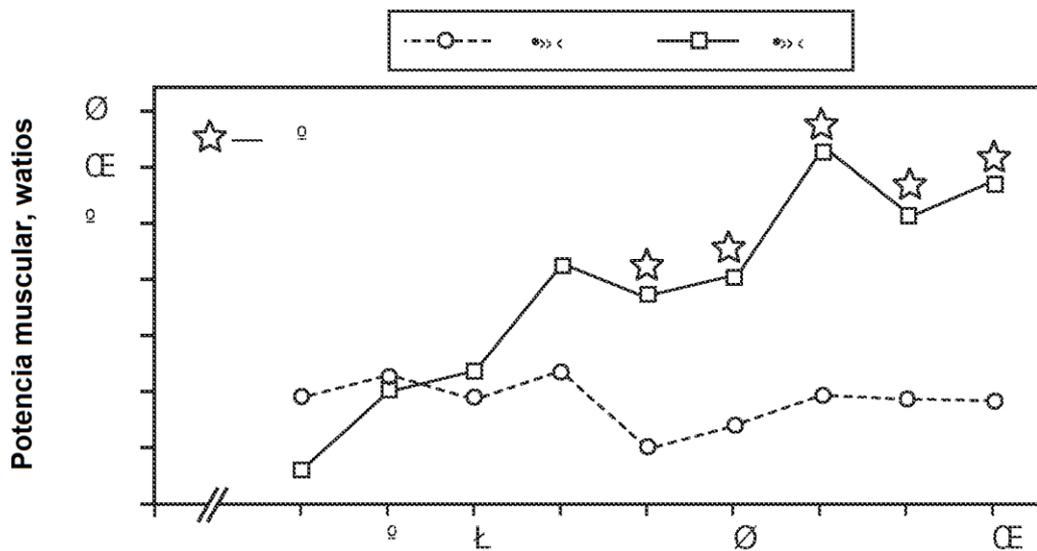


Fig. 6

• CE

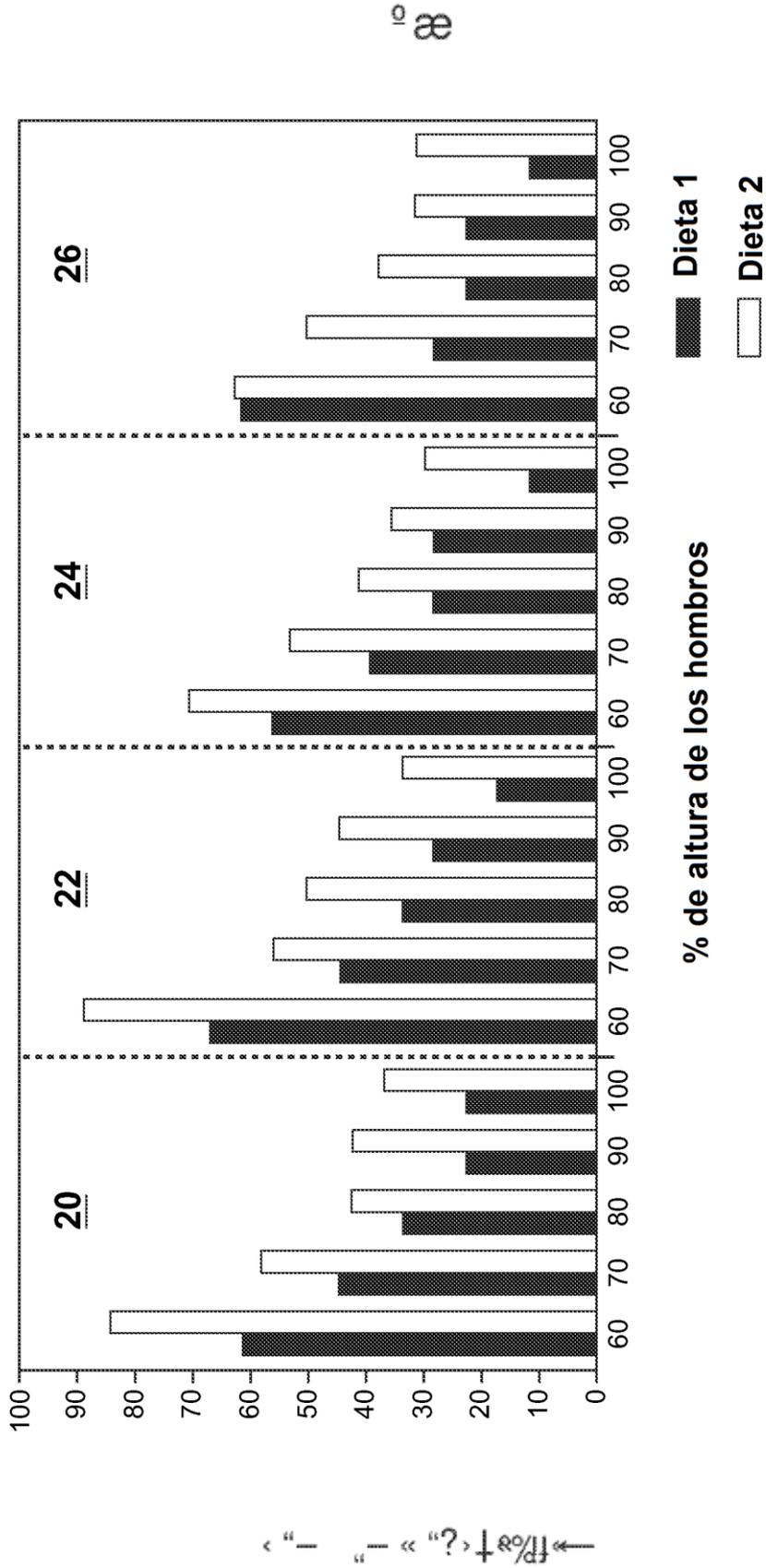


Fig. 7

