



UNIVERSITÀ DI PARMA

Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie

Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in

Medicina Veterinaria

TERAPIA MEDICA DELL'EPILESSIA IDIOPATICA NEL CANE: STATO DELL'ARTE E NUOVE PROSPETTIVE

*Medical therapy of canine Idiopathic Epilepsy: state of the art
and new insights*

Relatore:

Chiar.mo Prof. Ezio Bianchi

Laureanda:

Viola Mazzanti

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

Indice

ABSTRACT	5
RIASSUNTO.....	6
INTRODUZIONE	7
1. ANATOMIA DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE.....	8
1.1 Sistema Nervoso Centrale.....	8
1.2 Cellule del Sistema Nervoso Centrale	13
2. L'EPILESSIA IDIOPATICA NEL CANE	18
2.1 La crisi epilettica.....	18
2.2 Epilessia idiopatica (IE).....	34
3. TRATTAMENTO FARMACOLOGICO	45
3.1 Trattamento con AED: il pilastro della terapia	45
3.2 I farmaci antiepilettici	60
3.3 Interruzione della terapia con AED	133
3.4 Educazione del proprietario	134
3.5 Il paziente refrattario.....	136
4. I CANNABINOIDI	144
4.1 Sistema Endocannabinoide ed Endocannabinoidoma	146
4.2 Cannabinoidi e crisi epilettiche.....	157
5. SUPPORTO DIETETICO.....	178
5.1 Dieta e crisi epilettiche.....	178
5.2 Dieta e comorbidità comportamentali.....	211
6. NEUROSTIMOLAZIONE.....	217
6.1 Stimolazione vagale	220
6.2 Stimolazione cerebrale profonda	226
6.3 Neurostimolazione reattiva	231

6.4 Stimolazione magnetica transcranica.....	233
6.5 Stimolazione transcranica a corrente continua	237
CONCLUSIONI	239
Bibliografia.....	241

ABSTRACT

Epilepsy is a disease of the brain characterized by a persistent predisposition to generate epileptic seizures. The diagnosis of idiopathic epilepsy in dogs is a diagnosis of exclusion, which is made based on the age at seizure onset, insignificant interictal physical and neurological examinations and the exclusion of brain disorders of metabolic, toxic and structural origin by diagnostic investigations.

To date, the therapy of idiopathic epilepsy in dogs is symptomatic treatment, as it is limited to seizure control, commonly through the chronic administration of antiepileptic drugs (AEDs). The AEDs primarily used in dogs are phenobarbital, potassium bromide and imepitoin, but more recently discovered drugs that are approved for use in humans and appear to be relatively safe in dogs are also used as adjunctive treatment. However, despite adequately managed polypharmacy, 20-30% of dogs with idiopathic epilepsy continue to experience seizures that are difficult to control. Furthermore, AED-related side effects contribute to the reduction of the quality of life not only of the dog, but also of the owner, sometimes leading to the premature death of the animal following euthanasia. This underlines the importance of new treatment strategies, which should be alternative or supportive to pharmacological therapy, to improve the well-being of dogs with epilepsy.

In this regard, studies conducted in recent years indicate that the use of low doses of CBD isolates or CBD-rich formulations associated with antiepileptic therapy may be safe and effective in improving seizure control. Recent reports have also demonstrated the importance of specialized nutrition as a treatment strategy for canine epilepsy. In particular, a promising diet in dogs is one that includes medium-chain triglycerides (MCTs): this has not only improved seizure control in most studies, but has also demonstrated potentially beneficial effects on the behavioral comorbidities of canine epilepsy. Finally, promising results in human clinical practice have triggered an interest in neurostimulation as an additional therapeutic option for seizure control in drug-resistant subjects also in Veterinary Medicine, especially vagus nerve stimulation, deep brain stimulation and transcranial magnetic stimulation.

In relation to these potential new therapeutic approaches, although the results of some studies appear to be promising, larger, randomized controlled clinical trials are needed to draw conclusions regarding the efficacy and safety of these treatments.

RIASSUNTO

L'epilessia è una malattia del cervello caratterizzata da una persistente predisposizione di questo a generare crisi epilettiche. La diagnosi di epilessia idiopatica nel cane è una diagnosi per esclusione, che si basa sull'età di insorgenza delle crisi epilettiche, su esami fisici e neurologici interictali non significativi e sull'esclusione di disturbi cerebrali di origine metabolica, tossica e strutturale mediante indagini diagnostiche.

Ad oggi, la terapia dell'epilessia idiopatica nel cane è una terapia sintomatica, che si limita al controllo delle crisi tramite, comunemente, la somministrazione cronica di farmaci antiepilettici (*Antiepileptic Drugs* – AED). Gli AED principalmente utilizzati nel cane sono il fenobarbital, il bromuro di potassio e l'imepitoina, ma come trattamento aggiuntivo vengono impiegati anche farmaci di più recente scoperta, che sono approvati per l'uso nell'uomo e che sembrano essere relativamente sicuri nel cane. Nonostante la polifarmacoterapia adeguatamente gestita, però, il 20-30% dei cani con epilessia idiopatica continua a manifestare crisi epilettiche difficili da controllare. Inoltre, gli effetti collaterali correlati agli AED contribuiscono alla riduzione della qualità della vita non solo del cane, ma anche del proprietario, portando, a volte, alla morte prematura dell'animale in seguito ad eutanasia. Ciò sottolinea l'importanza di nuove strategie di trattamento, alternative o di supporto alla terapia farmacologica, che permettano di migliorare il benessere dei cani con epilessia.

A questo proposito, alcuni studi condotti negli ultimi anni indicano che l'uso di basse dosi di isolati di CBD o di formulazioni ricche di CBD, associate alla terapia antiepilettica, può essere sicuro ed efficace per migliorare il controllo delle crisi. Report recenti hanno dimostrato anche l'importanza della nutrizione specializzata come strategia di trattamento per l'epilessia canina. In particolare, nel cane, una dieta promettente è quella che include trigliceridi a catena media (MCT): questa non solo ha migliorato il controllo delle crisi nella maggior parte degli studi, ma ha anche dimostrato effetti potenzialmente benefici sulle comorbidità comportamentali dell'epilessia canina. Infine, i risultati promettenti in Medicina Umana hanno fatto nascere un interesse per la neurostimolazione come opzione terapeutica aggiuntiva per il controllo delle crisi epilettiche nei soggetti farmacoresistenti anche in Medicina Veterinaria, in particolare la stimolazione del nervo vago, la stimolazione cerebrale profonda e la stimolazione magnetica transcranica.

Relativamente a questi potenziali nuovi approcci terapeutici, anche se i risultati di alcuni studi sembrano essere promettenti, sono necessari studi clinici più ampi, controllati e randomizzati, per trarre conclusioni riguardo l'efficacia e la sicurezza di questi trattamenti.

INTRODUZIONE

L'epilessia è il disturbo neurologico cronico più comune nel cane. La reale prevalenza dell'epilessia nel cane è sconosciuta, ed è stata stimata allo 0,6-0,75 % nella popolazione canina generale. L'epilessia idiopatica è una patologia la cui diagnosi viene fatta per esclusione, e i punti chiave nella diagnosi di epilessia idiopatica si riassumono nell'età di insorgenza, nella normalità del periodo interictale e nell'assenza di reperti all'esame fisico e neurologico. Un'anamnesi di epilessia idiopatica in soggetti imparentati supporta ulteriormente la diagnosi. Infatti, sebbene i meccanismi alla base dell'epilessia negli animali da compagnia siano in gran parte sconosciuti, è riconosciuto che in alcuni cani di razza questa malattia è il risultato di un difetto genetico. Non è noto, tuttavia, se i difetti genetici siano l'unica causa dell'epilessia o se questa sia dovuta a cause multifattoriali che includono fattori ambientali, di sviluppo, fattori scatenanti e fattori genetici.

Ad oggi, i farmaci antiepilettici rappresentano il pilastro della terapia per i cani affetti da epilessia idiopatica. Nonostante la terapia con uno o più farmaci antiepilettici adeguatamente scelti e somministrati all'animale, tuttavia, buona parte dei pazienti non raggiunge mai un buon controllo delle crisi epilettiche, risentendo, contestualmente e in modo più o meno marcato, dell'impatto degli effetti collaterali associati ai suddetti farmaci. In ragione di tutto ciò, negli ultimi anni sono state condotte varie ricerche per individuare nuove strategie di intervento e migliorare la qualità della vita dell'animale, ma anche di coloro che se ne prendono cura.

Nel presente elaborato di tesi viene presentata la patologia e la sua terapia medica, seguendo principalmente le linee dei recenti *Consensus Statements* presentati dall'IVETF e dall'ACVIM quanto a definizioni, classificazioni, e terminologia relativamente a crisi epilettiche ed epilessia, ma anche per quanto riguarda l'approccio diagnostico e l'approccio terapeutico farmacologico alla malattia. Alla revisione dettagliata dei vari farmaci antiepilettici segue la presentazione dei nuovi trattamenti di supporto proposti e indagati negli ultimi anni, tra cui l'integrazione con CBD, il ruolo della nutrizione specializzata (primo fra tutti, l'effetto di una dieta ricca di MCT), e le recenti tecniche di neurostimolazione.

1. ANATOMIA DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

1.1 Sistema Nervoso Centrale

Il Sistema Nervoso Centrale (SNC) si compone di due parti ineguali: il midollo spinale, un lungo cordone cilindroide ad estremità caudale appuntita, localizzato nel canale vertebrale, e l'encefalo, più voluminoso e complesso, situato nella cavità cranica (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

L'encefalo comprende a sua volta numerose divisioni: ventralmente presenta una parte assiale, in continuità caudalmente con il midollo spinale, denominata tronco encefalico, la quale porta dorsalmente un organo impari, grigiastro e finemente pieghettato, il cervelletto. Il tronco encefalico si continua rostralmente con una voluminosa espansione bilobata, il cervello (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

Tronco encefalico

Il tronco encefalico occupa la fossa media e caudale del pavimento della cavità cranica, contiene i nuclei dei nervi cranici ed è percorso per tutta la sua lunghezza da:

- Sostanza reticolare (formazione mista di sostanza bianca e grigia), che riceve tutte le informazioni sensoriali e le proietta alla corteccia cerebrale, interviene in funzioni motorie e contiene importanti centri vitali;
- Fibre ascendenti, che trasportano le informazioni sensitive verso l'encefalo anteriore;
- Fibre motorie, che hanno origine a livello di encefalo anteriore o di tronco encefalico e discendono verso il midollo spinale (Bernardini, 2002).

Il tronco encefalico si suddivide cranio-caudalmente in: diencefalo, mesencefalo, ponte e midollo allungato (Bernardini, 2002).

- **Diencefalo:** occupa l'estremità rostrale del tronco encefalico ed è strettamente associato al telencefalo (le sue parti dorsali e laterali possono essere studiate soltanto dopo ablazione di gran parte del cervello e della sua tela corioidea) (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

Il diencefalo comprende:

- *talamo*, che ne costituisce la parte più estesa ed è composto da coppie simmetriche di nuclei;

- *ipotalamo*, struttura impari e mediana, molto importante per la sua funzione endocrina;
- *metatalamo*, sede di nuclei coinvolti nelle funzioni uditiva e ottica (rispettivamente corpi genicolati mediale e laterale);
- *subtalamo*;
- *epitalamo*, contenente l'epifisi.

La superficie ventrale del diencefalo presenta caudalmente i corpi mamillari, e cranialmente il chiasma ottico; tra queste strutture è presente un infundibolo, responsabile della connessione tra tronco encefalico e ipofisi. Una sezione sagittale del diencefalo evidenzia l'adesione intertalamica, contornata dal III ventricolo (Bernardini, 2002).

Anche se il diencefalo rappresenta tecnicamente la porzione più rostrale del tronco encefalico, esso è funzionalmente più simile al cervello piuttosto che alle altre porzioni del tronco encefalico (Dewey & da Costa, Practical Guide to Canine and Feline Neurology - 3rd edition, 2016).

- **Mesencefalo:** parte più corta del tronco encefalico. Di forma quasi cubica, è percorso assialmente per tutta la sua lunghezza da un canale centrale, l'*acquedotto del mesencefalo*. Questo rappresenta la continuazione rostrale del IV ventricolo, e si immette nel III ventricolo del diencefalo (Bortolami & Callegari, 1999).

La sua superficie ventrale si presenta come una fossa mediana, contornata bilateralmente dai peduncoli cerebrali, mentre sulla superficie dorsale sono localizzati due paia di collicoli, craniali e caudali (Bernardini, 2002).

In senso dorso-ventrale, ogni peduncolo presenta tre regioni: il tegmento, la sostanza nera e crus cerebri (Evans & de Lahunta, 2013).

Nel mesencefalo è localizzato il *nucleo rosso*, importante ammasso di motoneuroni situato bilateralmente in posizione paramediana, ventrolateralmente all'acquedotto del mesencefalo. Inoltre, nel mesencefalo nascono il nervo oculomotore e il nervo trocleare (Bernardini, 2002).

- **Ponte:** voluminoso rilievo a forma di semianello, localizzato sulla faccia ventrale del tronco encefalico, tra midollo allungato e mesencefalo. Dorsalmente si continua nei peduncoli cerebellari medi (Bortolami & Callegari, 1999).

La superficie ventrale del ponte è caratterizzata dalla presenza di fibre trasversali, che rappresentano fibre di connessione tra i due emisferi cerebellari. Nella sua faccia dorsale

invece si apre, costituendo la metà craniale del IV ventricolo. Il nervo trigemino e il nervo vestibolococleare nascono a questo livello (Bernardini, 2002).

- **Midollo allungato:** di forma tronco-conica e appiattito dorso-ventralmente, fa seguito cranialmente al midollo spinale. Il limite con questo è del tutto convenzionale, e si fa cadere nello spazio compreso tra l'attacco delle radicole più caudali del nervo ipoglosso e l'emergenza del primo paio di nervi spinali cervicali. Rostralmente, si continua nel ponte, il cui limite è ben visibile soltanto sulla faccia ventrale (Bortolami & Callegari, 1999).

È distinguibile grazie alla presenza nella sua faccia ventrale di due bande paramediane di sostanza bianca (piramidi), formate da fibre che si incrociano a livello della *decussazione delle piramidi*. Presenta dorsalmente la metà posteriore del IV ventricolo. Sei nervi cranici (VI, VII, IX, X, XI, XII) nascono dal midollo allungato (Bernardini, 2002).

Cervelletto

Il cervelletto è l'elemento essenziale della parte dorsale del rombencefalo, alla cui porzione ventrale è unito mediante i peduncoli cerebellari. È un organo impari e simmetrico, situato nel compartimento caudale della cavità cranica (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

Si presenta come una massa globosa di colore grigio-rosa scuro, leggermente ellissoidale e ad asse maggiore trasversale. La sua superficie è intaccata da fessure più o meno profonde e da numerosi solchi, tutti ad andamento trasversale. È ricoperto rostralmente e per breve tratto dai lobi caudali degli emisferi cerebrali (Bortolami & Callegari, 1999).

Il cervelletto si compone di una regione centrale mediana, detta *verme*, e di due emisferi, situati lateralmente al verme; è suddiviso in due regioni di dimensioni diverse: il *corpo cerebellare*, più grande, e il *lobo flocculonodulare*, più piccolo. Queste due regioni sono separate tra loro dalla *fessura ovulonodulare* (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Il cervelletto è connesso bilateralmente al tronco encefalico da fibre che vanno a costituire su ogni lato tre *peduncoli cerebellari*, definiti craniale, medio e caudale, anche se in realtà presentano una disposizione lateromediale, più che anteroposteriore (dall'esterno all'interno: peduncolo medio, caudale e rostrale) (Bernardini, 2002).

Il peduncolo cerebellare caudale connette il midollo spinale e il midollo allungato con il cervelletto, il peduncolo cerebellare medio collega le fibre trasversali del ponte con il

cervelletto, e il peduncolo cerebellare rostrale connette il cervelletto con il mesencefalo (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

La superficie cerebellare è rivestita di sostanza grigia, detta corteccia. La corteccia cerebellare è formata da tre strati: lo strato molecolare (superficiale), lo strato delle cellule del Purkinje (intermedio), e lo strato dei granuli (più profondo). Al di sotto della corteccia è situata la sostanza bianca cerebellare. In essa sono contenute tre paia di nuclei cerebellari: bilateralmente, in direzione mediolaterale, si evidenziano il *nucleo del fastigio*, il *nucleo interposito* e il *nucleo dentato* (tutte le fibre efferenti che lasciano il cervelletto originano da tali nuclei) (Bernardini, 2002).

Tutte le fibre che afferiscono al cervelletto si dirigono alla corteccia cerebellare, inviando, comunque, collaterali ai nuclei cerebellari. Ogni nucleo cerebellare riceve le informazioni da una banda longitudinale di corteccia cerebellare, localizzata superficialmente ad esso: dunque, la corteccia del verme proietta al nucleo del fastigio, una striscia di corteccia paravermiana proietta al nucleo interposito, e il rimanente di ogni emisfero proietta al nucleo dentato (Bernardini, 2002).

Telencefalo

Il telencefalo costituisce la parte più rostrale del SNC. Ad esso fanno capo tutti i tipi di sensibilità e dalla sua corteccia partono le risposte motorie volontarie; controlla l'insieme delle funzioni dell'organismo ed è la sede delle facoltà cognitive, della memoria e dell'intelligenza (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

Il telencefalo è costituito dai due emisferi cerebrali, le formazioni commissurali (commissura bianca rostrale, fornice, corpo calloso e setto pellucido) e la lamina terminale grigia (Bortolami & Callegari, 1999).

Gli emisferi cerebrali occupano quasi completamente la fossa anteriore della cavità cranica (Bernardini, 2002). Ciascun emisfero, separato dal diencefalo, si presenta come un semiovoide, e mostra a considerare tre facce (dorso-laterale, basale e mediale), un margine dorso-mediale e due poli (rostrale e caudale). Gli emisferi cerebrali sono tra loro separati da una profonda *fessura longitudinale del cervello*, che separa, rostralmente, le parti rostrali degli emisferi sino al ginocchio del corpo calloso, e si arresta al chiasma ottico. Gli emisferi, inoltre, sono separati dal cervelletto mediante la *fessura trasversa del cervello* (Bortolami & Callegari, 1999).

Ogni emisfero è composto superficialmente da sostanza grigia, detta *corteccia cerebrale*, e da una sottostante sostanza bianca cerebrale; vi sono poi accumuli di sostanza grigia in profondità, conosciuti come *nuclei basali* (Evans & de Lahunta, 2013).

