

# Prueba de marcha de seis minutos en pacientes caninos con enfermedad valvular crónica en gran altura

Martín, E.I.<sup>1</sup>; Sánchez, M.J.<sup>1</sup>; Vargas, P.P.<sup>1,2</sup>

Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup>Autor responsable: Email: pavargas@unisalle.edu.co

## Resumen

**Martín, E.I.; Sánchez, M.J.; Vargas, P.P.: Prueba de marcha de seis minutos en pacientes caninos con enfermedad valvular crónica en gran altura.** *Rev. Vet. 33: 1, 94-98, 2022.* El objetivo del presente estudio fue reconocer la relación de las variaciones en las concentraciones de lactato plasmático y de presión arterial en pacientes caninos con enfermedad cardíaca valvular crónica, sometidos a la prueba de marcha de 6 minutos en condiciones de gran altura (2650 msnm). Siete animales fueron seleccionados y se diagnosticaron a través del Servicio de Cardiología de la Clínica Veterinaria de la Universidad de la Salle, siendo clasificados como pacientes en estadio B2 según la clasificación del Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria (*ACVIM por su sigla en inglés*). Se compararon las mediciones de la presión arterial y lactato plasmático antes y después de la prueba de 6 minutos WT. Se encontró una distancia recorrida promedio de 356.14 +/- 92.13 metros, la cual es considerablemente menor a distancias reportadas en pacientes sanos bajo las mismas condiciones medioambientales. Asimismo, se observó una reducción en la presión arterial sistólica posterior a la prueba de marcha (112.71 +/- 31.83 mmHg) comparada con los valores iniciales (132.14 +/- 26.67 mmHg)  $p < 0.05$ . Esto sugiere la presentación de un fenómeno de hipotensión post ejercicio de la cual hasta ahora no se han encontrado muchos reportes en la especie canina.

**Palabras clave:** perro, prueba de marcha, degeneración mixomatosa, altitud, hipoxia hipobárica.

## Abstract

**Martín, E.I.; Sánchez, M.J.; Vargas, P.P.: Test from march of six minutes in canine patients with illness chronic valve in great height.** *Rev. Vet. 33: 1, 94-98, 2022.* The objective of the present study was to recognize the relationship between the variation in plasma lactate concentrations and the arterial pressure of canine patients with chronic valvular heart disease undergoing the 6-minute walk test in high altitude conditions (2650 m.a.s.l.). Seven animals were selected and diagnosed at the cardiology service of the Veterinary Clinic of the University of La Salle, being classified as stage B2 patients according to the classification of the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM). Lactate concentration and blood pressure were compared before and after the 6 minutes WT. An average distance walked of 356.14 +/- 92.13 meters was found, which is considerably less than the distances reported in healthy patients under the same environmental conditions. Likewise, a reduction in systolic blood pressure was observed after the walk test (112.71 +/- 31.83 mmHg) compared to the initial values (132.14 +/- 26.67 mmHg)  $p < 0.05$ . This suggests the presentation of a post-exercise hypotension phenomenon of which so far not many reports have been found in the canine species.

**Key words:** dog, walk test, myxomatous degeneration, altitude, hypobaric hypoxia.

## INTRODUCCIÓN

Una de las alteraciones más comunes encontradas en pacientes caninos cardiopatas es la enfermedad cardíaca valvular crónica (ECVC), de la que se ha reportado una prevalencia de hasta 75-80%. Se desarrolla principalmente en razas de menor tamaño, especialmente *Cavalier King Charles spaniel*, *Dachshund sp*, *Poodle miniatura* y *Yorkshire terrier* de edad avanzada<sup>4, 5, 17</sup>.

Esta patología es definida como una alteración estructural, tanto macroscópica como microscópica, a nivel principalmente de las valvas, a partir de la inducción de defectos en el tejido conectivo y destrucción del colágeno asociado a una precipitación y acúmulo de muco polisacáridos en la capa esponjosa y fibrosa, lo que genera una alteración estructural y consecuente aberración en el movimiento de las valvas que impide el cierre hermético de la cámara cardíaca<sup>19</sup>.

Como consecuencia de esto se produce regurgitación mitral que lleva a un aumento en el volumen de precarga en el ventrículo y dilatación de éste, lo cual reduce el gasto cardiaco y a partir de esto se desarrolla falla cardiaca.

