

## **Efecto de la asociación de tres drogas en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca congestiva en perros con mixomatosis mitral**

Effect of the association of three drugs in the treatment of congestive heart failure in dogs with mitral myxomatosis

BUZZANO, O.<sup>1</sup>; GRAZIANO, A.<sup>1</sup>; BARRIOS, J.<sup>1</sup>; LIGHTOWLER, C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Cardiología. Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

### **RESUMEN**

Los autores estudiaron la respuesta de perros con distintos grados de insuficiencia cardiaca congestiva motivada por mixomatosis de la válvula mitral a la administración simultánea de tres drogas: espirolactona, benazepril y gluconato de magnesio.

Los pacientes estudiados (25) no habían recibido ninguna medicación a la fecha del inicio del estudio y la mencionada asociación se administró en dosis de 2 mg/kg; 0,25mg/kg y 7,5mg/kg respectivamente, cada 24 horas, por un período de cuatro meses.

Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente realizando prueba de normalidad Shapiro-Wilks, test de Wilcoxon e inferencia basada en dos muestras ("t" para muestras apareadas).

Los resultados obtenidos mostraron una mejoría clínica general, verificada por anamnesis y evaluación clínica, una mejoría en los parámetros electrocardiográficos y diferencias significativas en los valores de urea y creatinina, en el volumen regurgitante y en la tensión arterial sistólica y diastólica. No se observaron modificaciones de los parámetros ecocardiográficos bidimensionales estudiados.

Palabras clave: (Benazepril), (Espironolactona); (Aldosterona), (Perros)

Correspondencia *e-mail*: Carlos H. Lightowler MV olmo.fvet.uba.ar

Recibido: 30/08/2014

Aceptado: 05/09/2015

## SUMMARY

The authors studied the response in dogs with varying degrees of congestive heart failure due to myxomatous valve disease the simultaneous administration of three drugs: spironolactone, benazepril and magnesium gluconate.

The studied patients (25) hadn't received medication at the time of the first evaluation and that association was administered at dose of 2 mg / kg; 0.25 mg / kg and 7.5 mg / kg respectively every 24 hours for a period of four months.

The data obtained were processed statistically by performing test for normality (Shapiro-Wilks test and Wilcoxon) and inference based on two-sample ("t" for paired samples)

The results showed an overall clinical improvement, verified by history and clinical evaluation, improvement in ECG parameters and significant differences in serum urea and creatinine, in the regurgitate volume and systolic and diastolic blood pressure. No changes in two-dimensional echocardiographic parameters studied were observed.

Keywords: (Benazepril), (Spironolactone), (Aldosterone), (Dogs)

## INTRODUCCIÓN

Hace aproximadamente tres décadas, cuando se introdujo el concepto de la causa neurohormonal como parte de la génesis de la insuficiencia cardíaca<sup>1, 2</sup>, la terapéutica de la misma cambió radicalmente, introduciéndose nuevas drogas dirigidas fundamentalmente a controlar el sistema renina-angiotensina-aldosterona<sup>3</sup>.

El primer aporte al respecto consistió en la introducción de las drogas inhibidoras de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA)<sup>4, 5, 6</sup>, para posteriormente incluir los bloqueadores de los receptores de la angiotensina II<sup>7</sup>.

Si bien estas drogas han hecho un gran aporte al tratamiento de la insuficiencia cardíaca, su administración a largo plazo provoca el denominado "escape de aldosterona"<sup>8, 9</sup>. Esta sustancia, catalogada por sus efectos como una hormona mineralocorticoide<sup>10</sup>, también actúa en forma deletérea sobre el corazón insuficiente, estimulando la retención de sodio y fluidos, produciendo además disfunción endotelial, hipertrofia ventricular izquierda y fibrosis miocárdica<sup>11, 12, 13, 14, 15</sup>.

Se ha demostrado que tanto los inhibidores de la IECA como los bloqueadores de los receptores de la angiotensina II (AT1) bloquean efectivamente la secreción de la aldosterona producida por la glándula adrenal<sup>16</sup>, pero no aquella que es sintetizada por los endotelios y el músculo liso vascular, la cual se incrementa al tiempo del tratamiento continuo con las mencionadas drogas<sup>17</sup>.