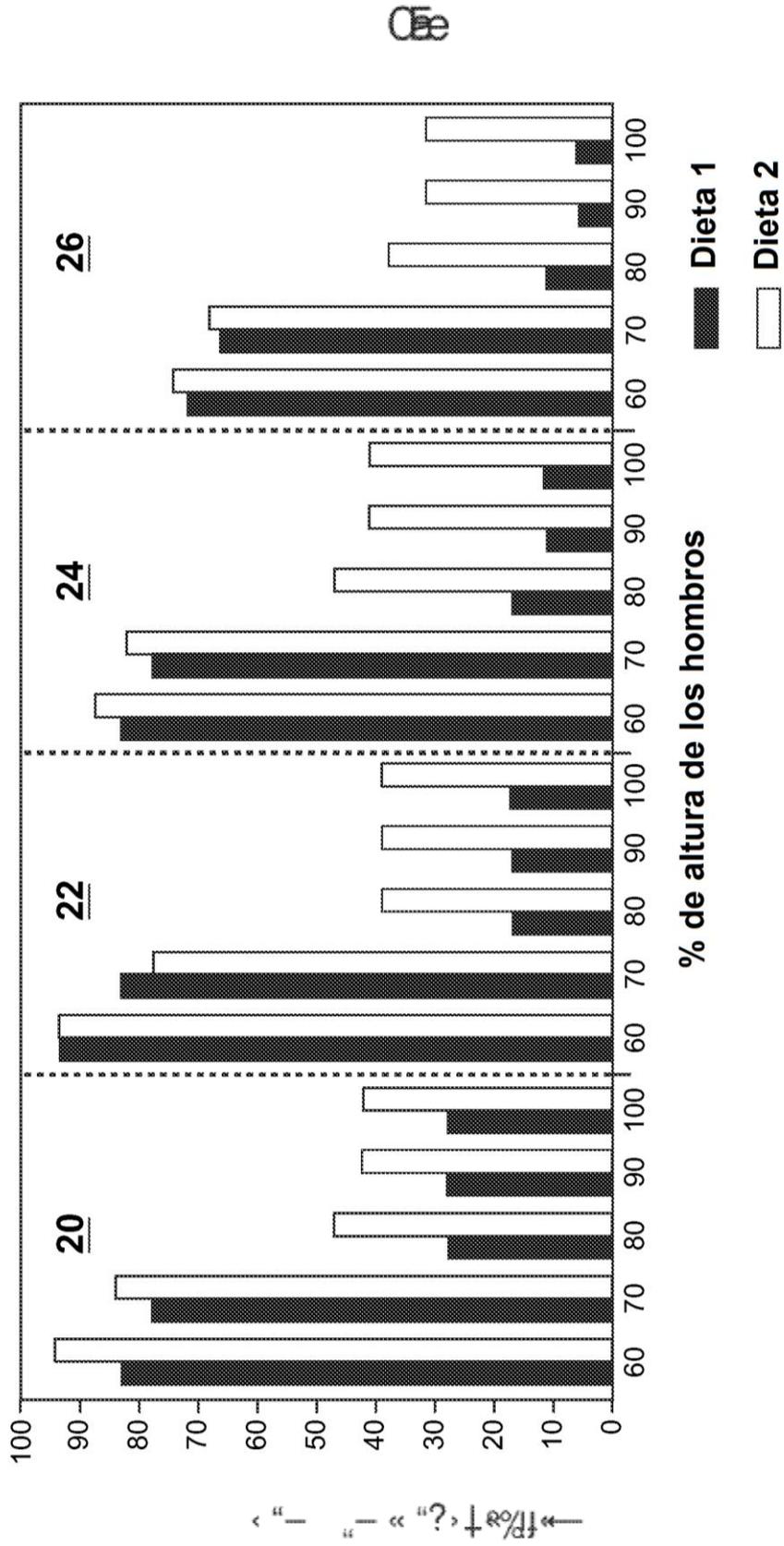


Fig. 8

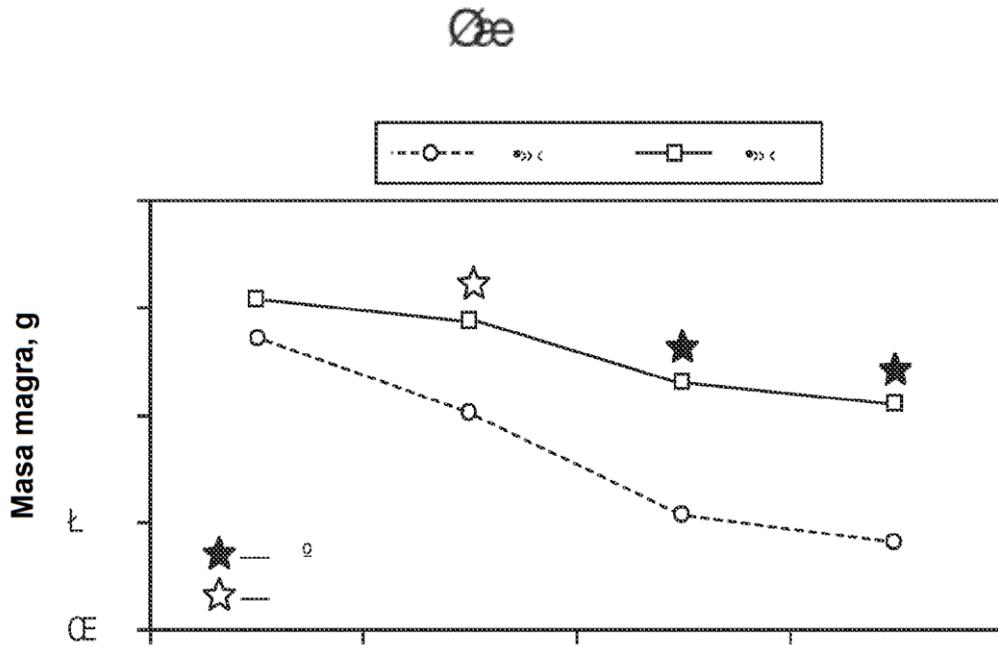


Fig 9