Este fenómeno es compensado inicialmente gracias a la activación del sistema simpático y del sistema renina angiotensina aldosterona, que lleva a la variación del volumen sanguíneo mediado por el incremento de la retención de agua y sodio por parte del riñón, pero a largo plazo este proceso genera vasoconstricción sistémica y desarrollo de congestión y edema pulmonar.

Este proceso a largo plazo afecta la oxigenación tisular sistémica, favoreciendo la inducción de metabolismo anaeróbico y el desarrollo de procesos de hiperlactatemia secundaria<sup>3, 12, 22, 23</sup>.

Adicionalmente a esta patología, los pacientes que viven en condiciones de gran altura, las cuales son todas aquellas locaciones que están por encima de los 1500 msnm<sup>8, 20</sup>, como lo es la ciudad de Bogotá (2650 msnm), pueden verse influenciados por un efecto de hipoxia hipobárica.

En la especie humana se reporta que este efecto induce una respuesta neurohumoral dependiente de catecolaminas, que desencadena mecanismos de compensación respiratoria con hiperventilación, buscando reducir las concentraciones sanguíneas de CO<sub>2</sub>. Adicionalmente, se generan respuestas hematopoyéticas que llevan al incremento en los recuentos de células eritrocitarias para mejorar el potencial de transporte de oxígeno a los tejidos<sup>16</sup>.

En caninos, este tipo de fenómenos adaptativos no han sido claramente descritos, sin embargo se ha reportado la inducción de hipertensión pulmonar en caninos de diferentes razas aclimatados a condiciones de altura desde los 2300 msnm<sup>10, 11, 13</sup>.

Durante los últimos años la búsqueda de indicadores pronósticos de calidad de vida de este tipo de pacientes, ha llevado a la implementación de métodos de evaluación dinámicos complementarios.

La prueba de marcha de seis minutos (6MWT) fue desarrollada en 1985 por *Guyatt et al.*<sup>15</sup>, surgiendo como respuesta a la necesidad de simplificar pruebas de condicionamiento físico de máximo esfuerzo cardiovascular, como la prueba de Cooper, con el objetivo de reducir la cantidad de equipos necesitados, que no generen situaciones de riesgo físico y que no necesiten un entrenamiento previo, pero que a su vez permitan simular los esfuerzos físicos cotidianos de los pacientes.

El primer estudio que reporta el uso de esta prueba en perros fue realizado por *Boddy y otros*, en 2004. Posteriormente se implementó la prueba en pacientes caninos con patologías respiratorias<sup>24</sup>, cardiacas<sup>1</sup> y musculares<sup>7</sup>.

Adicionalmente esta prueba se ha aplicado en condiciones de gran altura, en estudios realizados para establecer los resultados de pruebas aplicados en caninos de competencia por *Vargas PP*, así como la implementación en pacientes con hipertensión pulmonar en don-

de se evaluó la eficacia de la terapéutica instaurada con sildenafil<sup>27</sup>.

Uno de los puntos a considerar sobre el uso de esta prueba en pacientes con enfermedad valvular, es su seguridad. Este interrogante nace de las diferencias que existen en las respuestas fisiológicas observadas entre animales sanos y enfermos a nivel del mar y en altura. Estas diferencias han sido relacionadas especialmente con aumentos de la frecuencia cardiaca.

Es importante entonces, establecer si la prueba es segura para pacientes con insuficiencia valvular mitral en condiciones de altura y que deban ser sometidos a ésta de manera periódica para evaluar su progreso con la terapéutica administrada.

El objetivo de este estudio fue establecer las distancias recorridas por este tipo de pacientes en condiciones de gran altura, describir las variaciones en las concentraciones de lactato plasmático y de presión arterial en pacientes con enfermedad cardiaca valvular crónica, mediada por degeneración valvular mixomatosa mitral sometidas a la prueba de marcha de seis minutos con el objetivo de determinar el estado físico de estos pacientes así como establecer la seguridad de la prueba.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Diseño del estudio y animales

El estudio fue diseñado como un ensayo clínico observacional prospectivo. Los animales ingresados pertenecían a la población de pacientes de la Clínica Veterinaria de la Universidad de La Salle atendidos en el periodo comprendido entre septiembre de 2019 y marzo de 2020. Para el ingreso al estudio todos los propietarios de los pacientes fueron informados y accedieron a la inclusión de los animales con la firma de consentimiento, donde se detallan los procedimientos a realizar que habían sido previamente aprobados por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de La Salle.