Con el objeto de minimizar este fenómeno y evitar los ya mencionados efectos deletéreos de la aldosterona sobre el miocardio se desarrollaron los bloqueadores de los receptores de la aldosterona (BRA) siendo el primero en incorporarse a la terapéutica cardiológica la espironolactona<sup>18</sup>, droga creada por Cella y Kagawa hacia fines de la década del cincuenta<sup>16</sup>. Dicha droga fue probada inicialmente en pacientes humanos con insuficiencia cardíaca, clase III, en el estudio multicéntrico RALES<sup>19, 20</sup>, el cual fue finalizado prematuramente al comprobarse una significativa reducción de muertes en el grupo de pacientes que recibían espironolactona.

El objetivo del presente estudio fue estudiar el efecto de la asociación de tres drogas: un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina de última generación, el benazepril, un inhibidor de los receptores de aldosterona, la espirolactona y el magnesio como protector antiarrítmico.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue autorizado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación de la Facultad de Ciencias Veterinarias (CICUAL), a través del protocolo 2012/13.

Asimismo, como el estudio se realizó sobre pacientes ambulatorios atendidos en la Unidad de Cardiología del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA) no se empleó grupo control, dado que ello implicaba comprometer el estado clínico de los pacientes, situación reñida desde todo punto de vista con la ética y los principios generales del bienestar animal. Conceptualmente, cada paciente fue considerado control de sí mismo.

Fueron estudiados 25 perros en diversas situaciones clínicas de la enfermedad mixomatosa de la válvula mitral, con edades entre 8 y 13 años, machos y hembras y razas diversas.

Todos los pacientes incluidos fueron sometidos a una evaluación clínica exhaustiva, con particular énfasis en el aparato circulatorio. Se les efectuó un electrocardiograma de 6 derivaciones, un estudio ultrasonográfico (bidimensional y Doppler), una evaluación de la tensión arterial y determinaciones de laboratorio. Dichos estudios fueron realizados de la siguiente manera:

*-Evaluación clínica.* El criterio fundamental de inclusión fue la presencia de un soplo sistólico con epicentro en foco mitral, en meseta y propagación hacia la base cardíaca. La clasificación de la gravedad del cuadro se realizó de acuerdo a los grados establecidos por el ISACHC. (International Small Animal Cardiac Health Council)

*-Tensiometría.* Todos los animales fueron evaluados tensionalmente siguiendo los

lineamientos establecidos por el consenso del ACVIM<sup>21</sup>. Se tuvo particularmente en cuenta el número de determinaciones, las medidas del manguito, así como también las condiciones ambientales y el decúbito. Tanto en la primera consulta como en los sucesivos controles se realizaron siete mediciones por paciente, descartando las dos primeras por cada evaluación cardiológica. Se empleó un equipo oscilométrico marca DINAMAP, modelo Vital Signs monitor 8100, colocando el manguito sobre la arteria braquial

*-Electrocardiograma.* El estudio se realizó con los pacientes en decúbito lateral derecho, con calibración de 1mV= 1 cm y velocidad de 50 mm/seg. Se utilizó un electrofonocardiógrafo tricanal, marca Fukuda-Densi, modelo ECG/PHONO SYSTEM FD-31P y un electrocardiógrafo digital marca Temis, modelo TM 300V.

*-Ultrasonografía.* Todos los estudios se realizaron con los pacientes en estación y sin ninguna forma de sujeción química. En los estudios bidimensionales, se midieron los diámetros ventriculares (sistólico y diastólico), se calculó la relación atrioultica, el porcentaje de acortamiento fraccional y la fracción de eyección. Se estudió también el espesor parietal relativo y la masa miocárdica ventricular izquierda.

En los estudios Doppler se evaluaron los flujos transvalvulares, midiendo la velocidad pico de cada uno de los espectros encontrados. Se empleó, según las necesidades Doppler espectral pulsado, continuo y mapeo de flujo en color. Para la evaluación del volumen regurgitante de la insuficiencia mitral se utilizó la técnica de PISA.

Se empleó un ecógrafo marca Sonoscape, modelo S8 configurado con dos transductores phased-array multifrecuencia de 2,8 a 4 mHz y 4,5 a 6 mHz, respectivamente y un transductor microconvex multifrecuencia de 4 a 8 mHz.

*-Laboratorio.* Se realizaron, a cada paciente, determinaciones para el estudio de los perfiles renal (urea y creatinina), hepático (GOT, GPT, FAS), proteínas plasmáticas, albumina e ionograma sérico (P y K). Se utilizó un

doble juego de muestras que fue enviado a dos laboratorios distintos para su comparación.