La sottostante sostanza bianca cerebrale è formata da fibre di connessione con il resto del SNC. Nella sostanza bianca di ogni emisfero cerebrale è presente un *ventricolo laterale*, che comunica con il III ventricolo attraverso il *forame interventricolare*. Ventrolateralmente al ventricolo laterale è situato il *nucleo caudato*, il più esteso dei nuclei della base, che lateralmente confina con la capsula interna e presenta una testa, un corpo e una coda. Gli altri due nuclei basali sono il *putamen*, localizzato tra le capsule interna ed esterna, e il *pallido*, posto mediamente al putamen e ventrolateralmente alla capsula interna (Bernardini, 2002).

La superficie di ciascun emisfero cerebrale è caratterizzata da bande elevate, dette *giri*, separate da *solchi*. In genere, il nome di un giro è lo stesso del solco adiacente. L'estremità rostrale di ciascun emisfero è chiamata *polo frontale*, mentre l'estremità caudale è detta *polo occipitale*. La regione emisferica sottostante l'osso frontale può essere chiamata *lobo frontale*; i lobi possono quindi essere definiti in relazione alle ossa parietali, occipitali e temporali (Evans & de Lahunta, 2013).

Le connessioni che caratterizzano le varie aree della corteccia cerebrale ne determinano le funzioni. Alcune aree corticali hanno specifiche connessioni con il tronco encefalico o con il midollo spinale tramite fibre di proiezione, mentre altre aree corticali, dette *aree associative*, hanno connessioni solo all'interno della corteccia cerebrale. L'area motoria della corteccia cerebrale, nel lobo frontale, origina le fibre corticospinali, corticonucleari e corticoreticolari. L'area somestetica primaria riceve stimoli da alcuni nuclei talamici ed è localizzata nel lobo parietale. L'area uditiva primaria è localizzata nel lobo temporale, mentre l'area visiva primaria ha sede nel lobo occipitale (Bernardini, 2002).

Anteriormente e ventralmente in ogni emisfero c'è il *rinencefalo*, deputato all'elaborazione delle informazioni provenienti dai nervi olfattori (NC I). Il rinencefalo, assieme a parti del lobo temporale e del diencefalo, costituisce il *sistema limbico* (Bernardini, 2002).

Per ogni emisfero si distinguono tre tipi di corteccia cerebrale (o *pallio*):

- l'*archicorteccia*, associata all'ippocampo (componente del rinencefalo);
- la *paleocorteccia*, anch'essa presente nel rinencefalo, costituita da tre strati;
- la *neocorteccia*, che rappresenta la corteccia predominante del cervello ed è caratterizzata da sei strati (Evans & de Lahunta, 2013).

1.2 Cellule del Sistema Nervoso Centrale

Le due componenti cellulari del SN sono i neuroni e le cellule della glia. (Bernardini, 2002)

Il neurone

Il neurocita, cellula nervosa o neurone è l'unità morfologica e funzionale del Sistema Nervoso (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

Si tratta di una cellula altamente specializzata, composta da un *pirenoforo*, o soma, contenente il nucleo e la maggior parte degli organuli, e da un numero variabile di processi. Questi ultimi si distinguono in *dendriti*, solitamente in numero elevato e di piccole dimensioni, e *assone*, solitamente unico e più o meno esteso in lunghezza. In base alle caratteristiche di questi processi, i neuroni si differenziano in unipolari, pseudounipolari, bipolari e multipolari. Il tipo più rappresentato di cellula nervosa è il neurone multipolare, dotato, generalmente, di un numero elevato di dendriti e di un

solo lungo assone, il quale può dar luogo a rami collaterali. Tali neuroni possono essere sia afferenti che efferenti nel SNC, mentre sono principalmente motori nel SNP (Bernardini, 2002). Come le altre cellule, i neurociti allo stato di riposo mantengono, tra la faccia interna e quella esterna della loro membrana citoplasmatica, un gradiente ionico detto "potenziale elettrico" o "potenziale di riposo". La loro membrana possiede però una proprietà presente in poche altre membrane cellulari: l'eccitabilità, cioè la capacità di rispondere a stimoli esogeni mediante variazioni del suo potenziale elettrico. A questa si associa la conducibilità, ovvero la capacità di propagare queste variazioni di potenziale (potenziale d'azione) lungo la membrana e di trasmetterle ad altri neuroni o ad organi effettori (muscoli, ghiandole) (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

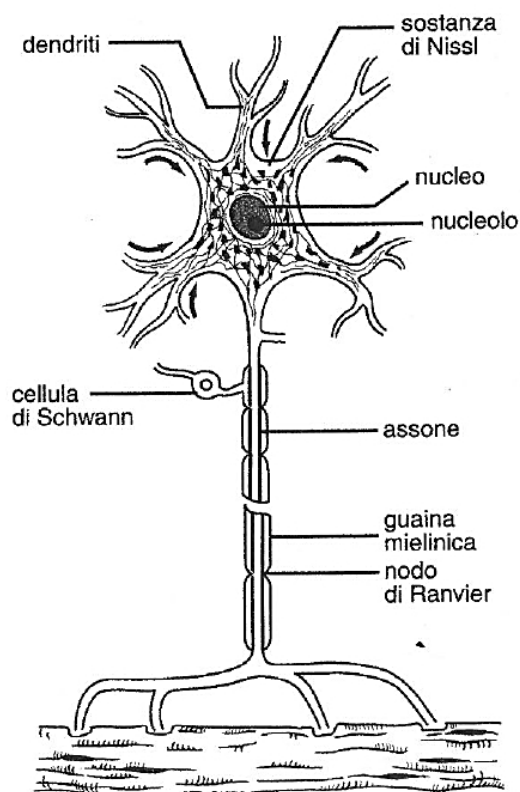


Figura 1: Struttura del neurone (Bernardini, 2002)

I neuroni possono essere classificati come:

- **sensitivi o afferenti**, quando convogliano gli stimoli dalla periferia al SNC; hanno solitamente terminazioni nervose periferiche modificate e specializzate per la raccolta di diversi tipi di stimoli (termici, meccanici, dolorifici o elettromagnetici);
- **motori o efferenti**, quando lo stimolo viaggia dal SNC alla periferia; sono localizzati interamente nel SNC, oppure presentano il pirenoforo nel SNC e l'assone nei nervi periferici, collegando quindi il SN con gli organi effettori (Bernardini, 2002).

All'interno del Sistema Nervoso Periferico (SNP), un insieme di assoni prende il nome di *nervo*. Oltre agli assoni, i nervi contengono le cellule di Schwann e tessuto connettivo organizzato in *endonervio*, *perinervio* ed *epinervio*. I nervi collegano il SNC con le strutture degli altri sistemi che compongono l'organismo. Con il termine *ganglio* ci si riferisce, invece, ad un insieme di corpi cellulari neuronali all'interno del SNP, insieme alle cellule di supporto e al tessuto connettivo che li circondano. Un *nucleo* è invece un insieme di corpi cellulari neuronali nel SNC (Evans & de Lahunta, 2013).

La nevroglia

La nevroglia rappresenta l'insieme delle cellule di supporto all'interno del SNC. Tale insieme comprende quattro classi principali di cellule: tre sono di origine ectodermica e una è di origine mesodermica. In quelle di origine ectodermica rientrano:

- gli *astrociti*, che hanno una funzione di supporto per i neuroni;
- gli *oligodendrociti*, che formano la guaina mielinica degli assoni;
- gli *ependimociti*, che delimitano le cavità del SNC (Evans & de Lahunta, 2013).

La *microglia* comprende cellule di origine mesodermica che fanno parte del sistema reticoloendoteliale e sono sparse all'interno della sostanza grigia e della sostanza bianca (Evans & de Lahunta, 2013).

La mielina che circonda gli assoni nel SNP è formata dalle cellule di Schwann. Gli assoni non mielinizzati non sono privi di cellule di Schwann, semplicemente queste cellule non producono mielina. Quest'ultima nel SNC è prodotta dagli oligodendrociti. La mielina non circonda con continuità l'assone: esistono piccoli e periodici tratti senza mielina, al confine tra il segmento prodotto da una cellula e quello prodotto da un'altra cellula; tali interruzioni vengono definite *nodi di Ranvier*. È soltanto a livello dei nodi di Ranvier che può manifestarsi il potenziale

d'azione, a causa delle proprietà isolanti della mielina. Lo stimolo salta dunque da un nodo all'altro (secondo la cosiddetta "conduzione saltatoria"), con conseguente notevole aumento della velocità di conduzione (Bernardini, 2002).

Quanto più grandi sono l'assone e la sua guaina mielinica, tanto più rapidamente questo condurrà l'impulso. Il rapporto tra l'assone e il suo neurilemma o la guaina di oligodendrociti è fondamentale per la conduzione dell'impulso lungo l'assone. Se l'assone o la sua guaina sono danneggiati o assenti, la conduzione dell'impulso neuronale non avverrà o risulterà alterata (Evans & de Lahunta, 2013).

La presenza di strutture mielinizzate (assoni) e non mielinizzate (pirenofori) si riflette macroscopicamente nella distinzione tra sostanza grigia e sostanza bianca. La sostanza grigia è rappresentata fondamentalmente dai pirenofori dei neuroni, che rappresentano i maggiori costituenti delle cortecce cerebrali e cerebellari; gli assoni nati dai pirenofori corticali e nucleari sono per lo più mielinizzati, per cui nel loro tragitto per raggiungere altri neuroni formano la sostanza bianca, che generalmente può essere suddivisa in fascicoli (o tratti) (Bernardini, 2002). Per il suo volume e per la sua consistenza numerica, la nevroglia costituisce la maggior parte del SNC. Le cellule della nevroglia, contrariamente ai neuroni, conservano per tutta la vita la capacità di moltiplicarsi. Possono quindi prestarsi a tutti i rimaneggiamenti del SN, in particolare quando questo è stato leso (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

Potenziali d'azione e sinapsi

I neuroni hanno la capacità di generare segnali elettrici (*potenziali d'azione*) che si propagano rapidamente lungo l'assone e che prendono il nome di impulsi nervosi. L'impulso nervoso è una modificazione transitoria della differenza di potenziale elettrico tra l'interno e l'esterno dell'assone, è associato a correnti elettriche generate da ioni ed è il risultato della stimolazione di cellule sensoriali, dell'arrivo di informazioni sensoriali da altri neuroni attraverso le sinapsi o della depolarizzazione spontanea della membrana della cellula nervosa (Sjaastad, Sand, & Hove, 2019).

Un potenziale d'azione è generato da un flusso di ioni sodio carichi positivamente attraverso la membrana neuronale, generalmente innescato, appunto, da stimoli ambientali o dal rilascio di neurotrasmettitori. Questo provoca la depolarizzazione della membrana, portando la membrana dal potenziale di riposo (circa -70 mV) al potenziale soglia (circa -55 mV). Quando si innesca il potenziale d'azione, il potenziale di membrana si alza bruscamente e poi si abbassa, spesso al

di sotto del livello di riposo, poichè un flusso compensativo di ioni potassio lascia la cellula. I potenziali d'azione possono verificarsi 10-100 volte al secondo (Platt & Garosi, *Small Animal Neurological Emergencies*, 2012).

La comunicazione tra neuroni avviene a livello di strutture morfofunzionali chiamate *sinapsi*. Tra i neuroni e gli organi effettori, siano questi ghiandole o fibre muscolari, sono presenti delle sinapsi modificate (nel caso delle fibre muscolari si parla di *placca neuromuscolare*). Solitamente la cellula presinaptica presenta la zona sinaptica all'apice dell'assone, mentre la cellula postsinaptica può presentarla a livello di dendrite, di soma o di assone (Bernardini, 2002).

Le sinapsi si distinguono in elettriche e chimiche. Nelle sinapsi chimiche, che rappresentano la maggior parte delle sinapsi, il potenziale d'azione nella cellula presinaptica determina la liberazione di neurotrasmettitori, che, attraverso lo spazio sinaptico, raggiungono la cellula postsinaptica (Bernardini, 2002).

Il neurotrasmettitore si lega quindi a recettori peptidici della membrana postsinaptica, i quali possono essere parte integrante di una proteina transmembranaria che forma un canale ionico (recettori *ionotropici*), oppure possono regolare indirettamente l'apertura di un tale canale mediante secondi messaggeri attivati dall'accoppiamento del recettore stesso con proteina G (recettori *metabotropici*) (Barone, *Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto*, 2006).

La membrana del neurone presinaptico è detta *membrana presinaptica*, ed è separata dalla cellula bersaglio da un vallo sinaptico di 20-50 nm, mentre la membrana della cellula bersaglio rivolta verso il vallo sinaptico è chiamata *membrana postsinaptica*. Quando un potenziale d'azione raggiunge il terminale presinaptico, le vescicole sinaptiche contenenti i neurotrasmettitori vengono rilasciate dalla terminazione nervosa nel vallo sinaptico. Il rilascio di neurotrasmettitore è regolato dalla concentrazione di Ca^{2+} nel terminale nervoso presinaptico: a riposo, questa è 1/10 000 di quella che c'è al di fuori della cellula, ma quando un impulso raggiunge il terminale nervoso, in seguito alla depolarizzazione della membrana, si ha l'apertura dei canali del Ca^{2+} voltaggio-dipendenti e l'ingresso del Ca^{2+} dal liquido extracellulare all'interno del terminale nervoso. Questo aumento della concentrazione di Ca^{2+} nel citosol determina la liberazione, nel vallo sinaptico, del neurotrasmettitore contenuto nelle vescicole sinaptiche (Sjaastad, Sand, & Hove, 2019).

Le molecole di neurotrasmettitore rilasciate dal terminale presinaptico diffondono nel vallo sinaptico e alcune si legano ai recettori postsinaptici, dai quali verranno rimosse entro pochi millisecondi (Sjaastad, Sand, & Hove, 2019).

Al fine di interrompere la trasmissione sinaptica, parte del neurotrasmettitore, liberato nella fessura sinaptica o legato ai recettori, viene eliminato mediante degradazione enzimatica, ma il meccanismo più frequente utilizzato per allontanare i neurotrasmettitori è la loro riassunzione da parte del terminale presinaptico o di cellule gliali, entrambi provvisti di meccanismi di riassorbimento ad alta affinità per i neurotrasmettitori stessi (Barone, Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto, 2006).

Esaurito l'impulso nervoso, diversi meccanismi contribuiscono alla rapida diminuzione della concentrazione di Ca^{2+} nel citosol (Sjaastad, Sand, & Hove, 2019).

In una *sinapsi eccitatoria* il rilascio del neurotrasmettitore provoca la depolarizzazione della cellula bersaglio, dovuta solitamente all'entrata di Na^+ attraverso canali ionici a controllo di ligando; questa depolarizzazione è detta *potenziale postsinaptico eccitatorio (PPSE)*, in quanto aumenta la probabilità che il neurone postsinaptico generi un potenziale d'azione (Sjaastad, Sand, & Hove, 2019).

In una *sinapsi inibitoria* il neurotrasmettitore generalmente apre i canali a controllo di ligando per gli ioni cloro (Cl^-) o potassio (K^+) sulla membrana postsinaptica, per cui il K^+ esce dalla cellula mentre il Cl^- entra, rendendo più negativo l'interno della cellula. Questa modificazione del potenziale di membrana è chiamata *potenziale postsinaptico inibitorio (PPSI)*, poichè riduce la probabilità che il neurone postsinaptico generi un potenziale d'azione (Sjaastad, Sand, & Hove, 2019).

Il neurone postsinaptico genera i potenziali d'azione soltanto quando la somma di tutti i potenziali postsinaptici, sia eccitatori che inibitori, è sufficiente per depolarizzare la membrana cellulare fino al valore soglia (la densità dei canali voltaggio-dipendenti per il Na^+ è il fattore più importante per la generazione del potenziale soglia) (Sjaastad, Sand, & Hove, 2019).

2. L'EPILESSIA IDIOPATICA NEL CANE

2.1 La crisi epilettica

Introduzione

Le crisi convulsive rappresentano il disordine neurologico più comune nella clinica dei piccoli animali (Dewey & da Costa, *Practical Guide to Canine and Feline Neurology* - 3rd edition, 2016).

Dal 1964 l'epilessia e le crisi epilettiche sono state organizzate e categorizzate, in Medicina Umana, all'interno di un sistema di classificazione e terminologia pubblicato dalla *International League Against Epilepsy* (ILAE). Quest'ultima rappresenta un'associazione mondiale di medici e altri professionisti della salute, la cui missione è quella di "assicurare che i professionisti della salute, i pazienti e coloro che forniscono loro le cure, i governi e il pubblico di tutto il mondo dispongano delle risorse educative e di ricerca che sono essenziali per la comprensione, la diagnosi e il trattamento delle persone affette da epilessia" (Berendt, et al., 2015).

A partire dagli anni Ottanta, le classificazioni proposte da ILAE sono state adottate a livello internazionale, e vengono aggiornate mediamente ogni cinque anni. L'ultima classificazione di ILAE risale al 2016 (Gandini, *Sfumature cliniche delle crisi epilettiche: non solo "grande male"*, 2018). La terminologia e il quadro di classificazione che forniscono sono visti come un processo in continua evoluzione, che riflette il costante miglioramento della comprensione della malattia e le complicazioni conseguenti ad un vocabolario ambiguo e mal interpretato (Berendt, et al., 2015).

In Medicina Veterinaria, negli ultimi venti anni, sono stati fatti vari tentativi per adattare le definizioni e la classificazione delle crisi epilettiche fornite da ILAE alla realtà veterinaria. Questo continuo lavoro di aggiornamento ha prodotto a volte risultati non ottimali, impedendo, spesso, di disporre di una comunicazione unanimemente condivisa quanto a terminologia (Gandini, *Sfumature cliniche delle crisi epilettiche: non solo "grande male"*, 2018). Esistono infatti alcune importanti differenze tra la medicina umana e quella veterinaria, che rendono impossibile l'appiattimento della definizione veterinaria su quella della medicina umana: il paziente veterinario non può parlare, è ancora difficile avere delle registrazioni video di buona qualità dell'evento epilettico, e spesso il Medico Veterinario può farsi un'idea delle caratteristiche della crisi epilettica solo tramite la descrizione fornita dal proprietario. Inoltre, la mancanza di un tracciato elettroencefalografico associato ad un video limita fortemente le

possibilità di classificazione in ambito veterinario (Gandini, Sfumature cliniche delle crisi epilettiche: non solo "grande male", 2018).