### Población

La población específica fueron caninos diagnosticados con degeneración valvular mixomatosa mitral, atendidos por la Unidad de Cardiología de la Clínica Veterinaria mediante examen clínico general y especializado, ecocardiografía y electrocardiografía en caso de ser necesario. Todos los pacientes del estudio al ser evaluados fueron clasificados como clase B2 según la clasificación del consenso para el diagnóstico y tratamiento de enfermedad valvular mixomatosa en perros del Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria (ACVIM por sus siglas en inglés)<sup>17</sup>, con la cual se indica que los pacientes a pesar de ser asintomáticos ya revelan alteraciones de remodelación miocárdica aunque en el momento de ser realizado el estudio no se encontraban recibiendo ninguna medicación por hallarse apenas en manejo diagnóstico de su condición.

## Período

En el periodo de tiempo evaluado se encontraron siete animales que pudieron ser ingresados como pacientes del estudio. Los pacientes presentaron un promedio de edad de 10,8 años y un peso promedio de 8,1 kg. Se incluyeron 5 hembras y 2 machos siendo la raza Poodle predominante con 3 individuos, 2 Schnauzer y 2 pacientes mestizos. El proceso de evaluación físico se realizó en un plazo no superior a una semana de diagnóstico y estadiado el paciente.

## Recolección de datos

Una vez que el paciente se encontraba tranquilo en el lugar donde se realizaría la prueba, se le verificaban los datos de frecuencia cardiaca y presión arterial por medio de un sistema convencional oscilométrico no invasivo (*SunTech Vet20 Veterinary BloodPressure Monitor*®) apoyados en el uso de mangos inflables definidos en talla por el 40% del área del miembro donde se colocaba, en el caso particular en el miembro anterior derecho a la altura del tercio medio del antebrazo, con el fin de lograr la obliteración de la arteria radial y poder realizar mediciones secuenciadas de presión arterial sistólica, diastólica y media.

## Toma de muestras

Inmediatamente terminada la medición de la presión arterial, se procedía a la toma de la muestra por medio de punción directa de la vena yugular derecha para medición de lactato plasmático, el cual fue evaluado directamente por medio del sistema *Accutrend Plus*® de Laboratorios Roche.

## Caminata de seis minutos

Para la realización de la caminata se escogió un corredor al aire libre, techado, de 37,8 metros, ubicado en el centro de exposiciones de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de La Salle. Este espacio se encontraba desolado al momento de realizar la prueba, por lo cual no ofrecía ningún tipo de distracción u obstáculo para que el paciente pudiera desarrollar la prueba sin inconvenientes. La caminata fue realizada junto con el propietario del paciente, quien había sido previamente instruido para que intentara emular las condiciones de velocidad y ritmo continuo de una caminata típica del animal, aunque en caso de que fuera requerido por el paciente, también fuera posible permitirle pausas o descansos cortos (aunque ninguno de los pacientes lo requirió). El tiempo fue controlado de manera digital y una vez terminado éste, se procedía al marcaje de la pista para poder realizar la medición de la distancia final y también una vez terminada la prueba física se tomaban nuevas mediciones de presión arterial y lactato sanguíneo, en la misma secuencia descrita anteriormente.

## Análisis estadístico

Una prueba no paramétrica de rango signado o *test de Wilcoxon* fue aplicada para relacionar las medianas

de los valores de frecuencia cardiaca, presión arterial y lactato en descanso y posteriores a la caminata. Para el análisis se consideró un resultado estadísticamente significativo encontrar un valor  $p < 0,05$ . Los resultados de distancia total recorrida y su correlación con los cambios significativos que presenten las variables evaluadas, fueron correlacionados a partir de la aplicación de una prueba de correlación de coeficientes (*prueba de Spearman*).