Se concretó la inclusión definitiva de los pacientes en el presente estudio sobre la base del padecimiento de enfermedad mitral mixomatosa y el descarte de enfermedades concomitantes. Todos los pacientes fueron diagnosticados en la Unidad de Cardiología del Hospital Escuela (FAC-UBA); previamente no habían recibido ningún tipo de tratamiento cardiológico específico.

Una vez realizados los procedimientos enunciados precedentemente se prescribió la mezcla medicamentosa en forma de comprimidos compuestos por 20 mg de espirolactona, 2,5 mg de clorhidrato de benazepril y 75 mg de gluconato de magnesio, dosificando a los pacientes de tal manera que recibieran 2 mg, 0,25 mg y 7,5 mg de cada una de las drogas por kilo de peso vivo cada 24 horas.

Los distintos exámenes se repitieron mensualmente hasta completar cuatro meses de tratamiento, momento en que finalizó su participación en el presente estudio.

Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente realizando prueba de normalidad Shapiro-Wilks, test de Wilcoxon e inferencia basada en dos muestras ("r" para muestras apareadas) utilizando el software InfoStat, versión 2010.

## RESULTADOS

-*Clínica*: la referencia anamnésica indicó que el total de los pacientes incluidos en el estudio evidenció signos de mejoría clínica a la percepción de los propietarios.

Al examen clínico las modificaciones más significativas encontradas fueron la desaparición de la tos en algunos pacientes y una marcada disminución en los restantes pacientes que presentaron tos al inicio del protocolo.

Los pacientes que al comienzo del estudio presentaban disnea (en general leve), mostraron remisión en el curso del tratamiento.

-*Tensiometría*: el comportamiento de las determinaciones de presión sistólica (media: 136,73 mmHg) y posterior al mismo (media: 112,53 mmHg), y diastólica (media

pretratamiento: 95,86 mmHg y media postratamiento 79,86 mmHg), presentaron diferencias estadísticas significativas hacia la baja ( $p = < 0,05$  con i.c. 95%).

-*Electrocardiografía*: de los 25 electrocardiogramas iniciales ocho fueron normales, cuatro presentaron signos de sobrecarga del sector izquierdo, cuatro presentaron complejos prematuros supraventriculares y nueve complejos prematuros ventriculares unifocales. De estos, al final del estudio uno de los pacientes con complejos supraventriculares prematuros revirtió a ritmo sinusal y seis de los que presentaban complejos prematuros ventriculares también reconvirtieron a ritmo sinusal.

-*Ultrasonografía*: En la ecocardiografía bidimensional no se observaron cambios en los distintos parámetros estudiados a través de los cuatro meses de estudios, conservándose en todos los casos los valores determinados en la primoconsulta.

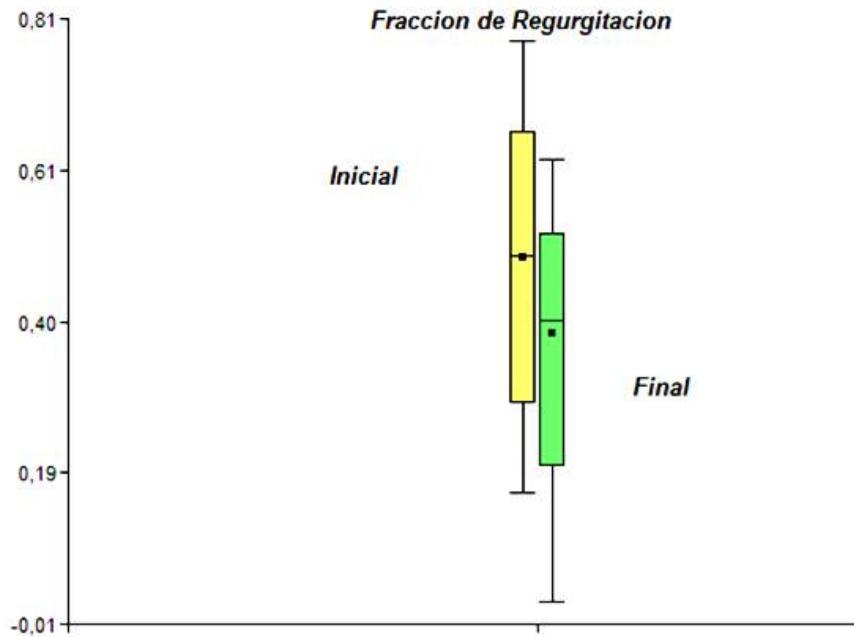
En los estudios Doppler se pudo comprobar el desarrollo de cambios hemodinámicos representados por la disminución de las presiones de llenado del ventrículo izquierdo y del volumen regurgitante hacia el atrio izquierdo (Figura 1).