Recentemente, un gruppo di esperti neurologi veterinari ha dato vita alla *International Veterinary Epilepsy Task Force (IVETF)*, con l'obiettivo di uniformare l'approccio clinico, diagnostico e terapeutico all'epilessia negli animali da compagnia (Gandini, Sfumature cliniche delle crisi epilettiche: non solo "grande male", 2018). Tutto ciò ha portato 26 autori a sviluppare sette *Consensus Statements*. Il gruppo di lavoro era composto e/o ha consultato neurologi e neuroscienziati veterinari e umani, medici, neurofarmacologi e neuropatologi. È la prima volta che un numero così elevato di clinici e scienziati si è unito e ha concordato formalmente sugli aspetti chiave dell'epilessia degli animali da compagnia (Volk, *International Veterinary Epilepsy Task Force consensus reports on epilepsy definition, classification and terminology, affected dog breeds, diagnosis, treatment, outcome measures of therapeutic trials, neuroimaging and neuropathology in companion animals*, 2015).

L'IVETF ha concordato sulle seguenti dichiarazioni di consenso:

1. *Consensus Report dell'International Veterinary Epilepsy Task Force sulla definizione, la classificazione e la terminologia dell'epilessia negli animali da compagnia;*
2. *Consensus Proposal dell'International Veterinary Epilepsy Task Force: Approccio diagnostico all'epilessia nel cane;*
3. *Task Force internazionale sull'epilessia veterinaria: attuali conoscenze sull'epilessia idiopatica di origine genetica o presunta tale nei cani di razza;*
4. *Consensus Proposal della Task Force Internazionale sull'Epilessia Veterinaria: Trattamento medico dell'epilessia canina in Europa;*
5. *Consensus Proposal della Task Force Internazionale sull'Epilessia Veterinaria: Esito degli interventi terapeutici nell'epilessia canina e felina;*
6. *Raccomandazioni dell'International Veterinary Epilepsy Task Force per un protocollo di risonanza magnetica specifico per l'epilessia veterinaria;*
7. *Raccomandazioni della Task Force internazionale sull'epilessia veterinaria per il campionamento e l'elaborazione sistematici di cervelli di cani e gatti epilettici* (Volk, *International Veterinary Epilepsy Task Force consensus reports on epilepsy definition, classification and terminology, affected dog breeds, diagnosis, treatment, outcome measures of therapeutic trials, neuroimaging and neuropathology in companion animals*, 2015).

I membri dell'IVETF si augurano che questi *Consensus Statements* possano rappresentare uno strumento di supporto prezioso per il raggiungimento di progressi nel campo dell'epilessia canina e felina e che possano, in ultima analisi, permettere una migliore assistenza dei nostri pazienti. Ritengono, comunque, che debbano essere considerati l'inizio e non la fine di questo processo (Volk, International Veterinary Epilepsy Task Force consensus reports on epilepsy definition, classification and terminology, affected dog breeds, diagnosis, treatment, outcome measures of therapeutic trials, neuroimaging and neuropathology in companion animals, 2015).

Definizioni

Con il termine *crisi* ci si riferisce a qualsiasi evento improvviso, di breve durata e transitorio, non necessariamente epilettico (Berendt, et al., 2015).

L'espressione *crisi epilettica* si utilizza per indicare che la crisi è di origine neurologica, per distinguerla da episodi relativi ad altri sistemi o apparati (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Una crisi epilettica rappresenta infatti la manifestazione di un'attività elettrica eccessiva e/o ipersincrona, di solito autolimitante, dei neuroni cerebrali. Ciò comporta la comparsa transitoria di segni che possono consistere in brevi episodi con convulsioni o alterazioni motorie, autonome o comportamentali focali (Berendt, et al., 2015).

Una *crisi isolata* è una crisi che si verifica una sola volta nell'arco di 24 ore, mentre si parla di *crisi a grappolo* quando si verificano due o più crisi nelle 24 ore, separate da periodi interictali normali. Si parla di *status epilepticus* quando lo stato convulsivo è continuo per più di 5 minuti, o quando si verifica una serie di crisi senza un pieno recupero della coscienza tra una crisi e l'altra, per 30 minuti. Sia le crisi a grappolo che lo *status epilepticus* rappresentano emergenze mediche (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Patogenesi

La crisi epilettica riflette sempre un'anomala attività elettrica ipersincrona dei neuroni del prosencefalo. Le modalità con cui gli eventi elettrici e neurochimici all'interno dei neuroni culminano in una crisi epilettica, e quali eventi sono responsabili, poi, dell'interruzione della crisi, sono questioni ancora non del tutto chiare. Ciò che sappiamo ad oggi, tuttavia, è che le crisi sono legate ai potenziali di membrana, ai flussi ionici e alla genesi di potenziali d'azione (Platt & Garosi, Small Animal Neurological Emergencies, 2012).

Per comprendere la patogenesi delle crisi epilettiche, va considerato che i neuroni presentano una soglia epilettogena, che rappresenta il livello di inibizione neuronale che, se superato, provoca la scarica incontrollata della popolazione di neuroni in questione. Questa soglia neuronale è definita dall'ambiente, il quale a sua volta è geneticamente determinato. Le crisi epilettiche si verificano quando questo ambiente neuronale viene alterato e la suddetta soglia si abbassa (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

I componenti fondamentali di questo ambiente neuronale sono:

1. la struttura delle zone dendritiche e tutte le sinapsi a livello di queste, nonché quelle presenti a livello del corpo cellulare del neurone;
2. la membrana cellulare lipoproteica del neurone, compresi i canali ionici, cui si legano i neurotrasmettitori, e gli enzimi coinvolti nella loro attività;
3. l'ambiente ionico dei neuroni, che prevede la disponibilità di sodio, cloro, calcio e potassio;
4. i neurotrasmettitori, che si distinguono in neurotrasmettitori eccitatori (glutammato, aspartato e acetilcolina sono i principali) e neurotrasmettitori inibitori (GABA, glicina, taurina e noradrenalina);
5. i neuroni adiacenti e gli astrociti (questi ultimi regolano il trasferimento di metaboliti e ioni attraverso le pareti dei vasi sanguigni e hanno un ruolo nella metabolizzazione di molti neurotrasmettitori) (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

L'alterazione di uno o più di questi componenti può abbassare la soglia neuronale in misura sufficiente a scatenare una crisi epilettica. Le alterazioni dell'ambiente neuronale nel prosencefalo che possono determinare l'insorgenza delle crisi secondo l'ILAE possono essere strutturali, genetiche o sconosciute (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

I fattori che alterano l'eccitabilità di un gruppo di neuroni possono determinare una depolarizzazione marcata e prolungata, chiamata *spostamento parossistico depolarizzante* (*paroxysmal depolarizing shift – PDS*) (Dewey & da Costa, Practical Guide to Canine and Feline Neurology - 3rd edition, 2016).

Questo è ciò che sembra avvenire nei neuroni all'interno del focus epilettogeno, e si traduce in un'esplosione anomala di potenziali

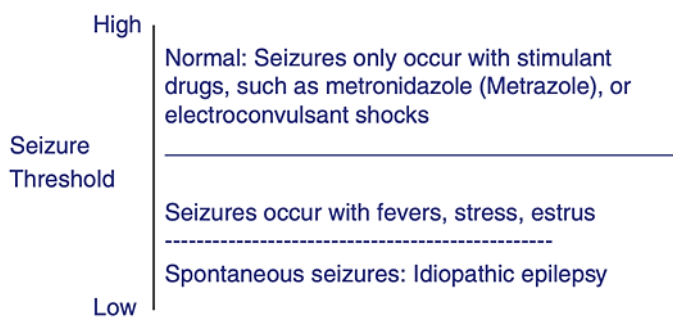


Figura 2: Alterazioni della soglia epilettogena e loro conseguenze (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021)

d'azione che proseguono a raffica in modo sincrono senza un'adeguata inibizione (Platt & Garosi, *Small Animal Neurological Emergencies*, 2012).

Nel cervello maturo dei mammiferi, infatti, l'equilibrio tra eccitazione e inibizione rappresenta normalmente un processo finemente regolato, e un principio fondamentale del meccanismo dell'epilessia è la presenza di uno squilibrio tra neurotrasmissione eccitatoria e inibitoria: la crisi epilettica si sviluppa quando l'equilibrio si sposta verso un'eccessiva eccitazione (Platt & Olby, *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology - fourth edition*, 2014).

Poiché i potenziali d'azione neuronali sono il risultato dell'azione di neurotrasmettitori, come il glutammato e il GABA, che vengono rilasciati dai terminali presinaptici, anomalie a carico di questi neurotrasmettitori e dei loro recettori sono ritenute implicate nella fisiopatologia delle crisi epilettiche (Platt & Garosi, *Small Animal Neurological Emergencies*, 2012).

Molte ricerche si sono concentrate sul ruolo del glutammato e del suo complesso recettoriale, il recettore N-metil-D-aspartato (NMDA) (Platt & Olby, *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology - fourth edition*, 2014).

Il glutammato è il principale neurotrasmettitore eccitatorio del cervello. Normalmente, i potenziali postsinaptici nei neuroni sono immediatamente seguiti dalla trasmissione inibitoria dovuta al GABA. Se dominano i meccanismi eccitatori, a causa di un'aumentata eccitazione o di una diminuita inibizione, i neuroni diventano ipersincronizzati, e questo coinvolge un numero sempre maggiore di neuroni, dando origine alla crisi epilettica (Platt & Garosi, *Small Animal Neurological Emergencies*, 2012).

In risposta a questo improvviso cambiamento nell'attività cerebrale, si creano delle zone inibitorie locali circostanti per cercare di prevenire la diffusione di questa attività epilettogena: l'acido gamma-amminobutirrico (GABA) è il principale neurotrasmettitore inibitorio del cervello coinvolto in questo processo. Se però l'inibizione non ha successo, altri aggregati neuronali vengono attivati attraverso il reclutamento talamo-corticale, le vie di associazione intraemisferiche o le vie commissurali interemisferiche. Il reclutamento di un certo numero di aree con depolarizzazione sincronizzata porta a una crisi epilettica (Platt & Olby, *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology - fourth edition*, 2014).

Il perpetuarsi dell'attività convulsiva è probabilmente dovuto ad un circolo vizioso in cui il glutammato avvia un'eccitazione neuronale diffusa, che può portare danno neuronale e morte neuronale, la quale contribuisce ad un ulteriore rilascio di glutammato. Si ritiene che gli effetti neurotossici del glutammato siano dovuti in parte ad alterazioni della permeabilità al Ca^{2+} , che determinano un aumento dei livelli intracellulari di questo ione: aumenti drastici dei livelli di

calcio intracellulare possono indurre una cascata di eventi intracellulari Ca-dipendenti, come l'attivazione di proteasi e lipasi, l'ingresso di altri cationi (come il sodio) e il rigonfiamento osmotico dei neuroni, che culmina nella morte cellulare. Questi fenomeni sono quasi certamente responsabili dell'eccitotossicità indotta dalle convulsioni, che è presente nelle crisi epilettiche prolungate, e finisce per allargare il focus della crisi, generando crisi più frequenti e gravi, come anche crisi a grappolo e *status epilepticus* (Platt & Garosi, *Small Animal Neurological Emergencies*, 2012).

I meccanismi responsabili dell'arresto dell'attività convulsiva sono scarsamente descritti, ma si suppone che siano legati all'accumulo di acido lattico durante la crisi (Platt & Garosi, *Small Animal Neurological Emergencies*, 2012).

Un'alterazione dei meccanismi di arresto delle crisi costituisce la base della fisiopatologia dello *status epilepticus* (Golubovic & Rossmesl Jr, 2017).

Mutazioni dei canali ionici sono state collegate a una serie di epilessie considerate idiopatiche nell'uomo (Escayg & Goldin, 2010). La maggior parte dei geni identificati fino ad ora per l'epilessia idiopatica umana sono legati a disturbi ereditari dei canali ionici, noti come canalopatie. I canali ionici sono complessi proteici costituiti da diverse subunità, e un eccessivo afflusso di sodio, il blocco dell'efflusso di potassio o un flusso alterato di calcio attraverso queste strutture possono portare ad attivazioni ripetute dei neuroni. Nell'uomo sono state identificate mutazioni genetiche funzionali specifiche per ciascuno di questi canali ionici (Noebels, 2003).

Sebbene mutazioni simili non siano ancora state individuate negli animali, la presenza di epilessia familiare nel cane fa pensare che, con grande probabilità, in futuro queste verranno dimostrate (Platt & Olby, *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology - fourth edition*, 2014).

Le fasi della crisi

Clinicamente si suole suddividere una crisi in varie componenti (Bernardini, 2002).

- **Prodromi:** non molto comuni, sono presenti solo in alcuni animali (Berendt, et al., 2015). Precedono la crisi, e consistono in un cambiamento nel sensorio del paziente che si manifesta nel suo comportamento (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021). Rappresentano

un segnale di crisi imminente, anche se non sempre vengono riconosciuti (Dewey & da Costa, Practical Guide to Canine and Feline Neurology - 3rd edition, 2016).

Nel cane i segni prodromici più comunemente descritti sono ore o giorni di irrequietezza, ansia, aggressività (ad esempio un'aggressività inusuale nei confronti di altri animali domestici) e anomala ricerca di attenzione da parte del proprietario. Se presenti, questi segni possono rappresentare una potenziale finestra d'intervento per la terapia pulsatile (Berendt, et al., 2015).

È importante distinguere i segni prodromici dai segni focali delle crisi: i primi sono caratterizzati da una durata lunga, mentre le crisi focali, che possono presentare segni simili quando si verificano da sole o prima delle crisi convulsive generalizzate, sono molto brevi (da alcuni secondi a pochi minuti) (Berendt, et al., 2015).

- **Aura:** comunemente, i proprietari riferiscono di poter prevedere una crisi motoria quando segni specifici e ben noti compaiono ripetutamente nei secondi o nei minuti precedenti le convulsioni. Tali segni comprendono cambiamenti comportamentali come paura, aggressività, ricerca di attenzione. In passato, il termine *aura* è stato utilizzato per descrivere appunto questa sorta di preannuncio di convulsioni. Questo termine ha avuto origine dalla Medicina Umana, dove l'*aura*, nelle prime classificazioni dell'ILAE, era usata per indicare una sintomatologia che comprende fenomeni sensoriali soggettivi e segni vegetativi (ad esempio, le sensazioni epigastriche che accompagnano l'epilessia del lobo temporale mesiale) e non includeva quindi fenomeni motori (Berendt, et al., 2015).

Si raccomanda ad oggi, però, di non utilizzarlo in Medicina Veterinaria: i segni che si verificano come prima indicazione di attività convulsiva (che segnano l'inizio dell'ictus) e che vengono interpretati dal proprietario come una sorta di segnale di avvertimento di crisi imminente, rappresentano effettivamente l'insorgenza di una crisi focale, e dovrebbero essere indicati come tale (Berendt, et al., 2015).

- **Ictus:** è la fase in cui si evidenzia la crisi vera e propria. La manifestazione della crisi è molto variabile, e può includere perdita o alterazione della coscienza, tono muscolare o movimento volontario eccessivo o ridotto, attività muscolare viscerale e comportamento alterato (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).
- **Post-ictus/fase post-ictale:** periodo di recupero che segue la crisi epilettica (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021). È una fase caratterizzata da anomalie transitorie della funzione cerebrale causate dall'ictus, che compaiono quando l'ictus è terminato (Dewey & da Costa, Practical Guide to Canine and Feline Neurology - 3rd edition, 2016).

In genere, l'animale è disorientato, può presentare anomalie comportamentali come vocalizzi ripetuti, locomozione compulsiva e incapacità di evitare gli ostacoli, atassia, fame o sete, bisogno di urinare o defecare; può manifestare estrema stanchezza e dormire per un periodo di tempo molto lungo. Possono essere presenti anche cecità o aggressività (Berendt, et al., 2015).

La durata e le caratteristiche del periodo post-ictale sono variabili: non vi è alcuna correlazione tra la gravità e la durata della crisi e la gravità, la durata e le caratteristiche del periodo post-ictale. Di norma, il periodo post-ictale dura meno di un'ora, ma sono possibili periodi molto più lunghi, fino a uno o due giorni (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Il *periodo interictale* è il tempo che intercorre tra una crisi e l'altra dopo che il paziente si è ripreso dal periodo post-ictale, ed è in questa fase che deve essere eseguito l'esame neurologico (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Classificazione delle crisi in base alla semiologia

In Medicina Veterinaria, possiamo classificare una crisi epilettica quando la osserviamo clinicamente in prima persona su un paziente o su un video dell'evento e non, come accade invece in Medicina Umana, dopo l'esecuzione di procedure accessorie (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

La crisi epilettica può essere classificata come focale, generalizzata o focale ad evoluzione generalizzata (Berendt, et al., 2015).

- **Crisi epilettiche focali:** caratterizzate da segni lateralizzati e/o regionali (motori, autonomici o comportamentali, da soli o in combinazione), possono essere discretamente localizzate o maggiormente distribuite. Possono avere origine a livello di strutture sottocorticali, e seguire pattern di propagazione preferenziali che possono determinare il coinvolgimento dell'emisfero controlaterale. In questo tipo di crisi, l'attività elettrica anomala si verifica in un gruppo localizzato di neuroni o all'interno di reti neurali limitate a un emisfero cerebrale, e i segni clinici riflettono le funzioni dell'area o delle aree coinvolte (Berendt, et al., 2015).

Le crisi epilettiche focali possono presentarsi come:

- Motorie: caratterizzate da fenomeni motori focali episodici, ad esempio contrazioni del viso, movimenti a scatti della testa, ammiccamento ritmico, contrazioni della muscolatura facciale o scatti ritmici ripetuti di un'estremità;
- Autonomiche: con coinvolgimento delle componenti parasimpatica ed epigastrica, per cui l'animale presenta ad esempio pupille dilatate, ipersalivazione o vomito;
- Comportamentali: caratterizzate da un cambiamento episodico e di breve durata del comportamento, con ansia, irrequietezza, reazioni di paura inspiegabili o anomala ricerca del padrone (Berendt, et al., 2015).

Durante le crisi epilettiche focali vi può essere una compromissione variabile della coscienza; tuttavia, anche se l'animale sembra presentare un'alterazione da quel punto di vista (è sveglio ma confuso, non riconosce il proprietario, non risponde ai comandi), non è consigliabile per noi cercare di dare una valutazione a riguardo, poichè non siamo in grado di valutarlo oggettivamente. Pertanto, non è ragionevole sottoclassificare le crisi epilettiche focali in base a un'eventuale alterazione della coscienza (Berendt, et al., 2015).