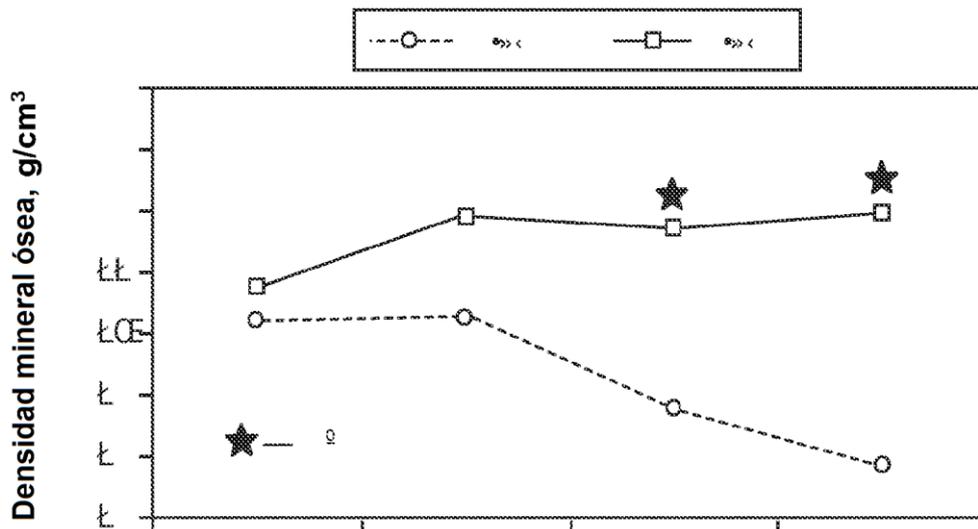


Fig. 10

Lae

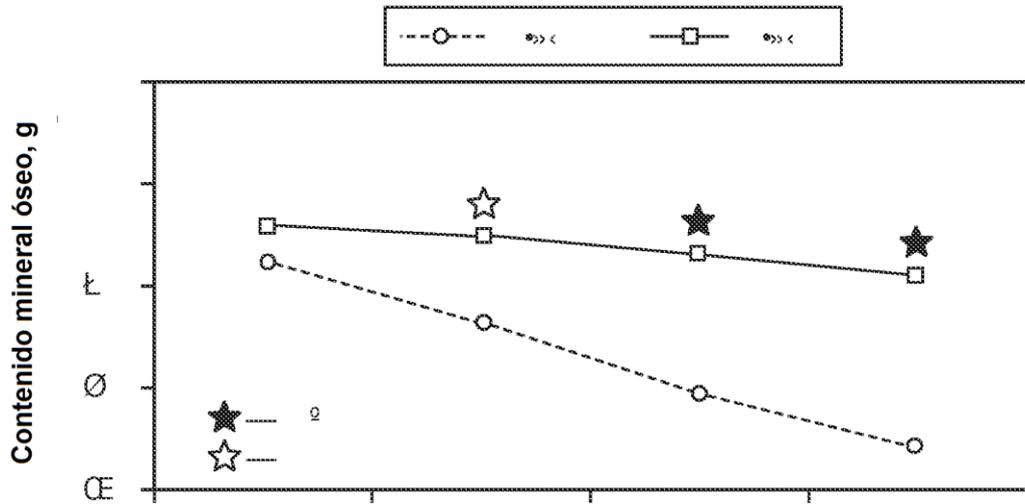


Fig. 11