## RESULTADOS

### Distancia recorrida

En todos los casos los animales pudieron completar el tiempo requerido de caminata sin presentar alteraciones ni evidencia de afecciones que les dificultaran su cumplimiento. El promedio de la distancia recorrida fue de 356,14 +/- 92,13 metros. No se encontró correlación estadística entre la distancia recorrida y la presión arterial o lactato posteriores al ejercicio.

### Presión arterial

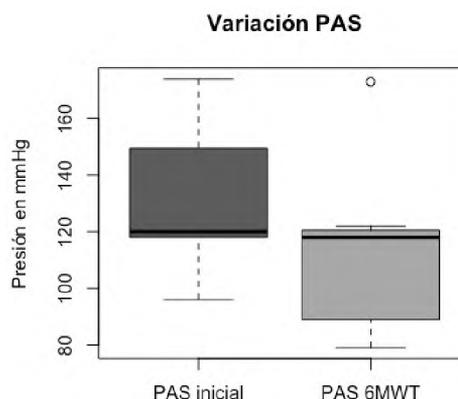
Los pacientes presentaron una presión arterial sistólica promedio basal de 132,14 +/- 26,67 mmHg. Una vez completada la prueba se encontró una reducción a 112,71 +/- 31,83 mmHg,  $p < 0,05$  (Gráfico 1). Los demás valores de presión arterial media ( $p = 0,33$ ) y diastólica ( $p = 0,43$ ) no reportaron variación en sus mediciones con la aplicación de la prueba de marcha.

### Lactato

Los resultados del lactato antes y después de la prueba revelaron una hiperlactatemia en los pacientes seleccionados, con un promedio en reposo de 3,19 mmol/L y de 3,0 mmol/L una vez realizada la prueba, sin que esta variación representara una diferencia significativa ( $p = 0,47$ ) en los valores antes y después de realizar la prueba 6MWT (Tabla 1).

### Frecuencias cardiaca y respiratoria

En promedio no se observaron variaciones en las mediciones de frecuencia cardiaca antes y después de



**Gráfico 1.** Variación de la presión arterial sistólica (PAS inicial) antes y después de la prueba de marcha de 6 minutos (PAS 6MWT).

**Tabla 1.** Valores promedio de la presión arterial sistólica, media y diastólica, frecuencia cardíaca y de mediciones de lactato antes y después de la prueba de marcha de seis minutos (6MWT)

mediciones	en descanso	post 6MWT	p-valor
PAS (mmHg)	132,14 +/- 26,67	112,71 +/- 31,83	0,04215
PAM (mmHg)	95,42 +/- 17,15	92,57 +/- 27,93	0,7353
PAD (mmHg)	84,71 +/- 15,68	85,85 +/- 24,32	0,8658
FC (ppm)	118,14 +/- 32,91	120,0 +/- 18,24	0,6121
lactato (mmol/L)	3,18 +/- 0,63	3,15 +/- 0,69	0,9325

la prueba y la mayoría de los pacientes, aunque se presentaban aparentemente tranquilos antes de la prueba, desarrollaron un jadeo persistente que hizo que no fuera cuantificable la frecuencia respiratoria en los mismos una vez terminada la prueba.

## DISCUSIÓN

Las pruebas de esfuerzo submáximo permiten su aplicación en pacientes con distintas patologías, ofreciendo el mínimo de invasividad y riesgo para los pacientes estudiados<sup>29</sup>. En condiciones de gran altura se han descrito distancias de  $537,4 \pm 123,8$  metros para caninos sanos de distintas razas y edades<sup>28</sup>.

En el presente estudio se incluyeron animales clasificados B2 para su grado de afección valvular cardíaca<sup>17</sup>, se estableció una distancia considerablemente menor de  $356,14 \pm 92,13$  metros la cual es incluso comparable con las distancias recorridas por pacientes en estadio C en un estudio realizado previamente sobre el nivel del mar<sup>1</sup>.

Se ha presentado un giro respecto de la interpretación del lactato como unidad funcional energética a nivel miocárdico incluso bajo condiciones inducidas por ejercicio con metabolismo aeróbico activo<sup>2</sup>, que han sido corroboradas con revisiones de literatura posteriores<sup>6</sup>.