- **Crisi epilettiche generalizzate:** caratterizzate, fin dall'inizio, dal coinvolgimento più che minimo di entrambi gli emisferi cerebrali e quindi entrambi i lati del corpo. Originano a livello di reti neurali bilateralmente distribuite. Possono verificarsi da sole oppure rappresentare l'evoluzione di un esordio focale (Berendt, et al., 2015).

Le crisi epilettiche convulsive generalizzate con attività motoria bilaterale possono essere:

- Toniche: caratterizzata da aumento sostenuto della contrazione muscolare, che dura da pochi secondi ad alcuni minuti;
- Cloniche: caratterizzate da una mioclonia che si ripete in modo regolare, coinvolgendo gli stessi gruppi muscolari, con una frequenza di circa 2-3 secondi;
- Tonico-cloniche: caratterizzate da una contrazione tonica simmetrica bilaterale, seguita da contrazioni cloniche bilaterali dei muscoli somatici, di solito associate a fenomeni autonomici;
- Miocloniche: con improvvisa e breve contrazione involontaria singola o multipla di muscoli o gruppi muscolari di topografia variabile, per cui si rilevano movimenti a scatti che di solito interessano entrambi i lati del corpo (Berendt, et al., 2015).

Nei cani e nei gatti le crisi epilettiche generalizzate si presentano prevalentemente come crisi epilettiche toniche, cloniche o tonico-cloniche. Di norma, l'animale perde conoscenza durante le crisi epilettiche convulsive (escluse le crisi miocloniche). Spesso durante la crisi si verificano anche salivazione, minzione e/o defecazione (fatta eccezione, ancora, per le crisi miocloniche) (Berendt, et al., 2015).

Le crisi epilettiche generalizzate non convulsive possono invece essere:

- Atoniche: l'animale va incontro a una perdita improvvisa e generale del tono muscolare, senza un apparente evento mioclonico o tonico precedente, della durata di 1-2 secondi o poco più, e che coinvolge la muscolatura della testa, del tronco, della mascella o degli arti. Di solito provoca il collasso dell'animale (Berendt, et al., 2015).
- **Crisi epilettiche focali ad evoluzione generalizzata:** a partire da un iniziale coinvolgimento cerebrale regionale, le crisi epilettiche focali possono poi diffondere fino ad un coinvolgimento cerebrale bilaterale. La crisi inizia con segni motori, autonomici e/o comportamentali regionali, seguiti rapidamente da una fase convulsiva con attività tonica, clonica o tonico-clonica bilaterale e perdita di coscienza. Questa è la tipologia di crisi più frequentemente osservata nel cane. L'esordio della crisi epilettica focale è spesso molto breve (da pochi secondi a pochi minuti), dopodiché segue la generalizzazione secondaria, con convulsioni (Berendt, et al., 2015).

L'epilessia

Con il termine *epilessia* ci si riferisce a una malattia del cervello caratterizzata da una persistente predisposizione di questo a generare crisi epilettiche. Questa definizione viene solitamente applicata, nella pratica, quando si verificano almeno due crisi epilettiche non provocate a distanza di più di 24 ore l'una dall'altra (Berendt, et al., 2015).

Oltre che in base alla semiologia, le crisi epilettiche e l'epilessia possono essere classificate anche in base all'eziologia che le determina. In passato, in Medicina Veterinaria, tale classificazione comprendeva l'*epilessia idiopatica* (o primaria), l'*epilessia secondaria* (o sintomatica) e l'*epilessia criptogenica*. In Medicina Umana, la classificazione ILAE più recente ha modificato la nomenclatura esistente, individuando tre categorie: *l'epilessia genetica*, *l'epilessia strutturale/metabolica* e *l'epilessia di origine sconosciuta*. Questa nuova

classificazione è stata oggetto di varie discussioni, e il dibattito si è esteso anche alla Medicina Veterinaria (Gandini, L'epilessia del cane: un moderno approccio clinico e terapeutico, 2015). Nel 2015, l'IVETF ha proposto di classificare l'epilessia, in base all'eziologia, in:

- *Epilessia idiopatica*
 - *genetica*
 - *sospetta genetica*
 - *di origine sconosciuta*
- *Epilessia strutturale*: caratterizzata da crisi epilettiche provocate da una patologia intracranica/cerebrale (che può essere di origine infiammatoria/infettiva, traumatica, malformativa o da alterato sviluppo, di origine neoplastica o degenerativa), la quale viene confermata dalla diagnostica per immagini, dall'esame del liquido cerebrospinale, dal test del DNA o dai risultati delle indagini post-mortem.
- *Epilessia di origine sconosciuta* (Berendt, et al., 2015).

Criteri per la diagnosi di crisi epilettica

L'approccio diagnostico al paziente che si presenta con una storia di sospette crisi epilettiche comprende due fasi fondamentali:

1. Stabilire se gli episodi che l'animale sta manifestando rappresentano davvero crisi epilettiche o sono coerenti con un disturbo parossistico episodico diverso;
2. Identificare la causa di fondo dell'attacco epilettico (De Risio, et al., 2015).

L'animale ha crisi epilettiche?

Un'anamnesi dettagliata e accurata è alla base delle indagini sul paziente con crisi epilettiche: il proprietario dovrebbe compilare un questionario standardizzato e fornire, quando possibile, delle riprese video. Queste informazioni possono aiutare il medico a chiarire la natura dell'evento; numerosi disturbi possono provocare, infatti, eventi parossistici episodici che possono imitare le crisi epilettiche (*Tabella 1*) (De Risio, et al., 2015).

Un esame clinico e neurologico completo può aiutare a identificare alterazioni che possono suggerire processi patologici sottostanti, tra cui anomalie del sistema cardiovascolare nei cani con sincope, segni clinici di malattie neuromuscolari, di disturbi del sistema vestibolare o di patologie a carico del prosencefalo (De Risio, et al., 2015).

I disturbi parossistici del movimento o discinesie parossistiche consistono in episodi di contrazione anomala, improvvisa e involontaria di un gruppo di muscoli scheletrici. Questi possono essere difficili da differenziare da crisi epilettiche, in particolare da crisi epilettiche motorie focali. Gli animali affetti da disturbi del movimento sono spesso normali tra un episodio e l'altro. L'assenza di altri segni clinici durante gli episodi (tra cui segni autonomici), di alterazioni dello stato di coscienza e di anomalie elettroencefalografiche, viene considerata indicativa di disturbi parossistici del movimento. Tuttavia, anche le crisi epilettiche focali possono verificarsi senza alcuna alterazione concomitante dello stato di coscienza o segni autonomici, e l'elettroencefalogramma è spesso difficile da eseguire in ambito clinico (De Risio, et al., 2015).

Il segnalamento e l'età di insorgenza dell'evento parossistico possono aiutare a stabilire la natura di questi eventi, in quanto alcuni disturbi del movimento sono specifici della razza e si manifestano generalmente in cani giovani. Fino ad ora il difetto genetico associato (ad esempio, la delezione del gene *BCAN*) è stato identificato solo nei Cavalier King Charles spaniel con discinesia parossistica indotta dall'esercizio fisico (nota anche come *caduta episodica*). Sono in corso indagini genetiche su altre razze, in quanto l'identificazione delle mutazioni genetiche responsabili dei disturbi del movimento specifici della razza migliorerà significativamente la nostra capacità di diagnosticare queste condizioni (De Risio, et al., 2015).

Le crisi epilettiche generalizzate si verificano tipicamente a riposo o durante il sonno, durano meno di 5 minuti e sono di solito seguite da manifestazioni cliniche anomale (segni post-ictali), tra cui disorientamento, irrequietezza, stimolazione, letargia, sonno profondo, fame, sete, atassia, deficit propriocettivi e, meno comunemente, comportamento aggressivo e cecità. La presenza di alterazione della coscienza (ad esempio, alterazione della consapevolezza e della reattività all'ambiente e agli stimoli), il coinvolgimento dei muscoli della regione orale, i segni autonomici e le convulsioni durante l'ictus supportano la classificazione degli episodi come crisi epilettiche (De Risio, et al., 2015).

Durante l'ictus (in particolare durante la fase di crisi epilettica generalizzata) l'animale non può essere distratto e il proprietario non può alterare il corso dell'evento manipolando il cane. Al contrario, i cani con disturbi parossistici del movimento, durante l'evento parossistico continuano, generalmente, a tentare di svolgere l'attività che stavano svolgendo in precedenza (ad esempio, giocare), e l'intervento del proprietario può alterare il corso dell'evento (De Risio, et al., 2015).

Ad esempio, nella maggior parte dei Dobermann con tremore cranico idiopatico, i proprietari hanno riferito che, in alcuni casi, accarezzare i cani, parlare con loro o chiedere loro di alzarsi

è stato sufficiente a interrompere l'episodio. In altri casi, per interrompere l'episodio di tremore alla testa sono stati necessari stimoli più forti, come offrire loro giocattoli o snack preferiti, incoraggiarli, portarli a fare una passeggiata. Analogamente, in uno studio condotto su Bulldog inglesi con tremore cranico idiopatico, diversi proprietari hanno riferito che distrarre il cane o offrirgli del cibo sono sufficienti, di solito, a modificare o interrompere gli episodi (De Risio, et al., 2015).

La conferma assoluta della natura epilettica di un evento può essere ottenuta solo osservando contemporaneamente i cambiamenti EEG e le manifestazioni osservabili delle crisi, ma questo è raramente praticabile in Medicina Veterinaria, e attualmente non esiste un protocollo standard affidabile per l'acquisizione di registrazioni EEG nei cani, e gli artefatti fisiologici (ad esempio, contrazioni muscolari) e i fattori fisici (ad esempio, strumentazione EEG, tipo e montaggio degli elettrodi, metodi di immobilizzazione del paziente) influenzano l'acquisizione e l'interpretazione dei tracciati EEG (De Risio, et al., 2015).

La variabilità dei fattori sopra menzionati ha contribuito alle discrepanze nei risultati di numerosi studi veterinari che valutano l'EEG. Attualmente sono in corso varie ricerche per sviluppare ulteriormente la registrazione EEG nella pratica clinica veterinaria, poichè, anche se è improbabile che questa diventi una procedura diagnostica di routine per tutti i cani epilettici nel prossimo futuro, potrebbe, comunque, cominciare ad essere più ampiamente utilizzata dagli specialisti in Neurologia Veterinaria per l'indagine di casi selezionati (ad esempio, cani in cui la diagnosi di epilessia rispetto ad altri disturbi parossistici episodici è particolarmente difficile) (De Risio, et al., 2015).

Attualmente però, la scarsità di dati in letteratura non consente di proporre una chiara raccomandazione di consenso per la registrazione EEG nei pazienti veterinari (De Risio, et al., 2015).

	Sincope	Narcolisia/ Cataplessia	Debolezza neuronascolare	Cambiamenti parossiftici del comportamento (disturbo convulsivo)	Attacco vestibolare	Disinesia parossiftica	Tremore cranico idropatico	Convulsioni
Stato clinico tra un episodio e l' altro	Normale, oppure aritmia, deficit di polso, soffio cardiaco, cianosi, auscultazione polmonare anomale	Ciclo sonno/veglia alterato, esame ditto normale	Debolezza normale o generalizzata, anofia muscolare, dolore, diminuzione dei riflessi	Normale	Normale	Normale	Normale	Normale o segni presencetralici
Fattore precipitante/scatenante	Esercizio, eccitazione	Eccitazione, alimentazione	Attività/esercizio	Fattori emotivi/stati d' animo (es. paura)	Nessuno	Nessuno/attività, esercizio fisico, eccitazione, stress	Nessuno/stress, affaticamento, sovrastimolazione	Nessuno/luci lampeggianti, ansia stress
Alterazioni prima dell' evento	Nessuna	Nessuna	Nessuna	Nessuna	Nessuna	Nessuna	Nessuna	Si possono osservare segni pre-ictali come ansia, irrequietezza, aumento delle manifestazioni d' affetto, ricerca di contatto, tendenza a nascondersi, aggressività e vocalizzazioni
Descrizione dell' evento	Breve, improvviso crollo e recupero rapido	Collasso improvviso	Andatura rigida e scintillata prima del collasso	L' animale cammina, abbaja, lecca, rincorre oggetti immaginari, rincorre la coda, mastica oggetti	Head tilt, nistagmo, atassia vestibolare, collasso dal lato dell' head tilt	Distonia, corea, ballismo, atetosi, tremori, alterazione della postura, incapacità di stare in piedi/camminare	Movimento ritmico della testa, verticale o orizzontale	Dipende dal tipo di crisi (più comunemente, movimenti tonico-clonici)
Grado di coscienza	Da ridotto ad assente	Normale se solo cataplessia, assente (addormentato) in caso di narcolissia	Normale	Normale	Normale/disorientato	Normale	Normale	Spesso compromessa
Segni autonomici	Possibili anomalie della frequenza e del ritmo cardiaco	Nessuno	Nessuno	Nessuno	Nessuno	Nessuno	Nessuno	Possibile ipersalivazione, defecazione, minzione
Tono muscolare	Flaccido (tutto il corpo)	Flaccido (tutto il corpo)	Spesso flaccido (spastico con alcune miotipie)	Normale	Diminuzione unilaterale del tono muscolare estensorio	Ipertonicità (focale o generalizzata)	Normale	Tipicamente aumentata: movimenti tonici (ipertonicità) o movimenti tonico-clonici alternati
Segni di lateralizzazione	No	No	No	No	SI	Possibile	No	Possibile
Durata	Secondi	Da secondi a minuti	Da minuti ad ore	Da minuti ad ore	Da secondi ad ore	Da secondi ad ore	Da secondi ad ore	Da secondi a minuti, in caso di SE >5 minuti
Cambiamenti post-episdici	Nessuno	Nessuno	Nessuno	Nessuno	Nessuno	Nessuno/stanchezza	Nessuno/sanchezza o irrequietezza	Frequenti segni post-ictali come disorientamento, aggressività, irrequietezza, movimento compulsivo, letargia, sonno profondo, fame, sete, atassia, deficit propriocectivi, cecità
Ulteriori commenti	Può essere accompagnata da tosse o aumento del rumore respiratorio	Spesso si verifica nei cani giovani, di razza	Può essere accompagnata da disfagia, distonia, rigurgito, dispnea	Anamnesi di disturbo d' ansia	Possono persistere lievi segni di malattia vestibolare	L' interazione con il proprietario può alleviare/interrupper e l' episodio. ATTENZIONE ai disturbi specifici della razza e all' età di insorgenza	Gli episodi possono essere interrotti dal proprietario	Muscoli facciali spesso coinvolti durante l' ictus

Tabella 1: Caratteristiche cliniche dei disturbi episodici (De Risio, et al., 2015)

Qual è la causa delle crisi epilettiche?

Dopo aver stabilito che gli eventi parossistici episodici cui è soggetto l'animale rappresentano effettivamente crisi epilettiche, il passo successivo è quello di determinare la causa sottostante, dato che questa influenzerà, naturalmente, l'approccio terapeutico e la prognosi. Sia i disturbi intracranici che quelli extracranici possono causare attività convulsiva (De Risio, et al., 2015).

- **Crisi reattive:** possono derivare da disturbi metabolici (ad esempio, ipoglicemia, disturbi elettrolitici, shunt portosistemico con conseguente encefalopatia epatica) o da intossicazioni (ad esempio, carbammati, organofosfati, avvelenamento da Pb, tossicità da glicole etilenico, metaldeide, stricnina). L'anamnesi e la presentazione clinica possono aiutare il medico a sospettare un'eziologia particolare, anche se la diagnosi di alcune intossicazioni può essere piuttosto impegnativa (De Risio, et al., 2015).

Uno studio ha dimostrato che i cani con crisi reattive causate da un tossico hanno un rischio significativamente più elevato di sviluppare lo *status epilepticus*, in particolare come prima manifestazione di un disturbo convulsivo, rispetto ai cani con altre eziologie convulsive (Zimmermann, Hülsmeier, Sauter-Louis, & Fischer, 2009).

La presentazione clinica nei cani con disturbi metabolici e tossici è variabile e dipende dall'eziologia sottostante. I disturbi tossici hanno spesso un esordio acuto (< 24 ore) e i segni neurologici possono essere preceduti o accompagnati da segni gastrointestinali, cardiovascolari o respiratori. A seconda della tossina specifica, i segni clinici iniziali sono spesso rappresentati da tremori e fascicolazioni muscolari. I disturbi metabolici possono presentarsi con un esordio acuto, subacuto o cronico e possono essere progressivi o recidivanti e remittenti (De Risio, et al., 2015).

Le anomalie cliniche sistemiche possono spesso essere rilevate all'esame fisico generale. In genere l'esame neurologico rivela deficit coerenti con un coinvolgimento diffuso, bilaterale e spesso simmetrico del prosencefalo (De Risio, et al., 2015).

- **Epilessia strutturale:** dovuta ad alterazioni strutturali del prosencefalo, che provocano crisi epilettiche e che comprendono una vasta gamma di condizioni, tra cui malattie vascolari, infiammatorie/infettive, traumatiche, malformative/da alterato sviluppo, neoplastiche e degenerative. L'esame neurologico è spesso anormale e può rivelare deficit neurologici asimmetrici nei cani con patologia cerebrale lateralizzata. Un esame neurologico interictale normale, tuttavia, non esclude completamente l'epilessia strutturale, poiché lesioni focali in particolari aree del prosencefalo, come il bulbo olfattivo, i lobi frontali e piriformi (regioni " clinicamente silenti") possono provocare crisi epilettiche senza altri segni neurologici (De Risio, et al., 2015).

Il tipo di crisi epilettica (ad esempio, focale o generalizzata) non deve essere utilizzato come variabile isolata per prevedere la presenza di una malattia cerebrale strutturale (De Risio, et al., 2015). Sono state segnalate crisi epilettiche focali in cani con epilessia idiopatica, e in uno studio recente la prevalenza di crisi epilettiche generalizzate era simile tra cani con epilessia idiopatica (77%) e cani con lesione cerebrale strutturale asimmetrica (79%) (Armaşu, Packer, Cook, Solcan, & Volk, 2014).

Inoltre, in uno studio condotto su cani con crisi epilettiche associate a neoplasia intracranica, il 93% dei cani presentava crisi epilettiche generalizzate e il 7% crisi epilettiche focali (Schwartz, Lamb, Brodbelt, & Volk, 2011).

- **Epilessia idiopatica:** la diagnosi di epilessia idiopatica è una diagnosi per esclusione. Si basa sull'età di insorgenza delle crisi epilettiche, su esami fisici e neurologici interictali non significativi e sull'esclusione di disturbi cerebrali di origine metabolica, tossica e strutturale mediante indagini diagnostiche. Un'anamnesi di epilessia idiopatica in soggetti imparentati supporta ulteriormente la diagnosi (De Risio, et al., 2015).