”

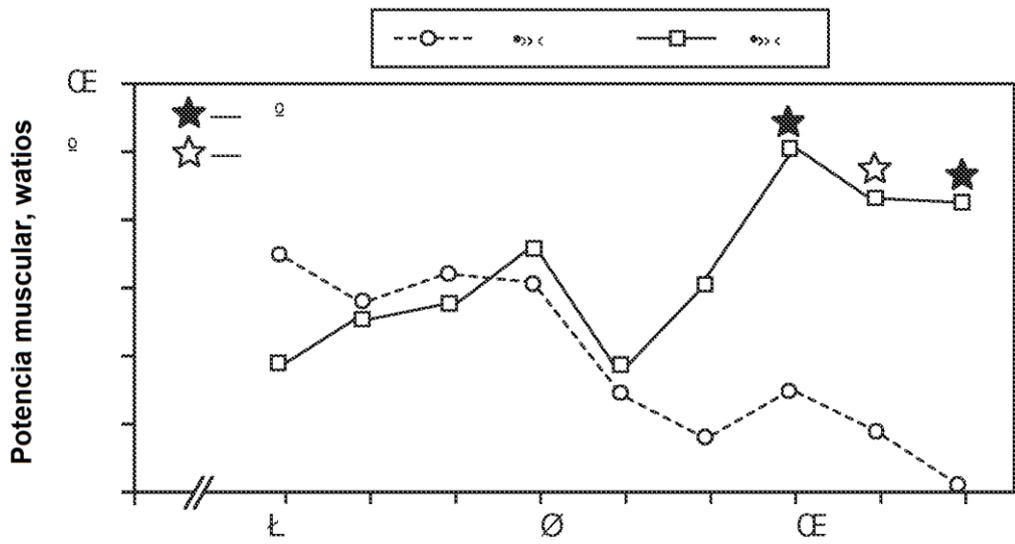


Fig. 12

”

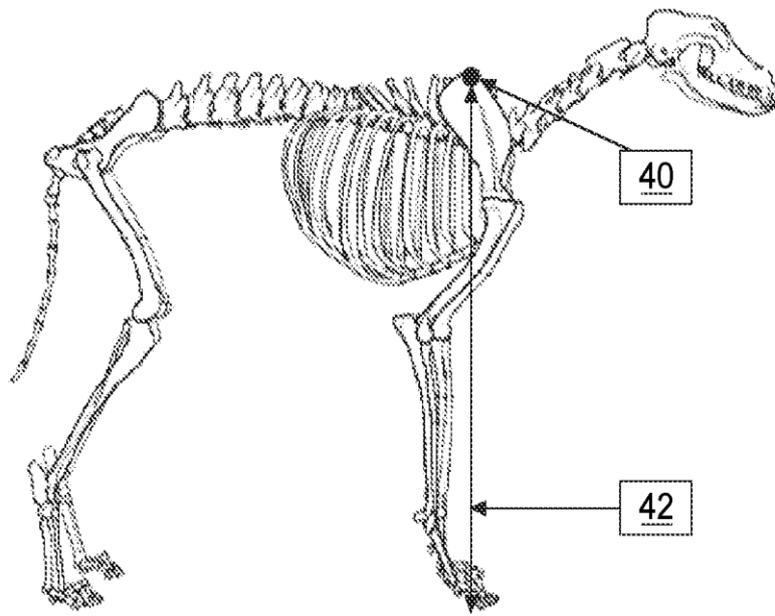


Fig. 15