*Laboratorio*: respecto de las variables estudiadas se observaron diferencias significativas ( $P = < 0,05$  con i.c. 95%) entre los valores de urea y creatinina iniciales (media: 56,33 mg; 1,48 g respectivamente) y los obtenidos al finalizar la experiencia (media: 43,66 mg; 1,04 g). No se observaron modificaciones en los parámetros hepáticos y el potasio se mantuvo durante toda la experiencia en valores normales.

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

La endocardiosis mitral mixomatosa es el padecimiento de mayor incidencia en la población canina de menos de 15 kilos de peso<sup>22, 23</sup>.

El tratamiento de dicha enfermedad ha variado ampliamente en el tiempo, fundamentalmente debido a los nuevos conocimientos de la fisiopatología de la enfermedad y el advenimiento de nuevas drogas<sup>24, 25</sup>.



**Figura 1.** El esquema de la izquierda corresponde a los valores de la fracción regurgitante obtenidos al inicio de estudio, realizado por la técnica de PISA. El esquema de la derecha corresponde a los valores al canzados al final del período de estudio. Las diferencias obtenidas son estadística-mente significativas ( $P < 0,0001$ )

Los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina se encuentran hoy incorporados definitivamente al tratamiento de la insuficiencia cardíaca en los perros<sup>24</sup>. Uno de sus representantes, el clorhidrato de benazepril, incluido en la mezcla probada, al ser ingerido es hidrolizado al principio activo (benazeprilato) que actúa inhibiendo en forma selectiva y potente la enzima convertidora de la angiotensina<sup>26, 27</sup>. El efecto beneficioso del benazepril se manifiesta mejorando las presiones de llenado ventricular en presencia de enfermedad mitral crónica, tanto en pacientes asintomáticos y normotensos como en aquellos que presentan incompetencia valvular severa con cierto grado de disfunción sistólica<sup>28</sup>.

El efecto alcanza su punto máximo entre las 2 a 4 horas post ingestión y perdura por 24 horas. Se une en alta proporción a las proteínas plasmáticas y es excretado vía biliar y urinaria. Es un compuesto bien tolerado, pudiendo ser utilizado en tratamientos prolongados. Este tipo de droga mejora los síntomas clínicos del paciente

por bloqueo inmediato del sistema nervioso autónomo y del eje Renina-Angiotensina-Aldosterona activado en cronicidad. En trabajos publicados sobre perros con endocardiosis mitral se ha demostrado que el uso de esta droga aumenta la sobrevida de los enfermos<sup>3, 29</sup>.

La espironolactona fue evaluada en humanos con probada eficacia como bloqueante selectivo de los receptores de la aldosterona, posibilitando así disminuir el efecto que aquella genera cuando es liberada a partir del endotelio y musculo liso vascular<sup>30</sup>. El mismo efecto se ha determinado en perros con insuficiencia cardíaca<sup>31, 32, 33, 34</sup>.

El denominado “escape de aldosterona” puede no solo inhibir los efectos benéficos de los IECA, sino acentuar los deletéreos, particularmente favorecer la fibrosis miocárdica, modificar el índice apoptótico del mismo, así como favorecer el incremento de la tensión arterial<sup>8</sup>.

La utilización conjunta de benazepril y espironolactona, permite controlar el escape de aldosterona inducido como consecuencia de la utilización prolongada del IECA<sup>8</sup>.

En el presente estudio se observó la reducción de la presión arterial con el uso conjunto de benazepril y espironolactona.

Se ha publicado en numerosos trabajos la acción profibrótica de la aldosterona sobre el intersticio miocárdico y el tejido perivascular<sup>11, 12, 13, 14</sup>. Esta acción es responsable de la pérdida de función miocárdica, la que se manifiesta clínicamente por la aparición de signos de insuficiencia cardíaca (edema pulmonar, síncope, ascitis, arritmias, etc.) demostrándose esta disfunción en estudios complementarios como el ecocardiograma y electrocardiograma. La consecuencia es el desarrollo de dilatación ventricular y aparición de cuadros arrítmicos<sup>29, 35</sup>.