2.2 Epilessia idiopatica (IE)

L'espressione *epilessia idiopatica* (dove il termine *idiopatica* sta ad indicare che si tratta di una malattia a sé stante) viene utilizzata per indicare una patologia che può essere suddivisa in tre categorie, la cui distinzione riflette i progressi che sono stati fatti nel campo dell'epilessia idiopatica nei nostri animali:

1. *Epilessia idiopatica genetica* – è stato identificato un gene responsabile della malattia/è stato confermato il ruolo della genetica nell'instaurarsi della malattia;
2. *Epilessia idiopatica sospetta genetica* – si sospetta un'influenza genetica supportata da un'alta prevalenza all'interno della razza (>2%), dall'analisi genealogica e/o dalla presenza di vari individui epilettici tra i consanguinei;
3. *Epilessia idiopatica di origine sconosciuta* – epilessia per la quale la causa è ancora sconosciuta, e in cui non vi è alcuna indicazione di epilessia strutturale (Berendt, et al., 2015).

In un numero significativo di casi, la causa dell'epilessia idiopatica non è chiara. Sebbene i meccanismi alla base dell'epilessia negli animali da compagnia siano in gran parte sconosciuti, è chiaro, ad oggi, che l'epilessia in alcuni cani di razza è il risultato diretto di un difetto genetico, in cui le crisi epilettiche sono il segno clinico principale della malattia (Berendt, et al., 2015).

Questi pazienti presentano una soglia epilettogena più bassa del normale, a causa di un'alterazione dell'ambiente neuronale a livello del prosencefalo, che è probabilmente il risultato di un'alterazione genetica ereditaria. Tale alterazione dell'ambiente neuronale non può essere riconosciuta da alcuna procedura di laboratorio o esame microscopico del cervello (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Soltanto in poche razze l'analisi del DNA ha individuato una precisa mutazione genetica come causa dell'epilessia. I dati a disposizione di solito dimostrano un'ereditarietà autosomica recessiva o poligenica recessiva (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Ciò è stato descritto per il Lagotto Romagnolo, il Pastore Belga e il Boerboel. Un'elevata prevalenza di epilessia in una specifica razza o l'accumulo di individui epilettici all'interno di specifiche famiglie di cani sono forti indicatori di epilessia ereditaria, ma spesso non si sa se i difetti genetici siano l'unica causa dell'epilessia o se questa sia dovuta a cause multifattoriali che includono fattori ambientali, di sviluppo, fattori scatenanti e fattori genetici (Berendt, et al., 2015).

Va tenuto presente, naturalmente, che l'epilessia idiopatica può essere presente anche in cani non di razza (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

La reale prevalenza dell'epilessia nei cani è sconosciuta, ed è stata stimata allo 0,6-0,75 % nella popolazione canina generale. Nelle razze predisposte all'epilessia idiopatica, sono stati riportati tassi di prevalenza notevolmente più alti rispetto alla prevalenza stimata per la popolazione canina generale, e questo è uno dei motivi per cui si sospetta una componente genetica in alcune razze canine (Hülsmeier, et al., 2015).

Studi epidemiologici di prevalenza di popolazione in razze specifiche con epilessia idiopatica sono stati condotti nel Labrador Retriever (3,1 %), nel Pastore Belga (9,4 %) e nel Petit Basset Griffon Vendéen (8,9 %), e studi di pedigree sono stati condotti, tra gli altri, nel Boxer, nell'Irish Wolfhound, nello Springer Spaniel inglese, nel Bracco Ungherese (Vizsla), nel Bovaro del Bernese, nello Standard Poodle, nel Pastore Belga, nel Border Collie, nel Pastore Australiano e nel Border Terrier, e questi hanno fornito prove di epilessia ereditaria (Berendt, et al., 2015).

Presentazione clinica dell'epilessia idiopatica nelle diverse razze

Nell'epilessia idiopatica, le crisi sono solitamente generalizzate, ma si verificano anche diverse forme focali. L'esordio delle crisi è generalmente compreso tra 1 e 5 anni di età, ma sono stati riconosciuti sia esordi più precoci che più tardivi. Le crisi durano di solito da 30 secondi a 3 minuti. Le razze grandi presentano spesso crisi generalizzate molto gravi, che possono verificarsi a grappoli. L'intervallo tra le crisi varia da una o poche settimane a mesi (la frequenza delle crisi può aumentare con l'avanzare dell'età, soprattutto se queste non vengono trattate, e il cane può occasionalmente sviluppare *status epilepticus*) (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

I dati attuali mostrano che i decorsi clinici, la semiologia delle crisi, le risposte al trattamento e l'ereditarietà possono differire sostanzialmente tra le razze canine e anche tra popolazioni geograficamente distinte della stessa razza, il che mette ulteriormente in evidenza la complessità della malattia. In sintesi, possiamo dire che la conoscenza e la considerazione di queste differenze specifiche di razza (o anche di popolazione) è importante in quanto può potenzialmente influenzare la scelta del regime di trattamento, la prognosi del paziente e i consigli dati ai proprietari di un cane epilettico (Hülsmeier, et al., 2015).

Studi recenti hanno dunque analizzato le caratteristiche cliniche dell'epilessia idiopatica in alcune razze predisposte. Ad esempio, nel 2022 Santifort e colleghi hanno condotto un'analisi retrospettiva dei dati di 116 pazienti di razza Border Collie (BC) affetti da IE in tre ospedali veterinari (tra Belgio e Paesi Bassi) al fine di descrivere le caratteristiche specifiche della

malattia in questa razza e valutare le correlazioni tra variabili fenotipiche e punteggi di qualità della vita (QoL) forniti dal proprietario. Secondo gli autori dello studio, infatti, le osservazioni di razze particolari con forme di IE gravi (caratterizzate da elevata frequenza di crisi epilettiche, da crisi a grappolo o da *status epilepticus*) o resistenti ai farmaci sarebbero in grado di fornire incentivi per la ricerca sulla malattia (tramite, ad esempio, studi genetici) (Santifort, et al., 2022).

I cani inclusi nello studio erano stati presentati per un consulto clinico con un neurologo specialista presso uno dei tre ospedali veterinari di riferimento nel periodo compreso tra il 2016 e il 2021, e i risultati dei loro test diagnostici erano stati coerenti con una diagnosi di IE. 86/116 soggetti erano in trattamento con farmaci antiepilettici, e di questi il 40% riceveva un solo farmaco, mentre il 60% era in terapia con almeno due farmaci antiepilettici (il che ha suggerito una forma di IE difficile da trattare). La comparsa di CS (crisi a grappolo) e SE (*status epilepticus*) è stata segnalata in 114 cani, e l'età all'esordio della prima crisi epilettica è risultata significativamente inferiore per i cani che avevano manifestato CS, SE o entrambi (mediana di 27 mesi) rispetto ai cani che non avevano manifestato alcuna delle due condizioni (mediana di 43 mesi). Inoltre, secondo i dati raccolti, questi cani avevano maggiori probabilità di morire rispetto ai cani che non avevano sperimentato CS o SE, il che indica che il verificarsi di queste condizioni possa essere indice, per il cane, di una prognosi peggiore (Santifort, et al., 2022).

Il fattore scatenante più frequentemente registrato è stato lo stress, mentre l'irrequietezza e la ricerca dell'attenzione dei proprietari sono risultati i segni pre-ictali più diffusi. Il tipo di crisi predominante era di tipo tonico-clonica generalizzata, e solo pochi cani avevano crisi epilettiche focali (da sole o aggiuntive), caratterizzate come autonome, comportamentali o motorie. Il camminare senza meta e la letargia sono stati i segni post-ictali identificati più comunemente. La QoL dei BC con IE è stata valutata con un punteggio mediano di 7 su 10, il che, secondo gli autori, può essere interpretato soggettivamente come buono, nonostante la gravità della malattia nei BC. Secondo i punteggi riportati, i proprietari hanno valutato che la QoL del loro cane era diminuita di una mediana del 30% durante il corso della vita dell'animale, e il 39% dei proprietari ha riportato che questa era diminuita almeno del 50%. I cani con CS e/o SE avevano un punteggio significativamente inferiore rispetto ai cani senza CS e/o SE (questo conferma che una maggiore gravità dell'IE determina una diminuzione della QoL del cane percepita dal proprietario) (Santifort, et al., 2022).

Lo studio ha confermato l'associazione, nei BC, tra l'età di insorgenza della prima crisi e la gravità dell'epilessia, e ha caratterizzato ulteriormente il fenotipo della malattia in questa razza di cane. Inoltre, ha fornito prove del fatto che la qualità della vita in questo tipo di cani può

risultare pesantemente influenzata dalla malattia, in particolare per quei soggetti che manifestano crisi a grappolo (Santifort, et al., 2022).

Con le stesse finalità, è stato condotto recentemente uno studio su 49 cani di razza Setter Irlandese (IS): è stata eseguita un'analisi trasversale dell'IE in una popolazione olandese di IS, relativamente alla comparsa delle crisi, all'esito clinico e alle relazioni familiari (i casi sono stati raccolti tramite il *Dutch Irish Setter Club*, cui è stato chiesto di inviare un questionario ai proprietari di cani IS vivi e deceduti con una storia di crisi epilettiche) (Plonek, et al., 2022).

I risultati dello studio hanno riportato IE e EUC (epilessia di origine sconosciuta) nella popolazione canina, sulla base dei questionari sottoposti ai proprietari. Le crisi epilettiche in questa razza erano prevalentemente di tipo tonico-cloniche generalizzate (con segni post-ictali nella maggior parte dei cani), e si verificavano più comunemente nei maschi rispetto alle femmine. Le crisi presentavano anche un esordio tardivo rispetto a ciò che è stato riportato in altre razze segnalate: l'età media di insorgenza delle crisi era di 41 mesi. Per il 54% dei soggetti sono state segnalate crisi a grappolo (la presenza di questa condizione è risultata inferiore rispetto a quanto rilevato per i BC nello studio sopracitato, ma superiore rispetto quanto riportato, ad esempio, nel Pastore Belga e nel Pastore Australiano in studi precedenti). L'incidenza dello *status epilepticus*, invece, è risultata bassa nella popolazione studiata. (Plonek, et al., 2022).

Non sono stati segnalati fattori scatenanti noti, mentre i segni prodromici sono stati osservati dalla maggior parte dei proprietari. I segni comportamentali precedenti o successivi a una crisi epilettica erano coerenti con quelli precedentemente riportati nel cane e nell'uomo (inclusi disorientamento, segni autonomici, irrequietezza e letargia). Tutti i cani riportati in questo studio avevano crisi generalizzate, con generalizzazione primaria o secondaria (quest'ultima, in un cane). Una maggiore incidenza di crisi generalizzate rispetto alle crisi focali è stata segnalata, in passato, in altre razze di cani, come il Golden Retriever, il Labrador Retriever, l'Irish Wolfhound e lo Shetland Sheepdog. Gli autori dello studio sono stati concordi su una forte componente genetica nei Setter Irlandesi, e sul fatto che l'alta percentuale di crisi a grappolo supporta, in questa razza, l'inizio di una terapia antiepilettica precoce (Plonek, et al., 2022).

In cani giovani appartenenti alla razza Rhodesian Ridgeback (RR) è stata descritta un'epilessia mioclonica generalizzata specifica della razza, con esordio precoce (da 6 settimane a 18 mesi), che presenta alcuni parallelismi con l'epilessia mioclonica giovanile degli esseri umani (*juvenile myoclonic epilepsy – JME*), la quale è una delle forme più comuni di epilessia nell'uomo: come negli esseri umani, gli scatti manifestati dall'animale sono bilaterali, aritmici,

a volte asimmetrici, predominanti sugli arti superiori e sul tronco (in alcuni RR sono presenti anche movimenti di cenno del capo), e un'altra caratteristica importante condivisa con la JME umana è la manifestazione con fotosensibilità (che però non è presente in tutti i cani affetti da questo tipo di epilessia, il che può riflettere le influenze dell'età, del sesso o del background genetico individuale dei soggetti) (Wielaender, et al., 2017).

È stata identificata una delezione recessiva completamente penetrante di 4 bp nel gene DIRAS1, con un'alterazione dell'espressione della proteina DIRAS1 nel cervello colpito. Il gene DIRAS1 presenta un robusto pattern di espressione nei tessuti del SNC. La proteina fa parte della famiglia Ras delle piccole GTPasi, che sono state collegate a molte vie di segnalazione cellulare nella crescita e differenziazione cellulare, nella plasticità sinaptica, nell'apprendimento e nella memoria. Sebbene le funzioni nei mammiferi siano sconosciute, alcuni studi condotti su *Caenorhabditis elegans* hanno suggerito che DIRAS1 sia necessaria per la trasmissione dell'acetilcolina alle giunzioni neuromuscolari; in un modello di pesce zebra è stato inoltre ipotizzato che questa svolga un ruolo nella migrazione cellulare, nella crescita dei neuriti e nell'architettura dei dendriti nel SN in via di sviluppo. Una funzione anormale di DIRAS1 potrebbe alterare la neurotrasmissione colinergica o la formazione di circuiti neuronali e l'assemblaggio di reti nel cervello in via di sviluppo, con conseguente epilessia mioclonica e fotosensibilità (Wielaender, et al., 2017).

L'epilessia mioclonica giovanile nell'uomo e nel cane condivide dunque un'ampia gamma di caratteristiche simili, come le crisi miocloniche, le crisi tonico-cloniche generalizzate, le caratteristiche EEG ictali e interictali e la fotosensibilità. La malattia si manifesta in pazienti giovani in entrambe le specie, ma l'esordio può essere molto più precoce nel cane, con alcuni soggetti di appena 6 settimane di età. Negli esseri umani con JME, oltre alle crisi miocloniche e alle crisi tonico-cloniche generalizzate (80-95% dei pazienti), è riportato un terzo tipo di crisi, ovvero le crisi di assenza (circa il 30% dei pazienti). Un *case report* del 2018 riporta le crisi di assenza come altro tipo di crisi possibili nell'epilessia mioclonica giovanile dei cani RR, completando la triade di crisi osservate negli esseri umani con JME e rafforzando i parallelismi di questa forma di epilessia canina con la JME umana. (Wielaender, et al., 2018).

In futuro, le conoscenze specifiche sulla razza e le sindromi epilettiche potrebbero essere definite in modo più dettagliato, il che potrebbe non solo far progredire la ricerca futura nell'identificazione delle mutazioni genetiche causali, ma anche favorire lo sviluppo di concetti di trattamento "personalizzati" o "specifici per la razza" (Hülsmeier, et al., 2015).

Approccio diagnostico

In ambito clinico l'epilessia idiopatica rimane generalmente una diagnosi per esclusione, che si fa dopo che le indagini diagnostiche hanno dimostrato l'inconsistenza dell'ipotesi di crisi reattive o di epilessia strutturale (De Risio, et al., 2015).

Non è disponibile, ad oggi, alcun test diagnostico conclusivo per questo disturbo (con grande disappunto dei proprietari di animali che presentano crisi epilettiche). Questo aspetto potrebbe cambiare, in futuro, quando gli studi genetici renderanno disponibili test per le mutazioni genetiche che sono ritenute causa del disturbo epilettico (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Secondo l'*International Veterinary Epilepsy Task Force Consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs* (2015), i criteri per la diagnosi di epilessia idiopatica sono descritti secondo un sistema a tre livelli (De Risio, et al., 2015).

1. Il Livello di confidenza I prevede:

- un'anamnesi di due o più crisi epilettiche non provocate verificatesi a distanza di almeno 24 ore l'una dall'altra;
- un'età al momento dell'insorgenza della crisi epilettica compresa tra 6 mesi e 6 anni;
- esame fisico e neurologico interictale normale (ad eccezione delle anomalie neurologiche indotte dai farmaci antiepilettici e dei deficit neurologici post-ictali);
- nessuna anomalia clinicamente significativa negli esami del sangue e delle urine di base. Questi ultimi comprendono: emocromo completo (CBC), profilo biochimico del siero (sodio, potassio, cloruro, calcio, fosfato, ALT, ALP, bilirubina totale, urea, creatinina, proteine totali, albumina, glucosio, colesterolo, trigliceridi e acidi biliari a digiuno e/o ammoniemia). L'analisi delle urine prevede la valutazione di peso specifico, proteine, glucosio, pH e citologia del sedimento. Un'anamnesi familiare di IE supporta ulteriormente la diagnosi (De Risio, et al., 2015).

I cani con sospette anomalie neurologiche indotte dai farmaci antiepilettici e/o deficit neurologici post-ictali devono essere riesaminati quando raggiungono le concentrazioni sieriche dei farmaci allo stato stazionario e si verifica la risoluzione delle alterazioni post-ictali (entro meno di una settimana) (De Risio, et al., 2015).

Comorbidità neurocomportamentali possono verificarsi nei cani con IE, analogamente a quanto avviene nei pazienti umani, e la loro presenza non dovrebbe dunque implicare

una diagnosi di epilessia strutturale. Tuttavia, in questi cani sono raccomandati studi di risonanza magnetica dell'encefalo e analisi del liquor (De Risio, et al., 2015).

Ulteriori parametri da valutare in laboratorio, in base al grado di sospetto della malattia, sono:

- acidi biliari a digiuno e postprandiali, ammoniemia a digiuno ed ecografia addominale quando si sospetta un'encefalopatia epatica;
- T4 totale (TT4), T4 libero (fT4) e TSH quando si sospettano disturbi della tiroide (gli esami della tiroide devono essere eseguiti prima di un trattamento a lungo termine con i farmaci antiepilettici a causa delle possibili interazioni tra i farmaci e gli ormoni tiroidei);
- fruttosamina, curva glicemica e/o rapporto glucosio/insulina quando si sospetta un insulinoma;
- attività della CK sierica e livelli di lattato quando si sospetta una malattia muscolare (i risultati dovrebbero essere interpretati tenendo in considerazione il tempo trascorso dall'ultimo evento epilettico, e la gravità e la durata di quest'ultimo, in quanto un'eccessiva attività muscolare durante l'attività epilettica può aumentare transitoriamente l'attività della CK e i livelli di lattato);
- sierologia/PCR/test antigenico per le malattie infettive locali (questi dovrebbero essere eseguiti ogni volta che si sospettano disturbi infettivi);
- vitamina B12 se si sospetta un malassorbimento della cobalamina;
- calcio ionizzato quando si sospetta un'ipocalcemia;
- test per tossine specifiche o screening tossicologico mediante spettroscopia di massa quando si sospetta un'esposizione a tossine;
- quantificazione di aminoacidi e acidi organici e determinazione di glicosamminoglicani, oligosaccaridi, purine e pirimidine nel siero, nel liquor o nelle urine quando si sospettano anomalie congenite del metabolismo;
- test genetici quando si sospetta un disturbo con mutazioni genetiche note (ad esempio, epilessia giovanile familiare benigna nel Lagotto Romagnolo, epilessia mioclonica progressiva nei Bassotti a pelo ruvido, aciduria L-2-idrossiglutarica negli Staffordshire Bull Terrier);
- esami di diagnostica per immagini a livello di torace e addome quando si sospettano metastasi di neoplasie intratoraciche o intraddominali;
- esame del fondo oculare e misurazione non invasiva della pressione sanguigna quando si sospetta ipertensione (De Risio, et al., 2015).