Sin embargo en pacientes caninos con patologías concomitantes se mencionan alteraciones referentes a las concentraciones de lactato en animales sometidos a pruebas físicas de alta intensidad<sup>21,22</sup>, pacientes con grados avanzados de enfermedad cardíaca<sup>12</sup>, así como en condiciones críticas de urgencia<sup>23</sup>. En todos los casos, valores de referencia propios de cada institución revelaron hiperlactatemias en altos porcentajes de los pacientes evaluados.

En el presente estudio se encontraron valores de lactato comparativamente mayores considerando la estadificación de nuestros pacientes que los caracterizaba como asintomáticos, por lo que inferimos que la manifestación exacerbada de este hallazgo puede representar no solo alteraciones propias de la condición cardíaca si no quizás de una posible co-morbilidad favorecida por la influencia de fenómenos de hipoperfusión tisular de oxígeno, propia de habitantes residentes a grandes alturas<sup>16</sup>. Sin embargo queda reservada la posibilidad de plantear estudios posteriores que clarifiquen la rela-

ción de las concentraciones alteradas de lactato y su correlación con el metabolismo en tejidos como el miocardio, de pacientes cardiopatas o con otras patologías.

En el caso de los pacientes que presentan enfermedad cardíaca y remodelación propia que la patología induce, estos fenómenos pueden participar en la activación del sistema nervioso simpático generando la modificación de la expresión y actividad de mecanismos reguladores, como los reflejos arteriales mediados por baro-receptores y quimio-receptores, lo cual lleva a una pérdida en la capacidad de compensación de la presión arterial en distintos eventos de estímulo<sup>18,25</sup>.

En este estudio, los pacientes no presentaron hipertensión arterial inicial; sin embargo, sí presentaron un fenómeno marcado de descenso de la presión arterial sistólica aparentemente secundario a la realización de la prueba de marcha o hipotensión postejercicio, la cual ha sido descrita en pacientes humanos con síndromes de hipertensión sometidos a pruebas de actividad física moderada<sup>14</sup>.

Este hallazgo es disonante con resultados de un estudio realizado en condiciones medioambientales similares en pacientes sanos, sometidos a la misma prueba de marcha, donde no se reportaron alteraciones significativas en la presión arterial al término de la prueba<sup>9</sup>. De la misma manera se ha planteado que la implementación de protocolos de ejercicio moderado en pacientes en estadios asintomáticos B1 y B2 ha permitido restablecer la influencia del mecanismo regulador parasimpático en este tipo de animales<sup>26</sup>.

Así como se reportaron en estudios previos en pacientes tanto con enfermedad respiratoria<sup>24</sup>, como cardíaca<sup>1,27</sup>, la presentación de estas patologías afecta la condición física de los pacientes y la aplicación de la prueba como herramienta de evaluación diagnóstica, permitiendo reconocer el grado de intolerancia al ejercicio que estos podrían desarrollar además del planteamiento de las posibles intervenciones médicas que podrían realizarse<sup>29</sup>, por lo que proponemos el uso de esta prueba de caminata de 6 minutos como un mecanismo económico y repetible para el seguimiento clínico de la condición física de los pacientes con enfermedad cardíaca dependiente de degeneración valvular crónica.

## REFERENCIAS

1. Agudelo CF, Schanilec P. 2013. Evaluation of the functional capacity in dogs with naturally acquired heart disease. *Veterinarni Medicina* 58: 5, 264–270.
2. Bergman BC, Tsvetkova T, Lowes B, Wolfel E.E. 2009. Myocardial glucose and lactate metabolism during rest and atrial pacing in humans. *Journal of Physiology* 587: 9, 2087-2099.
3. Boddy KN, Roche BM, Schwartz DS, Nakayama T, Hamlin RL. 2004. Evaluation of the six-minute walk test in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 65: 3, 311-313.