Los resultados obtenidos indican que en el periodo del estudio (4 meses) no se modificaron los parámetros ecocardiográficos (función sistólica y cambios geométricos cardíacos), lo que permite suponer el efecto protector de la asociación utilizada respecto de la remodelación miocárdica.

Un dato significativo fue la reducción del volumen regurgitante (fracción regurgitante), hecho atribuible al efecto hipotensor potenciado por la asociación de ambas drogas. Esto es comprensible dado que la tensión arterial es uno de los componentes esenciales de la poscarga.

Es conocida la acción del magnesio en dosis terapéuticas como cardioprotector<sup>36, 37</sup>. Su utilización ha sido principalmente dirigida hacia el control de cuadros arrítmicos como la, fibrilación auricular, flutter y complejos prematuros ventriculares, taquicardia paroxística y particularmente en su forma de "torsión de puntas"<sup>38, 39, 40, 41, 42</sup>.

La fibrosis y la hipoxia miocárdica así como también la estimulación simpática son factores claves en el desarrollo de arritmias. Los pacientes estudiados que carecían de arritmias en los registros electrocardiográficos continuaron con ritmo sinusal normal. Por otra parte, los que manifestaban cuadros disrítmicos antes del inicio del tratamiento no los incrementaron o retornaron a ritmo sinusal, lo cual puede atribuirse tanto a la acción directa del magnesio como antiarrítmico como a una mejoría en la función ventricular como respuesta al tratamiento general instaurado.

Cabe aclarar que de los trece pacientes que presentaban arritmias al comienzo del estudio nueve revirtieron a ritmo sinusal y aquellos que mantuvieron la disritmia eran pacientes que presentaban grado III de insuficiencia cardíaca congestiva. Esto podría indicar la importancia de iniciar la terapia combinada precozmente.

Los análisis de laboratorio a las que fueron sometidas las muestras de sangre obtenidas, demostraron una disminución significativa en los valores de urea y creatinina séricas, sin presentar cambios en los niveles de potasio en sangre. Esto posibilita la prescripción en aquellos pacientes con afección renal y la seguridad en su utilización en aquellos nefrológicamente sanos.

Por otra parte es de destacar que las modificaciones en el tenor sanguíneo de potasio y el síndrome femeneizante<sup>19, 43, 44</sup> observado en el hombre, son las mayores contraindicaciones para el uso de la espironolactona.

El hecho de no haber encontrado modificaciones en los niveles de potasio en el presente estudio, no exime de la necesidad de realizar controles periódicos de dicho ion<sup>45</sup>.

Asimismo la posibilidad de medicar a los pacientes cada 24hs con un solo comprimido, favorece la prosecución del tratamiento por parte de los propietarios, siendo este un aspecto de importancia relevante en los resultados a largo plazo.

Concluyendo, la utilización conjunta de los principios activos mencionados mejora el gasto cardíaco, disminuyen la fibrosis miocárdica y el remodelado patológico, presenta efecto vasodilatador arterial y venoso, disminuye la retención de agua y sal, aportando beneficios a la función renal y readaptan el status frente a la clasificación de la insuficiencia cardíaca.

## AGRADECIMIENTO

El presente estudio forma parte del Proyecto de investigación Aprobado y Subsidiado por la Secretaria de CyT de la Universidad de Buenos Aires. Programación Científica 2011-2014.