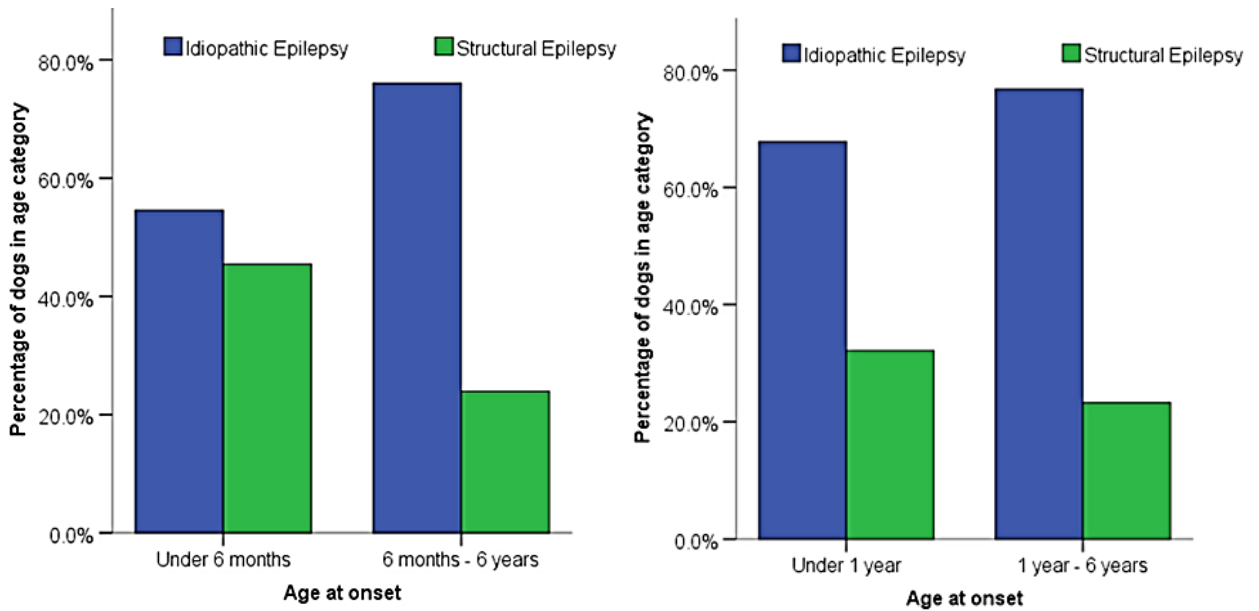


Figura 3: Percentuali di cani con epilessia idiopatica ed epilessia strutturale, confrontati in base all'età al momento dell'esordio della crisi epilettica (De Risio, et al., 2015)

2. Il **Livello di confidenza II** prevede acidi biliari a digiuno e postprandiali nella norma, e anche risonanza magnetica dell'encefalo e analisi del liquor normali, in aggiunta ai requisiti elencati per il *Livello di confidenza I*. Se la risonanza magnetica identifica anomalie compatibili con cambiamenti associati alle crisi, il protocollo di risonanza magnetica deve essere ripetuto dopo un intervallo di 16 settimane senza crisi (quando possibile) (De Risio, et al., 2015).

Se i risultati dell'analisi di routine del liquor sono alterati, è necessario eseguire ulteriori test sul liquor e sul siero per la ricerca di disturbi infettivi regionali. Le anomalie del liquor (generalmente lievi) possono verificarsi come conseguenza dell'attività epilettica delle crisi, e il tempo di risoluzione delle anomalie del liquor associate alle crisi epilettiche non è noto. Se sono presenti anomalie del liquor ma i risultati delle indagini per i disturbi infettivi sul liquor e sul siero sono negativi e la risonanza magnetica cerebrale non mostra alterazioni o mostra alterazioni post-ictali, l'analisi del liquor deve essere ripetuta dopo un intervallo libero da crisi di almeno 6 settimane (De Risio, et al., 2015).

3. Il **Livello di confidenza III** prevede l'identificazione di anomalie EEG ictali o interictali caratteristiche dei disturbi convulsivi secondo criteri convalidati in Medicina Umana, oltre ai requisiti elencati per i Livelli I e II. Tuttavia, sono necessarie ulteriori

ricerche per definire il protocollo ottimale per l'uso dell'EEG nella pratica clinica veterinaria (De Risio, et al., 2015).

L'epilessia idiopatica, come citato in precedenza, rappresenta una diagnosi per esclusione, e in questa la risonanza magnetica gioca un ruolo significativo nel dimostrare l'assenza di lesioni strutturali nel prosencefalo (tenendo sempre presente che una risonanza magnetica normale non esclude una lesione prosencefalica come causa delle crisi epilettiche, in quanto la lesione potrebbe non essere rilevabile con questa modalità diagnostica). Inoltre, i cani con presunta epilessia idiopatica presentano, occasionalmente, lesioni alla risonanza magnetica, che sono probabilmente un effetto piuttosto che la causa delle ripetute crisi (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

È stato riscontrato, infatti, che l'attività epilettica può determinare alterazioni di segnale nel parenchima cerebrale alla risonanza magnetica eseguita entro 14 giorni dall'ultima crisi epilettica. Tali alterazioni di segnale possono essere unilaterali o bilaterali, prevalentemente nei lobi piriforme e temporale e talvolta anche nel bulbo olfattivo e nel lobo frontale. Sono caratterizzate da vari gradi di iperintensità sulle immagini pesate in T2, FLAIR e in diffusione, da ipointensità sulle immagini pesate in T1 e, occasionalmente, da un aumento del contrasto (Mellema, et al., 1999).

Solo in seguito al trattamento antiepilettico, queste alterazioni del segnale si sono parzialmente o completamente risolte, come si evince dalla risonanza magnetica ripetuta da 10 a 16 settimane dall'inizio della terapia anticonvulsivante. Ciò suggerisce che tali alterazioni rappresentano molto probabilmente un edema citotossico e vasogenico indotto dalle crisi epilettiche (Mellema, et al., 1999). Risultati simili, infatti, sono riportati negli umani, e si presume che siano legati all'effetto eccitotossico dell'acido glutammico accumulato, che porta all'edema citotossico (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

L'esame istologico della corteccia temporale, dell'ippocampo e del lobo piriforme colpiti ha rivelato edema, neo-vascolarizzazione, astrocitosi reattiva e necrosi neuronale acuta. La risonanza magnetica dell'encefalo ripetuta dopo un periodo di controllo delle crisi, insieme ai risultati delle analisi cliniche e del liquor, può aiutare a differenziare i cambiamenti indotti dalle crisi epilettiche dalle lesioni strutturali infiammatorie o neoplastiche epilettogeniche (Mellema, et al., 1999).

Uno studio condotto su cani affetti da epilessia idiopatica ha identificato anche un'associazione tra la conta dei globuli bianchi nel liquor e l'intervallo di tempo tra l'ultima crisi e il prelievo

del liquor: è stato visto che più lungo è l'intervallo di tempo, più bassa è la conta dei globuli bianchi nel liquor (che in tutti i cani dello studio rientrava, comunque, nell'intervallo di riferimento). Non è stata riscontrata alcuna associazione significativa tra la concentrazione di proteine nel liquor e il momento in cui è stato fatto il prelievo, né tra la natura dell'evento convulsivo (crisi singola o crisi a grappolo) e la composizione del liquor (Gonçalves, Anderson, Innocent, & Penderis, 2010).

La fisiopatologia della pleiocitosi liquorale indotta dalle crisi rimane poco chiara. È possibile che un'alterazione transitoria della funzione della barriera ematoencefalica (dimostrata dopo le crisi in animali da esperimento) e il rilascio di sostanze chemiotattiche nel liquor durante le crisi provochino queste anomalie del liquor (Schmidley & Simon, 1981).

Esami del liquor ripetuti dopo un intervallo libero da crisi non hanno rivelato anomalie (Edwards, Schmidley, & Simon, 1983).

Evoluzione dell'epilessia idiopatica nel tempo

Nel cane, come nell'uomo, l'epilessia non trattata o trattata in modo inadeguato tende a peggiorare nel tempo, con un aumento della frequenza e/o della durata delle crisi. Per spiegare questo fenomeno sono stati ipotizzati i meccanismi noti come *kindling* e *mirroring*. Il termine *kindling* si riferisce al reclutamento, nel tempo, di neuroni precedentemente non ipereccitabili in un gruppo di neuroni ipereccitabili (il focus della crisi), attraverso la costante stimolazione di questi neuroni da parte del focus della crisi all'interno dello stesso emisfero cerebrale. Il *mirroring* è simile al *kindling*, ma comporta il reclutamento, nel focus della crisi, di neuroni dell'emisfero cerebrale opposto, attraverso il corpo calloso (Dewey & da Costa, Practical Guide to Canine and Feline Neurology - 3rd edition, 2016). Dunque, un focus speculare di neuroni epilettogeni (cosiddetti "*mirror foci*", focolai specchio) può svilupparsi in una regione omologa dell'emisfero opposto. Se questo avviene, il numero di foci epilettogeni può moltiplicarsi rapidamente (Platt & Olby, BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology - fourth edition, 2014).

L'importanza di questi fenomeni sta nel fatto che, quando un paziente continua ad avere crisi epilettiche, aumenta il numero di aree cerebrali che sono casualmente e spontaneamente in grado di innescare una crisi epilettica. Pertanto, il successo della gestione medica di questo paziente può diventare più impegnativo. La prevenzione di tutto ciò si basa principalmente

sull'impostazione di una terapia medica appropriata (Platt & Olby, BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology - fourth edition, 2014).

3. TRATTAMENTO FARMACOLOGICO

Per quanto riguarda il trattamento dell'epilessia idiopatica nel cane, non vi è alcun dubbio, ad oggi, sul fatto che la somministrazione dei farmaci antiepilettici (*AED – antiepileptic drugs*) rappresenti il pilastro della terapia (Bhatti, et al., 2015).

Riguardo a questo gruppo di farmaci, è importante sottolineare che la definizione “antiepilettici” che viene riservata loro, viene utilizzata in modo inappropriato: attraverso vari meccanismi, infatti, questi non vanno a contrastare l'epilettogenesi o i meccanismi fisiopatologici che determinano l'epilessia, ma vanno semplicemente a sopprimere le crisi epilettiche. A questo proposito è possibile che, in futuro, a tali molecole venga attribuito il nome di *farmaci anticrisi*, piuttosto che di antiepilettici, applicando alla Neurologia Veterinaria un termine che è sempre più utilizzato per l'epilessia umana (Bhatti, et al., 2015).

3.1 Trattamento con AED: il pilastro della terapia

Obiettivo del trattamento con AED

L'obiettivo ideale della terapia con farmaci antiepilettici è quello di bilanciare la riduzione delle crisi epilettiche con la salvaguardia della qualità della vita del paziente. L'eliminazione totale delle crisi epilettiche rappresenta spesso un traguardo improbabile nel cane: obiettivi più realistici sono la riduzione di frequenza, durata, gravità e numero totale delle crisi, senza che vi siano effetti avversi legati alla somministrazione dei farmaci, o facendo in modo che questi vengano ridotti al minimo (Bhatti, et al., 2015).

In Medicina Veterinaria, il clinico dovrebbe approcciarsi al trattamento dell'epilessia idiopatica secondo il seguente paradigma:

- Decidere quando iniziare il trattamento con un farmaco antiepilettico;
- Scegliere il farmaco e il dosaggio più appropriati;
- Decidere se e quando è necessario monitorare le concentrazioni sieriche del farmaco, e adattare il trattamento di conseguenza;
- Sapere quando aggiungere un altro farmaco alla terapia, o quando passare alla monoterapia con un altro farmaco;
- Promuovere la compliance del proprietario dell'animale (Bhatti, et al., 2015).

Quando iniziare la terapia?

La decisione di iniziare il trattamento con un AED si basa su diversi fattori, tra cui l'eziologia, il rischio di recidiva, il tipo di crisi, la tollerabilità e gli effetti avversi. I fattori di rischio di recidiva non sono ancora stati ben definiti nel cane; nell'uomo, invece, sono stati identificati alcuni fattori di rischio relativi, tra cui una diagnosi di lesioni o traumi cerebrali attuali o pregressi, presenza di scariche epilettiche interictali in EEG, e una storia di effetti avversi post-ictali marcati (Podell, et al., 2016).

In Medicina Umana esistono linee guida ben definite, proposte da vari gruppi internazionali, in base al rapporto rischio/beneficio e ai fattori di prevedibilità dell'effetto del farmaco. All'interno di queste, si evidenziano alcuni punti in comune fondamentali che guidano la pratica clinica in Medicina Umana, e che potrebbero rappresentare una base per la formulazione di linee guida razionali per il trattamento dei pazienti veterinari:

- la conferma dell'evento epilettico e del tipo di crisi;
- il raggiungimento di una diagnosi definitiva;
- la consapevolezza che l'attività convulsiva ricorrente è correlata a un più scarso successo del trattamento a lungo termine;
- l'influenza del trattamento sulla qualità della vita del paziente (*QoL – Quality of Life*) (Podell, et al., 2016).

Pertanto, la decisione di intraprendere la terapia è legata agli obiettivi del trattamento: ridurre o eliminare gli eventi epilettici, diminuire la gravità delle crisi, evitare il più possibile gli effetti avversi e ridurre mortalità e morbilità correlate alle crisi (Podell, et al., 2016).

Un cane che si presenta per una singola crisi epilettica e che presenta esame fisico, neurologico, ed esami di laboratorio normali, non deve essere sottoposto alla terapia. Si ritiene però che i cani che hanno una seconda crisi epilettica siano a rischio di un aumento della frequenza o della durata delle crisi, e in tal caso andrebbe presa in considerazione una terapia antiepilettica (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Non è possibile prevedere l'insorgenza di crisi a grappolo o l'evoluzione in *status epilepticus* (condizioni, entrambe, che mettono a rischio la vita del paziente), e la crisi stessa può provocare lesioni cerebrali dovute all'ipossia associata all'apnea (che si evidenzia in caso di crisi prolungata) e all'effetto eccitotossico dell'acido glutammico accumulato. Inoltre, l'ipertermia secondaria alle crisi epilettiche prolungate o ricorrenti può causare coagulazione intravasale disseminata e morte (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Ad oggi ancora non disponiamo di dati definitivi su quando iniziare la terapia con farmaci antiepilettici in base alla frequenza e al tipo di crisi. A questo proposito, come citato in

precedenza, a partire dalle linee guida in Medicina Umana è possibile definire delle linee anche in Medicina Veterinaria. I medici dovrebbero considerare lo stato di salute generale del paziente, così come lo stile di vita del proprietario, i suoi limiti finanziari e la confidenza che lo stesso proprietario dimostra con il regime terapeutico proposto (Bhatti, et al., 2015).

È fondamentale l'impostazione di una terapia personalizzata, e, come regola generale, l'IVETF raccomanda di iniziare un trattamento a lungo termine, nei cani con epilessia idiopatica, nel momento in cui si verifica una qualsiasi delle seguenti situazioni:

- **Periodo interictale \leq 6 mesi** (cioè presenza di 2 o più crisi epilettiche in un periodo di 6 mesi);
- **Status epilepticus o crisi a grappolo;**
- I **segni post-ictali** sono considerati **particolarmente gravi** (ad esempio, presenza di aggressività o cecità) **o durano più di 24 ore;**
- La **frequenza e/o la durata** delle crisi epilettiche **aumenta e/o la gravità** delle crisi **peggiora nell'arco di 3 periodi interictali** (Bhatti, et al., 2015).

Nel cane, la gestione a lungo termine delle crisi epilettiche è ritenuta più efficace quando la terapia con un appropriato farmaco antiepilettico viene iniziata precocemente, in particolare nei cani con un'alta densità di crisi e nelle razze canine note per essere affette da forme gravi di epilessia (Bhatti, et al., 2015).

In uno studio del 2014 si riscontra, infatti, che la densità delle crisi che caratterizza la malattia, dunque l'andamento temporale dell'attività convulsiva del paziente, rappresenta un fattore predittivo importante di farmacoresistenza: questi risultati sono in linea con gli studi clinici sull'epilessia umana e con i modelli sperimentali di epilessia nei roditori, secondo i quali i pazienti che sperimentano episodi di alta densità di crisi (crisi a grappolo) sono a maggior rischio di refrattarietà ai farmaci (Packer, Shihab, Torres, & Volk, 2014). Non è noto, ancora, se questo risultato rappresenta un effetto delle crisi a grappolo, che promuovono l'epilettogenesi e causano danni cerebrali che a loro volta provocano crisi resistenti ai farmaci, o se è in realtà un riflesso di una malattia più aggressiva e più difficile da trattare. Inoltre, anche il fatto che il paziente sia di sesso maschile rappresenta un fattore associato ad una ridotta risposta agli antiepilettici (Packer, Shihab, Torres, & Volk, 2014).