4. **Borgarelli M, Buchanan JW.** 2012. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Cardiology* 14: 1, 93-101.
5. **Borgarelli M, Haggstrom J.** 2010. Canine degenerative myxomatous mitral valve disease: Natural history, clinical presentation and therapy. *Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice* 40: 4, 651-663.
6. **Brooks GA.** 2020. Lactate as a fulcrum of metabolism. *Redox Biology* 35: 101454, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101454>.
7. **Cerda GS, Talarico L, Todhunter R.** 2016. Noninvasive assessment of neuromuscular disease in dogs: Use of the 6-minute walk test to assess submaximal exercise tolerance in dogs with centronuclear myopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 30: 3, 808-812.
8. **Cohen JE, Small C.** 1998. Hypsographic demography: the distribution of human population by altitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 95: 24, 14009-14014.
9. **Espinell CD, Ortiz RN, Vargas PP.** 2019. Six-minute walk test does not affect blood pressure in healthy dogs at high altitude. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 99: 106595. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2019.05.067>.
10. **Glaus TM, Hauser K, Hässig M, Lipp B, Reusch CE.** 2003. Non-invasive measurement of the cardiovascular effects of chronic hypoxaemia on dogs living at moderately high altitude. *Veterinary Record* 152: 26, 800-803.
11. **Glaus TM, Tomsa K, Hässig M, Reusch CE.** 2004. Echocardiographic changes induced by moderate to marked hypobaric hypoxia in dogs. *Veterinary Radiology and Ultrasound* 45: 3, 233-237.
12. **Goutal CM, Keir I, Kenney S, Rush JE, Freeman LM.** 2010. Evaluation of acute congestive heart failure in dogs and cats: 145 cases (2007-2008). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 20: 3, 330-337.
13. **Grover RF et al.** 1988. Pulmonary hypertension and pulmonary vascular reactivity in beagles at high altitude. *Journal of Applied Physiology* 65: 6, 2632-2640.
14. **Guidry MA et al.** 2003. Exercise intensity influences postexercise hypotension. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 35: 1, S73.
15. **Guyatt GH et al.** 1985. The 6-minute walk: a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure. *Canadian Medical Association Journal* 132: 8, 919-923.
16. **Hainsworth R, Drinkhill MJ, Rivera CM.** 2007. The autonomic nervous system at high altitude. *Clinical Autonomic Research* 17: 1, 13-19.
17. **Keene BW et al.** 2019. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33: 3.
18. **Marcondes SM, Mansur AP, Fragata FS, Strunz CM.** 2015. Short-term follow-up of exercise training program and beta-blocker treatment on quality of life in dogs with naturally acquired chronic mitral valve disease. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 48: 10, 886-894.
19. **Orozco SC, Olivera AM, Vargas, PP.** 2019. Insights on the canine mitral valve in the course of myxomatous mitral valve disease. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia* 14: 1, 40-56.
20. **Ramirez JC et al.** 2016. Bicarbonate values for healthy residents living in cities above 1500 meters of altitude. A theoretical model and systematic review. *High Altitude Medicine and Biology* 17: 2, 85-92.
21. **Restan AZ, Cerqueira JA.** 2019. Lactate and glucose thresholds and heart rate. *American Journal of Veterinary Research* 80: 3.
22. **Rosenstein PG, Tennent BS, Hughes D.** 2018. Clinical use of plasma lactate concentration. Part 1: Physiology, pathophysiology, and measurement. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 28: 2, 85-105.
23. **Soares FB, Pereira GB, Rabelo RC.** 2018. Assessment of plasma lactate and core-peripheral temperature gradient in association with stages of naturally occurring myxomatous mitral valve disease in dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 28: 6, 532-540.
24. **Swimmer RA, Rozanski EA.** 2011. Evaluation of the 6-minute walk test in pet dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25: 2, 405-406.
25. **Tripodiadis F et al.** 2009. The sympathetic nervous system in heart failure. physiology, pathophysiology, and clinical implications. *Journal of the American College of Cardiology*, 54: 19, 1747-1762.
26. **Valandro MA, Pascon JP, Pereira DT, Mistieri ML.** 2017. Exercise training of dogs with myxomatous valve disease. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 69: 2, 325-332.
27. **Vargas PP et al.** 2016. Tolerancia al ejercicio en perros con hipertensión pulmonar tratados con sildenafil. *Rev Inv Vet Perú* 27: 3, 421-426.
28. **Vargas PP et al.** 2019. The six-minute walking test in dogs at high altitude. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 30: 1, 49-53.
29. **Wall L et al.** 2018. Clinical use of submaximal treadmill exercise testing and assessments of cardiac biomarkers NT-proBNP and cTnI in dogs with presymptomatic mitral regurgitation. *PLoS ONE* 13: 6, 1-13.