Se agradece al Laboratorio KUALKOS la provisión de las drogas y la confección de la forma medicamentosa utilizada en el presente estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Fyhrquist, F; Saijonmaa, O. – Renin-angiotensin system revisited. *J Int Med.* 2008, (264):224-236.
2. Watkins, L.; Burton, J.A.; Haber, E. *et al* – The renin-angiotensin-aldosterone system in congestive failure in conscious dogs. *The J of Clin Invest.* 1976, (57):1606-1617
3. Mochel, J.P.; Peyrou, M.; Fink, M. *et al* – Capturing the dynamics of systemic Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS) peptides heightens the understanding of the effect of benazepril in dogs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 2012 (36):174-180
4. Toutain, P.L.; Lefebvre, H.P. – Pharmacokinetics and pharmacokinetic / pharmacodynamics relationships for angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004 (27):515-525.
5. Brands, M.W.; Magdalena, A.G.; Mizelle, H.L. *et al* – Chronic angiotensin-converting-enzyme inhibition improve cardiac output and fluid balance during heart failure. *Am J Physiol.* 1993 (264):414-422.
6. Lefebvre, H.P.; Brown, S.A.; Chetboul, V. *et al* – Angiotensin-converting enzyme inhibitors in veterinary medicine. *Curr Pharm Des.* 2007, (13):1347-1361.
7. Burnier, M.; Brunner, H.R. – Angiotensin II receptor antagonist. *The Lancet.* 2000, 355(9204):637-645
8. Pitt, B. – “Escape” of aldosterone production in patients with left ventricular dysfunction treated with an angiotensin converting enzyme inhibitor: implication for therapy. *Cardiovasc Drug Ther.* 1995 (9):145-149
9. MacFadyen, R.J.; Lee, A.F.; Morton, J.J. *et al* – How often are angiotensin II and aldosterone concentrations raised during chronic ACE inhibitor treatment in cardiac failure?. *Heart.* 1999, (82):57-61.
10. Tan, L.B.; Schlosshan, D.; Barker, D. – Fiftieth anniversary of aldosterone: from discovery to cardiovascular therapy. *Int J Cardiol,* 2004, (96):321-333
11. Shieh, F.K.; Kotlyae, E.; Sam, F. – Aldosterone and cardiovascular remodeling: focus on myocardial failure. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2004 (5):3-13
12. Struthers, A.D.; MacDonald, T.M. – Review of aldosterone and angiotensin II-induced target organ damage and prevention. *Cardiovas Res.* 2004, (61):663-670.
13. Funder, J.W.; The role of aldosterone and mineralocorticoid receptor in cardiovascular disease. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2007, (7):151-157.
14. Brilla, C.G.; Matsubara, I.S.; Weber, K.T.- anti-aldosterone treatment and prevention of myocardial fibrosis in primary and secondary hyperaldosteronism. *J Mol Cell Cardiol.* 1993 (25):563-575
15. Edelmann, F; Schmidt, A.G.; Gelbrich, G. *et al* – Rationale and design of the “aldosterone receptor blockade in diastolic heart failure” trial: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel group study to determine the effects of spironolactone on exercise capacity and diastolic function in patients with symptomatic diastolic heart failure (Aldo-DHF). *Eur J Heart Fail.* 2010, (12):874-882.
16. Nagarajan, V.; Chamsi-Pasha, M.; Tang, W. – The role of aldosterone receptor antagonists in the management of heart failure: an update. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* 2012. 79(9)631-639
17. Weber, T.K. Aldosterone in congestive heart failure. *N Engl J Med.* 2001, (345):1689-1697
18. Rocha, r.; Williams, G.H. – Rationale for the use of aldosterone antagonists in congestive heart failure. *Drugs.* 2002. (62):723-731
19. Pitt, B; Zannad, F; Remme, W.J. *et al* – The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigator. *New Eng J of Medicine.* 1999, (341):709-717
20. Zannad, F; Alla, F; Dousset, B. *et al* – Limitation of excessive extra-cellular matrix turnover may contribute to survival benefit of spironolactone