Senza la collaborazione del proprietario, non è possibile ottenere un controllo efficace delle crisi: il proprietario deve comprendere l'importanza della somministrazione quotidiana del farmaco ed essere consapevole del fatto che il trattamento non può essere interrotto poiché questo potrebbe determinare l'insorgenza di crisi (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

A volte, nei pazienti in cui il controllo delle crisi è stato raggiunto, si possono verificare delle ricadute: l'esacerbazione del disturbo epilettico dopo un periodo di efficace controllo delle crisi non indica necessariamente la presenza di una lesione strutturale progressiva, ma può semplicemente essere indice del fatto che il paziente necessita di una terapia più vigorosa. Allo stesso modo, le crisi epilettiche che cambiano quanto a semiologia non implicano necessariamente la presenza di una lesione strutturale sottostante (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Valutazione dell'esito dell'intervento terapeutico

Secondo l'IVETF, in ragione della moltitudine di eziologie, della variabilità interindividuale del quadro clinico, e visto che la risposta ai regimi terapeutici standard differisce enormemente tra i singoli pazienti, la gestione terapeutica di cani e gatti affetti da epilessia rappresenta una sfida. Ad oggi sono urgentemente necessari criteri comuni per

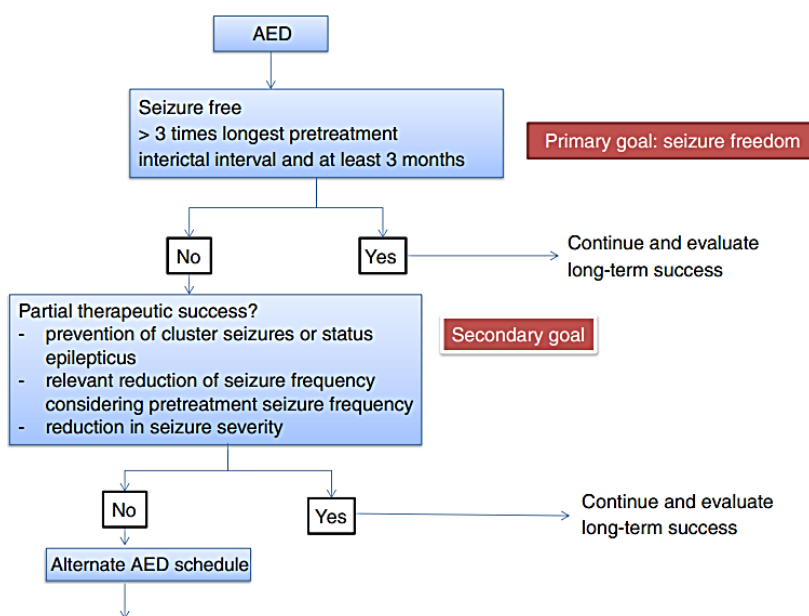


Figura 4: Proposta di algoritmo da parte di IVETF per la gestione della terapia con AED (Potschka, et al., 2015)

la diagnosi di resistenza ai farmaci e per la valutazione della risposta del paziente alla terapia, come prerequisito per una valutazione standardizzata delle risposte terapeutiche individuali nei cani affetti da epilessia idiopatica. Nella valutazione dell'esito dell'intervento terapeutico, oltre all'impatto di questo sulle crisi epilettiche, ci sono molti altri aspetti che andrebbero considerati (Potschka, et al., 2015).

Vi è concordanza sul fatto che l'assenza di crisi epilettiche sia l'obiettivo primario nella gestione terapeutica dei pazienti con epilessia idiopatica, visti i pericolosi effetti che una condizione di crisi ricorrenti può determinare sull'animale; tale condizione rientra quindi in quello che viene definito *successo terapeutico*. In aggiunta a questo, viene introdotto, però, il

concetto di *successo terapeutico parziale*, come obiettivo secondario del trattamento: questo corrisponde a uno stato di riduzione della frequenza e della gravità delle crisi, e di prevenzione delle crisi a grappolo o dello *status epilepticus*. Anche il raggiungimento di un successo terapeutico parziale può essere di notevole rilevanza clinica nei pazienti veterinari: può influire significativamente sulla *QoL* del paziente e del proprietario, fino ad influenzare la decisione del proprietario di praticare l'eutanasia (Potschka, et al., 2015).

Per quanto riguarda l'impatto sulla frequenza delle crisi epilettiche, è necessario prendere in considerazione la frequenza delle crisi prima della terapia. I proprietari spesso considerano accettabile una soglia di meno di una crisi in tre mesi; pertanto, a seconda della frequenza delle crisi pretrattamento, una riduzione della densità delle crisi a un determinato intervallo, ad esempio una crisi ogni tre mesi, può essere considerata un risultato rilevante. Inoltre, una riduzione della gravità delle crisi può rappresentare un successo clinicamente significativo se, ad esempio, si impedisce la diffusione dell'attività convulsiva, dunque la generalizzazione delle crisi a esordio focale (Potschka, et al., 2015).

Nell'*International veterinary epilepsy task force consensus proposal: outcome of therapeutic interventions in canine and feline epilepsy* viene suggerito che il termine *farmaco-resistente* sia sempre utilizzato insieme alla specificazione dei farmaci in questione (ad esempio *fenobarbital resistente*, *imepitoina resistente* e/o *bromuro resistente*). La definizione della task force dell'ILAE indica un "programma di farmaci antiepilettici scelto in modo appropriato" come presupposto per le conclusioni sull'esito del trattamento (Potschka, et al., 2015).

Altri aspetti importanti da considerare nell'ambito della valutazione dell'esito della terapia, sono:

1. l'impatto del trattamento sulle comorbidità neurocomportamentali;
2. gli eventuali effetti avversi legati alla somministrazione di AED;
3. l'impatto della terapia sulla qualità della vita del paziente e del proprietario (Potschka, et al., 2015).

1. Comorbidità neurocomportamentali

Per quanto riguarda le comorbidità neurocomportamentali, studi sperimentali e studi condotti su pazienti umani indicano un legame bidirezionale tra crisi epilettiche e sintomi psicologici (Tang, Michaelis, & Kwan, 2014). Evidenze scientifiche suggeriscono non solo che la presenza

di epilessia aumenta il rischio di disturbi neurocomportamentali, ma anche che una storia di depressione o di ansia aumenta il rischio di crisi non provocate e di epilessia (Shihab, Bowen, & Volk, 2011).

Nei pazienti umani epilettici, le comorbidità dell'epilessia, definite come disturbi medici o psichiatrici che si presentano con una frequenza superiore al normale, giocano un ruolo cruciale sulla qualità della vita del paziente e sull'efficacia del trattamento: le comorbidità neurocomportamentali possono essere invalidanti, e influenzare a volte la qualità della vita del paziente in misura maggiore rispetto alle convulsioni. L'aumento della prevalenza di disturbi psichiatrici (come il disturbo da deficit di attenzione e iperattività, la depressione e i disturbi d'ansia) è stato attribuito al peso psicosociale dell'epilessia, ma anche alle alterazioni molecolari e cellulari che sono associate alla malattia stessa. Si ipotizza anche che in alcuni casi l'epilessia e le comorbidità siano entrambe il risultato di meccanismi sottostanti simili. Studi condotti su modelli animali hanno confermato come i meccanismi fisiopatologici dell'epilessia abbiano un impatto diretto sulle comorbidità neurologiche (Stafstrom, 2014).

Per adesso, tuttavia, mancano dati sulle comorbidità dell'epilessia nel cane e sulla possibile comparsa di alterazioni comportamentali con lo sviluppo dell'epilessia in questa specie (Shihab, Bowen, & Volk, 2011).

In uno studio condotto su pazienti canini cui era stata diagnosticata l'epilessia idiopatica, nei cani *naïve* ai farmaci lo sviluppo della malattia ha comportato un aumento di alterazioni comportamentali come paura/ansia, aggressività difensiva e comportamenti anomali (abbaiare senza causa apparente, inseguire ombre o punti luminosi, camminare senza meta e fissare il vuoto). Con l'inizio della terapia farmacologica, l'aggressività difensiva si è attenuata, ma sono state evidenziate altre alterazioni comportamentali (come reattività anomala, disturbo dell'attaccamento, demenza e atteggiamento apatico). Non è stata individuata alcuna correlazione tra il tipo di crisi (generalizzate/focali/focali con generalizzazione secondaria) e la prevalenza delle comorbidità neurocomportamentali. Le alterazioni comportamentali, inoltre, erano più marcate nei cani con epilessia farmaco-resistente (Shihab, Bowen, & Volk, 2011).

Uno studio recente ha valutato le eventuali differenze comportamentali legate alla funzione cognitiva tra cani con IE e cani sani. Sono stati reclutati i proprietari di otto razze di cani precedentemente identificate come a maggior rischio di IE rispetto agli incroci (Golden Retriever, Labrador, Cocker Spaniel, Border Terrier, Pastore Tedesco, Parson Jack Russell Terrier, Boxer e Border Collie), cui sono stati sottoposti questionari convalidati sul comportamento del cane: per i cani appartenenti al gruppo di controllo, il questionario indagava il comportamento attuale, mentre per i cani affetti da IE, le domande vertevano sul

comportamento del cane sia prima che dopo l'esordio della malattia. Le informazioni sui farmaci assunti e sul cambiamento nella frequenza delle crisi sono state raccolte per consentire l'assegnazione di categorie agli animali (farmaco-reattivi, parzialmente farmaco-reattivi e resistenti ai farmaci) (Watson, Packer, Rusbridge, & Volk, 2020).

I cani con IE hanno ricevuto punteggi CBARQ post-insorgenza di IE significativamente più alti per "paura o aggressività diretta verso altri cani", "paura non sociale", "attaccamento/ricerca dell'attenzione", "deficit di attenzione". I cani con IE hanno ottenuto punteggi significativamente più bassi per "addestrabilità" rispetto ai controlli; inoltre, l'"addestrabilità" è diminuita dopo l'insorgenza di IE. Ciò può riflettere una compromissione dell'apprendimento e/o della memoria, che potrebbe essere dovuta a danni progressivi dovuti all'attività convulsiva, all'effetto del farmaco antiepilettico, a un comportamento simile al disturbo da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) o a deficit cognitivi più ampi, senza comorbidità specifiche come l'ADHD (Watson, Packer, Rusbridge, & Volk, 2020).

Sono stati osservati cambiamenti comportamentali nei cani con IE rispetto agli stessi cani prima dell'insorgenza della malattia, che possono essere classificati come comportamenti ansiosi e legati all'attenzione. Decifrare quali cambiamenti comportamentali sono il risultato di una vera comorbidità dell'epilessia e quali sono una conseguenza dei farmaci è difficile. Lo stato farmacologico riferito dal proprietario non ha influenzato in modo significativo alcun fattore comportamentale, anche se i cani resistenti ai farmaci avevano una "addestrabilità" significativamente inferiore rispetto ai cani sensibili o parzialmente sensibili ai farmaci (Watson, Packer, Rusbridge, & Volk, 2020).

La relazione tra resistenza ai farmaci e comportamento del paziente è una questione controversa nella ricerca sull'epilessia umana: gli eventuali cambiamenti comportamentali del paziente epilettico sono un risultato del fenotipo iniziale dell'epilessia o sono dovuti alla progressiva degenerazione del cervello dovuta alla crisi epilettiche ricorrenti? Esistono prove a sostegno di entrambe le parti (Watson, Packer, Rusbridge, & Volk, 2020).

Questi dati sottolineano la necessità di valutare l'effetto di un regime terapeutico sul comportamento dei pazienti. Pertanto, è necessario sviluppare ulteriormente sistemi standardizzati per la valutazione delle comorbidità comportamentali specifiche dell'epilessia, ed è necessario che i dati in questione siano raccolti prima dell'inizio della terapia, in quanto grazie a queste informazioni di base sarà possibile distinguere tra le alterazioni associate alla malattia e gli effetti benefici o dannosi dei farmaci antiepilettici (Potschka, et al., 2015).

Si raccomanda, inoltre, di indagare a fondo lo stato endocrino, considerando che in particolare la funzione tiroidea potrebbe essere alterata in relazione allo sviluppo dell'epilessia e al

trattamento con farmaci antiepilettici, e che lo stato funzionale della tiroide ha un impatto importante sul comportamento e sulla funzione cerebrale (Potschka, et al., 2015).

2. Effetti avversi dei farmaci antiepilettici

Per quanto riguarda gli effetti avversi dei farmaci, i problemi di tollerabilità costituiscono un importante fattore limitante nella gestione terapeutica dell'epilessia in pazienti umani e animali, e possono contribuire in modo significativo al peso della terapia nella vita del paziente e quindi influenzare enormemente il tasso di ritenzione del farmaco in questione, ovvero la percentuale di pazienti che continua effettivamente ad assumere il farmaco dopo un periodo prolungato di trattamento. Pertanto, l'entità e il decorso degli effetti avversi devono essere attentamente monitorati quando si valuta l'esito complessivo di un approccio terapeutico in un singolo paziente (Potschka, et al., 2015).

In generale, è importante distinguere tra reazioni avverse correlate alla dose e reazioni idiosincratice, nonché tra effetti transitori ed effetti a lungo termine. La valutazione ripetuta degli effetti avversi è necessaria durante le fasi di titolazione, ma anche durante la terapia cronica. Esistono differenze interindividuali evidenti nella suscettibilità agli eventuali effetti avversi, e occorre considerare che possono verificarsi aggiustamenti e tolleranze selettive a specifici effetti avversi, e che l'invecchiamento o lo sviluppo di multimorbidità possono alterare la predisposizione dei singoli pazienti (Potschka, et al., 2015).

Si raccomanda vivamente l'introduzione di questionari standardizzati basati su punteggi Likert o VAS che comprendano un elenco di effetti indesiderati, frequenti e rari, e che consentano un confronto ripetuto durante il trattamento farmacologico. Il confronto con la condizione iniziale pre-trattamento è particolarmente importante, e la valutazione dovrebbe includere anche esami di laboratorio pre-trattamento e post-trattamento (che dovrebbero includere emocromo, profilo biochimico sierico esteso, urine, valutazione della funzionalità epatica, acidi biliari o ammoniemia pre e postprandiali) (Potschka, et al., 2015).

Nonostante vi sia un dibattito in merito, si raccomanda di controllare attentamente lo stato endocrino, poiché la funzione tiroidea potrebbe essere influenzata dalla malattia e dal suo trattamento, e potrebbe a sua volta influire sulle condizioni generali del paziente, con un impatto significativo sul suo comportamento e sul peso corporeo. In caso di effetti avversi gravi può essere necessario interrompere la somministrazione di uno specifico farmaco antiepilettico; in questo caso, si raccomanda di riportare nella cartella clinica del paziente la dicitura "trattamento

non tollerato", specificando il farmaco in questione (ad esempio *Fenobarbital non tollerato*) (Potschka, et al., 2015).

3. Impatto della terapia sulla QoL del paziente e del proprietario

La misura più importante dell'esito di una patologia cronica come l'epilessia è la qualità della vita (*QoL*). Per i cani, la *QoL* è un riflesso non solo del grado di successo terapeutico, ma anche di una convivenza accettabile con la malattia (Podell, et al., 2016).

Quanto all'impatto del regime terapeutico sulla *QoL* come criterio per la valutazione dell'esito della terapia, è chiaro che mentre un migliore controllo delle crisi epilettiche può esercitare effetti benefici sulla *QoL*, gli effetti avversi possono contribuire al carico del paziente (Potschka, et al., 2015).

La *Società internazionale per la ricerca sulla QoL* considera la *QoL* correlata alla salute come l'effetto funzionale di una condizione medica e/o della conseguente terapia su un paziente, sottolineando che essa è soggettiva e multidimensionale, e comprende la funzione fisica e lavorativa, lo stato psicologico, l'interazione sociale e le sensazioni somatiche. È ovvio che la valutazione della qualità della vita correlata alla salute in Medicina Veterinaria si limita solo ad alcuni di questi aspetti (Potschka, et al., 2015).

Studi condotti su cani affetti da epilessia hanno riportato che la *QoL* del proprio animale domestico è un aspetto importante del successo del trattamento per i proprietari, e che l'epilessia nel cane influisce sulla *QoL* dell'animale ma anche sulla *QoL* di chi se ne prende cura (Wessmann, Volk, Parkin, Ortega, & Anderson, 2014).

La percezione della *QoL* di un paziente veterinario da parte del proprietario gioca un ruolo fondamentale nelle decisioni importanti riguardanti la gestione terapeutica dell'epilessia o la decisione di eutanasia, nel caso, soprattutto, di un paziente con epilessia difficile da trattare o resistente ai farmaci (Potschka, et al., 2015).

La determinazione della *QoL* è fortemente influenzata dall'onere imposto ai membri della famiglia (Podell, et al., 2016). È stato dimostrato che la percezione della qualità della vita del cane da parte del proprietario è correlata negativamente con la quantità di lavoro richiesta per la cura dell'animale (Lord & Podell, 1999).

Se lo stress emotivo, le sfide psicosociali, il carico economico o una combinazione di questi fattori (associati alla presenza di un cane epilettico in famiglia) superano le aspettative dei proprietari, questi ultimi sceglieranno l'eutanasia. È stato segnalato, infatti, che i cani con

epilessia hanno un rischio maggiore di morte prematura a seguito di eutanasia (Podell, et al., 2016).

Ad oggi, non esistono questionari standardizzati e convalidati per la valutazione della QoL nei cani affetti da epilessia (Podell, et al., 2016).

I problemi sono associati al fatto che la QoL del proprietario può costituire un *bias* nella valutazione che lo stesso proprietario fa della QoL dell'animale, proprio perchè l'assistenza a un cane con epilessia idiopatica ha dimostrato di avere un forte impatto sulla QoL di chi se ne prende cura. Pertanto, è di particolare importanza non solo valutare la QoL del paziente con questionari sottoposti al proprietario, ma anche valutare la QoL dello stesso *caregiver*, e considerare entrambi (Potschka, et al., 2015).

Con lo studio prospettico condotto nel 2014, Wessmann e colleghi hanno selezionato un elenco di domande chiave per la valutazione della QoL, rivolte ai *caregiver* di cani affetti da epilessia idiopatica, con l'obiettivo di fornire un questionario facile da usare, che rappresenti un gold standard, in futuro, per la valutazione di questo parametro. Nel questionario, le domande che riguardavano il paziente si concentravano sul controllo delle crisi e sugli effetti avversi dei farmaci antiepilettici, mentre le domande relative al proprietario riguardavano le restrizioni alla vita del *caregiver*, le sue frustrazioni, il disagio del proprietario rispetto agli effetti avversi dei farmaci antiepilettici, l'ansia del *caregiver* per l'evento convulsivo e la percezione dell'uso del diazepam per via rettale (Wessmann, Volk, Parkin, Ortega, & Anderson, 2014).

La valutazione della QoL dovrebbe essere effettuata idealmente prima dell'inizio del trattamento, dopo l'inizio del trattamento, e dopo eventuali cambiamenti relativi alla scelta del farmaco o al suo dosaggio (Potschka, et al., 2015). Inoltre, dato che l'epilessia può cambiare nel tempo e la QoL può variare annualmente, si raccomanda una valutazione annuale della QoL (Wessmann, Volk, Parkin, Ortega, & Anderson, 2014).

Sono necessari ulteriori studi per sviluppare un sistema di punteggio che permetta di confrontare la QoL tra i vari pazienti e tra i vari studi (Wessmann, Volk, Parkin, Ortega, & Anderson, 2014). Si rende necessaria l'introduzione di strumenti standardizzati di valutazione della QoL nei cani affetti da epilessia idiopatica sottoposti a trattamento farmacologico (Potschka, et al., 2015).