- therapy in patients with congestive heart failure: insights from the randomized aldactone evaluation study (RALES). *Circulation*. 2000 (102):2700-2706
21. Brown, S.; Atkins, R.; Bayley, A. *et al* – Guidelines for the identification, evaluation and management of Systemic Hypertension in Dogs and Cats. ACVIM Consensus Statement. 2007, *J Vet Intern Med* (21):542-588
  22. Buchanan, J.W. Chronic Valvular disease (endocardiosis) in dogs. *Adv Vet Sci Comp Med J Vet Cardiol* 2004 (6):6-7
  23. Borgarelli, M.; Savarino, P.; Crosara, S. *et al*- Survival characteristic and prognosis variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease *J Vet Intern Med*. 1008 (22):120-128
  24. Atkins, C.; Bonagura, J.; Ettinger, S. *et al.* – Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Canine Chronic Valvular Heart disease. ACVIM Consensus Statement. 2009. *J Vet Intern Med* (23):1142-1150
  25. Guglielmini, C. – Cardiovascular diseases in the ageing dog: diagnostic and therapeutic problems. *Veterinary Research Communications*. 2003. (27-Suppl):555-560.
  26. King, J.N.; Mauron, C.; Kaiser, G. – Pharmacokinetics of the active metabolite of benazepril, benazeprilat, and inhibition of plasma angiotensin-converting enzyme activity after single and repeated administration to dogs. *Am J Vet Res*. 1995 (56):1620-1628.
  27. Pouchelon, J.L.; Jamet, N.; Gouni, V. *et al* – Effect of Benazepril on Survival and Cardiac Events in Dogs with Asymptomatic Mitral Valve Disease: A retrospective Study of 141 cases. *J Vet Int Med* 2008. (22):905-914
  28. The BENCH Study Group. The effect of benazepril on survival times and clinical signs of dogs with congestive heart failure. Results of a multicenter, prospective, randomized, double-blinded, placebo-controlled, long-term clinical trial. *J Vet Cardiol*. 1999 (1):7-18
  29. Bernay, F.; Bland, J.M.; Haggstrom, J. *et al* – Efficacy of Spironolactone on Survival in Dogs with naturally Occurring Mitral Regurgitation Caused by Myxomatous Mitral Valve Disease. 2010. *J.Vet. Intern. Med.* (24): 331-341
  30. Albert, N.M.; Yancy, C.W., Liang, L. *et al* – use of aldosterone antagonists in heart failure. *JAMA*. 2009, (302):1658-1665.
  31. Guyonnet, J.; Elliot, J.; Kaltsatos, V. – A preclinical pharmacokinetics and pharmacodynamics approach to determine a dose of spironolactone for treatment of congestive heart failure in dog. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 2009. (33):260-267
  32. Elliot, J.; Guyonnet, J.; Kaltsatos, V.- Experimental studies of the pharmacology of spironolactone in dogs. *Proceedings of 18<sup>th</sup> ECVIM Congress. Ghent, 2008*
  33. Jeunesse, E.; Woehrle, F.; Schneider, M. *et al* – Effect of spironolactone on diuresis and urine sodium and potassium excretion in healthy dogs. *J Vet Cardiol*. 2007 (9):63-68
  34. Balikian, H.M. – Metabolism of aldosterone by the splanchnic organs of the dog. *Endocrinology*. 1971, (89):1309-1316
  35. Ramires, F.J.; Mansur, A.; Coelho, O. *et al* – Effect of spironolactone on ventricular arrhythmias in congestive heart failure secondary to idiopathic dilated or ischemic cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2000, (85):1207-1211.
  36. McCully, J.D.; Levitsky, S.- Mechanisms of in vitro cardioprotective action of magnesium on aging myocardium. *Magnesium Research*. 1997, 10(2):157-168
  37. Arsenian, M.A. –Magnesium and cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis*. 1993, (4):271-310
  38. Maurat, J.P. – Magnesium and arrhythmia. *Archives des maladies du Coeur et des Vaisseaux*. 1984 (77):49-52
  39. Tzivoni, D.; Banai, S.; Schuger, C. *et al* – Treatment of torsade de pointes with magnesium sulfate. *Circulation*, 1988 (77):392-397
  40. Roden, D.M. - Magnesium treatment of ventricular arrhythmias. *Am J Cardiol* 1989 (14):43-46

41. Dyckner, T.C.; Wester, P.O. – Relation between potassium, magnesium and cardiac arrhythmias. *Acta Med. Scandinava*. 1981, (S647).163-169
42. Enselberg, C.D., Simmons, H.G.; Mintz, A.A. – The effects of magnesium upon cardiac arrhythmias. *Am Heart J*. 1950 (5):703-712
43. Thomason, J.D.; Rockwell, J.E.; Fallaw, T.K. *et al*- Influence of combined angiotensin-converting enzyme inhibitors and spironolactone on serum K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> and Na<sup>+</sup> concentration in small dogs with degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol*. 2007; (22):561-565.
44. Sica, D.A. – The risks and benefits of therapy with aldosterone receptor antagonist therapy. *Curr Drug Saf*. 2007 (2):71-77.
45. Shah, K.B.; Rao, K. Sawyer, R. *et al* – The adequacy of laboratory monitoring in patients treated with spironolactone for congestive heart failure. *J Am Col Cardiol*. 2005, (46):845-849.