Criteri per un approccio terapeutico adeguato

Per consentire conclusioni valide riguardo all'esito del trattamento terapeutico su un paziente, ogni trattamento dovrebbe essere condotto utilizzando dosi ottimali dei farmaci, per escludere

il rischio di *pseudoresistenza*. Quest'ultima viene definita come la mancanza di risposta, da parte del paziente, a causa di un regime di dosaggio o di trattamento inadeguato, e può avere molteplici ragioni (Potschka, et al., 2015).

In primo luogo è necessario verificare la compliance del proprietario del paziente e, in caso di dubbio, controllare la concentrazione plasmatica del farmaco. Se pertinente, in base al meccanismo d'azione di un farmaco antiepilettico, si raccomanda di controllare le concentrazioni allo stato stazionario nei pazienti veterinari e i livelli sierici minimi (*trough levels*) del farmaco, misurati immediatamente prima della somministrazione di una nuova dose dello stesso. In generale, si raccomandano schemi standardizzati di monitoraggio dei livelli del farmaco (Potschka, et al., 2015).

In uno studio che ha confrontato l'influenza della tempistica del prelievo di sangue sulle concentrazioni sieriche di fenobarbital nel cane, non è stata evidenziata alcuna differenza tra la concentrazione minima del farmaco (misurata appena prima di una nuova somministrazione) e quella misurata a 3 ore e a 6 ore dalla somministrazione. Ciò dimostra che nel caso del fenobarbital, ad esempio, la tempistica del prelievo di sangue non è così importante quando il farmaco viene somministrato due volte al giorno (Levitski & Trepanier, 2000).

Tuttavia, è probabile che il momento del prelievo sia importante quando i farmaci antiepilettici commercializzati per i pazienti veterinari non sono riusciti a ottenere il controllo delle crisi, con conseguente utilizzo di farmaci sviluppati per i pazienti umani. Le caratteristiche farmacocinetiche dei farmaci antiepilettici per pazienti animali sono spesso non ottimali, e spesso non sono state studiate in dettaglio. Pertanto, la scelta di intervalli di somministrazione adeguati richiede un'attenta considerazione e un controllo attraverso la determinazione della concentrazione minima del farmaco. La determinazione di quest'ultima è di particolare interesse anche nel caso in cui le crisi epilettiche si verificano prevalentemente durante la notte (Potschka, et al., 2015).

Naturalmente, è necessario considerare anche le possibili interazioni farmacologiche con i regimi politerapici (Potschka, et al., 2015).

Come citato in precedenza, la libertà dalle crisi è l'obiettivo primario nella gestione terapeutica dei pazienti affetti da epilessia. Un intenso dibattito ha riguardato la durata minima che deve avere uno studio terapeutico affinché consenta di trarre conclusioni sulla libertà dalle crisi nel corso del trattamento. Una task force istituita dall'ILAE ha proposto di considerare un paziente libero da crisi in risposta a un nuovo intervento quando non si è verificata alcuna crisi "in un periodo di tempo della durata superiore di almeno tre volte la durata del suo più lungo intervallo interictale pretrattamento nei 12 mesi precedenti, oppure nel corso di 12 mesi, a seconda di

quale sia il periodo più lungo". La valutazione durante un periodo di tempo pari ad almeno tre volte la durata del più lungo intervallo interictale precedente al trattamento si ritiene che corrisponda a una certezza del 95% che la frequenza delle crisi del paziente sia almeno diminuita. Tuttavia, è stato anche sottolineato che questa certezza viene raggiunta solo nei pazienti con un'elevata frequenza di crisi. Se è stata raggiunta una libertà dalle crisi pari ad almeno tre volte il più lungo intervallo interictale pretrattamento, ma per meno di 12 mesi, il controllo delle crisi, come risultato del trattamento, viene considerato "indeterminato" finché la libertà dalle crisi non dura almeno 12 mesi (Kwan, et al., 2010).

Secondo altri autori, in alcuni casi potrebbe essere necessario un tempo di attesa più lungo. Gli autori hanno suggerito di considerare la probabilità di successo terapeutico prima dell'intervento, che per esempio può essere significativamente ridotta nei pazienti con una storia di molteplici tentativi terapeutici falliti (Westover, et al., 2012).

In Medicina Veterinaria, mancano i dati necessari per trarre conclusioni affidabili riguardo la probabilità pre-intervento terapeutico, pertanto si raccomanda di considerare la proposta della Task Force ILAE come base per la classificazione degli esiti delle crisi nei pazienti veterinari. Tuttavia, le limitazioni statistiche, che sono più pronunciate nei pazienti con bassa frequenza di crisi, devono essere considerate quando si traggono conclusioni (Potschka, et al., 2015).

È necessario sottolineare però, che ancora oggi il concetto di successo terapeutico che raccoglie il maggior consenso è quello che prevede una diminuzione di almeno il 50% della frequenza delle crisi epilettiche rispetto al periodo pretrattamento dopo una terapia con uno o due farmaci a dosaggi plasmatici adeguati. Questa definizione, nonostante presenti dei limiti, ha il pregio di essere di semplice comprensione e utilizzabile nella pratica quotidiana. Sulla base di ciò, si può definire l'epilessia come "epilessia refrattaria" quando non si ottiene una diminuzione di almeno il 50% della frequenza delle crisi epilettiche dopo una terapia con uno o due farmaci a dosaggi plasmatici adeguati (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

In questo contesto, è importante notare che nei cani, nel corso di un regime di trattamento antiepilettico cronico, è stato segnalato lo sviluppo di *tolleranza*. Occorre quindi distinguere tra tolleranza farmacocinetica, legata all'accelerazione del metabolismo e dei tassi di eliminazione dei farmaci, e tolleranza farmacodinamica, legata ad alterazioni dei siti di destinazione dei farmaci. La distinzione tra le due è rilevante dal punto di vista clinico, in quanto mentre la tolleranza farmacocinetica può essere superata modificando il dosaggio o gli intervalli di somministrazione, ciò potrebbe non essere possibile per la tolleranza farmacodinamica (Potschka, et al., 2015).

Il fenomeno della tolleranza può portare a ricadute dopo periodi prolungati di trattamento farmacologico (il cosiddetto "effetto luna di miele"). Si sottolinea che le ricadute sono possibili anche dopo i 12 mesi sopra citati dall'inizio del trattamento, e che un follow-up continuo delle crisi durante gli anni successivi è fondamentale per trarre conclusioni su un successo terapeutico a lungo termine. In questo contesto, è importante considerare che la ricomparsa delle crisi durante la terapia potrebbe riflettere anche una "regressione verso la media", poiché i pazienti spesso entrano negli studi quando la frequenza delle crisi è elevata, e per i primi mesi questa potrebbe risultare ridotta semplicemente a causa della sua naturale fluttuazione individuale (Potschka, et al., 2015).

Diverse questioni possono portare alla decisione, da parte del proprietario e del Medico Veterinario, di interrompere uno specifico trattamento. In questi casi, è di estrema importanza documentare le ragioni dell'interruzione nella cartella clinica del paziente, indicando se la decisione è dovuta a problemi di tollerabilità, mancanza di efficacia, mancanza di compliance, considerazioni finanziarie o altre ragioni. Tali informazioni saranno rilevanti per le future decisioni di gestione terapeutica nel corso della vita del paziente, e saranno particolarmente importanti qualora il paziente in futuro venga inserito in studi clinici (Potschka, et al., 2015).

Quale farmaco scegliere

Quando si sceglie un farmaco antiepilettico per la gestione dell'epilessia nel cane, è necessario prendere in considerazione diversi fattori: fattori specifici del farmaco (ad esempio, aspetti normativi, sicurezza, tollerabilità, effetti avversi, interazioni farmacologiche, frequenza di somministrazione), fattori legati al paziente (come il tipo di crisi, la frequenza e l'eziologia, eventuali patologie sottostanti, come problemi renali/epatici/gastrointestinali) e fattori legati al proprietario (stile di vita, condizioni finanziarie). Alla fine, la scelta del farmaco è spesso determinata caso per caso (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Fino a tempi recenti, le opzioni di trattamento per il cane affetto da epilessia idiopatica si sono concentrate principalmente sul fenobarbital (PB) e sul bromuro di potassio (KBr), in quanto AED più antichi, utilizzati da più tempo, caratterizzati da ampia disponibilità e basso costo. Sebbene entrambi siano ancora ampiamente utilizzati nella pratica veterinaria, ad oggi, come trattamento aggiuntivo nella gestione dell'epilessia idiopatica nel cane, vengono impiegati anche farmaci antiepilettici di più recente scoperta, approvati per l'uso nell'uomo. Molti di questi nuovi farmaci sembrano essere relativamente sicuri nel cane, tra cui levetiracetam, zonisamide, felbamato, topiramato, gabapentin e pregabalin. Gli studi farmacocinetici sulla lacosamide e sulla rufinamide supportano l'uso potenziale di questi farmaci nel cane, ma non sono ancora stati valutati in ambito clinico. È importante sottolineare, infatti, che sebbene questi nuovi farmaci abbiano guadagnato una notevole popolarità nella gestione dell'epilessia nel cane, i dati scientifici sulla loro sicurezza ed efficacia sono limitati, e il costo è spesso proibitivo (Bhatti, et al., 2015).

Box 12.1. Factors affecting anti-epileptic medication choice.

Medication-specific factors

- safety
- tolerability
- mechanism of action
- efficacy
- metabolism
- pharmacokinetics
- pharmacokinetic interactions
- formulation
- frequency of administration
- expense
- availability

Patient-related factors

- seizure type
- seizure frequency
- seizure aetiology
- co-morbidities
- co-medications
- insurance coverage

Pet owner-related factors

- lifestyle (e.g. possibility to administer AEM multiple times a day at regular intervals, every day)
- ability to cope with initial or potential adverse effects
- financial circumstances

Figura 5: Fattori fondamentali nella scelta dell'AED (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014)

L'AED ideale dovrebbe avere un'elevata biodisponibilità, un legame proteico basso e non saturabile, e una farmacocinetica lineare con una clearance non influenzata dalla compromissione

renale; dovrebbe dimostrare, inoltre, una rapida penetrazione cerebrale, un'emivita di eliminazione che consenta la somministrazione una o due volte al giorno,

Old generation		New generation		
First generation (1957–1988)	Second generation (1989–2007)	Third generation (2008–2009)	Next generation (2010–2013)	
Bromide	Felbamate	Lacosamide	Brivaracetam	
Phenobarbital	Gabapentin	Rufinamide	Imepitoin (ELB138)	
Benzodiazepines	Zonisamide	Eslicarbazepine acetate	Carisbamate	
Primidone	Levetiracetam		Flurofelbamate	
Phenytoin	Pregabalin		Tiagabine	
Carbamazepine	Topiramate		Losigamone Retigabine	
Valproate	Lamotrigine		Remacemide	
Ethosuximide	Oxcarbazepine		Seletacetam	
	Vigabatrin			

Figura 6: Farmaci antiepilettici categorizzati in base alla generazione (anno di immissione sul mercato) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014)

nessuna inibizione o induzione enzimatica, ridotte interazioni farmacocinetiche ed effetti avversi, e un'elevata efficacia antiepilettica. Tuttavia, attualmente non esiste un AED di questo tipo. Inoltre, l'AED ideale dovrebbe essere dotato di attività anti-epilettogena (dovrebbe prevenire, interrompere o invertire il processo epilettogeno) o essere in grado di modificare positivamente la malattia (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

I meccanismi d'azione dei farmaci antiepilettici comprendono:

- la modulazione dei canali ionici;
- il potenziamento della neurotrasmissione inibitoria;
- l'attenuazione della neurotrasmissione eccitatoria (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Monitoraggio della terapia

Gli obiettivi del monitoraggio dei livelli sierici minimi (*trough levels*) di qualsiasi AED sono:

- determinare le concentrazioni effettive del farmaco dopo l'inizio di un trattamento efficace;
- determinare se l'insuccesso del farmaco è dovuto a fattori farmacocinetici, e in questo caso concentrarsi su una modifica della dose, o a fattori farmacodinamici, e considerare, allora, un cambiamento di farmaco;
- determinare se l'insuccesso del trattamento è causato da una scarsa compliance o da una concentrazione di farmaco inadeguata o modificata;
- prevenire gli effetti tossici;
- contribuire ad adattare la terapia al paziente (Podell, et al., 2016).

Il confronto ottimale di concentrazioni successive di uno stesso farmaco si ottiene al meglio andando a valutare concentrazioni determinate dopo lo stesso intervallo di tempo dalla somministrazione del farmaco in questione. I livelli sierici minimi (*trough levels*) sono utilizzati al meglio quando i pazienti hanno maggiori probabilità di avere crisi epilettiche poco prima della successiva dose programmata per quanto riguarda quei farmaci con emivita di eliminazione ridotta, e nel caso in cui si sospetti una reazione anomala al farmaco (Podell, et al., 2016).

L'utilizzo cronico di un farmaco antiepilettico richiede, per il paziente, il raggiungimento di una condizione di stato stazionario, in cui una specifica dose di farmaco e uno specifico intervallo di tempo determinano una concentrazione sierica del farmaco che resta all'interno di

un intervallo di riferimento. Quest'ultimo rappresenta l'intervallo terapeutico di riferimento, ed è un concetto statistico basato sulla popolazione: in base a questo concetto, la maggior parte dei pazienti avrà crisi epilettiche al di sotto del limite inferiore dell'intervallo, e la maggior parte dei pazienti avrà effetti tossici al di sopra del limite superiore dell'intervallo. In generale, comunque, l'intervallo terapeutico è determinato al meglio su base individuale: gli aggiustamenti si basano infatti sull'efficacia che il farmaco dimostra su ciascun paziente, e sulla tolleranza dimostrata da quest'ultimo (Podell, et al., 2016).

3.2 I farmaci antiepilettici

Dal 1993, più di una dozzina di nuovi farmaci antiepilettici sono stati approvati per il trattamento dell'epilessia nell'uomo. Questi tendono a offrire una migliore tollerabilità, minori effetti collaterali e un minore potenziale di interazioni farmacologiche rispetto ai farmaci antiepilettici convenzionali. Molti di essi sono stati valutati su base preclinica negli animali, tanto che sono disponibili dati sulla farmacocinetica e sulla tossicità nei cani: grazie a questi studi, diversi farmaci hanno dimostrato di non essere adatti per l'uso in pazienti veterinari a causa delle differenze di specie quanto a farmacocinetica, che rendono il farmaco inefficace (Muñana K. R., Management of Refractory Epilepsy, 2013).

Inoltre, le differenze di specie nel metabolismo di queste molecole possono comportare nei nostri animali un profilo di sicurezza sfavorevole. Tuttavia, molti dei nuovi farmaci che hanno dimostrato di avere una farmacocinetica favorevole e sufficienti dati di sicurezza sono ora utilizzati nella pratica veterinaria. Sono stati pubblicati studi che valutano l'uso di gabapentin, zonisamide, levetiracetam e pregabalin per il trattamento dell'epilessia refrattaria nel cane, ed è stata descritta la farmacocinetica di topiramato, lacosamide e rufinamide nella specie canina (Muñana K. R., Management of Refractory Epilepsy, 2013).

La maggior parte delle informazioni cliniche disponibili sui farmaci più recenti derivano, tuttavia, da studi retrospettivi o prospettici in aperto, in cui i risultati del trattamento non vengono confrontati con alcun gruppo di controllo. Di conseguenza, è probabile che l'efficacia riportata sia esagerata. Molti studi sull'epilessia sono progettati per valutare una risposta positiva alla terapia, che è definita come una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi. I soggetti che raggiungono questo livello di controllo delle crisi vengono classificati come

responder. Tuttavia, un'analisi di tre studi sull'epilessia canina controllati con placebo ha dimostrato che una grande percentuale di cani risponde positivamente al trattamento con il solo placebo, con una riduzione $\geq 50\%$ delle crisi. Questa risposta al placebo è stata attribuita al naturale decorso dell'epilessia nel tempo, al potenziale miglioramento della cura del paziente durante la partecipazione allo studio e a *bias* legati sia agli sperimentatori che ai proprietari degli animali (Muñana K. R., Management of Refractory Epilepsy, 2013).

La presenza di un forte effetto placebo suggerisce che i risultati degli studi open-label, in particolare quelli che coinvolgono un piccolo numero di animali, devono essere interpretati con una certa cautela (Muñana K. R., Management of Refractory Epilepsy, 2013).

Ad eccezione del fenobarbital, del bromuro di potassio e dell'imepitoina, nessuno dei farmaci discussi nella sezione seguente è approvato per il trattamento dell'epilessia canina e quindi, in base alle leggi europee, questi farmaci possono essere utilizzati solo come trattamento aggiuntivo se la monoterapia o la politerapia con i trattamenti approvati hanno fallito (Bhatti, et al., 2015).

Fenobarbital

Il fenobarbital (PB) è un barbiturico dotato di un gruppo fenilico, ed è il farmaco antiepilettico utilizzato da più tempo in Medicina Veterinaria (Podell, et al., 2016). Rappresenta in genere il farmaco di prima scelta nei cani e nei gatti epilettici grazie al suo profilo farmacocinetico, alla relativa sicurezza, al costo accessibile, all'efficacia e ai maggiori dati disponibili in letteratura rispetto ad altri AED (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dopo decenni di utilizzo, è stato approvato nel 2009 per la prevenzione delle crisi epilettiche generalizzate nel cane (Bhatti, et al., 2015).

Meccanismo d'azione

Il PB aumenta la soglia epilettogena del paziente, e riduce la diffusione dell'attività elettrica ai neuroni circostanti. L'esatto meccanismo d'azione non è stato ancora completamente compreso, ma ad oggi sappiamo che il meccanismo principale con cui agisce prevede il potenziamento, a livello di SNC, dell'inibizione neuronale postsinaptica grazie all'aumento della reattività al neurotrasmettitore inibitorio GABA: il farmaco si lega al recettore GABA_A, e agisce sia determinando direttamente l'apertura dei canali del cloro, sia aumentando l'affinità

del GABA per il proprio recettore (grazie ad un effetto allosterico). Ciò comporta l'apertura del canale ionico del cloro per un periodo di tempo maggiore, e un maggiore ingresso dello ione, con aumento della sua concentrazione all'interno del neurone; quest'ultima condizione determina un'iperpolarizzazione della membrana del neurone postsinaptico (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Altri meccanismi proposti per l'attività del PB a livello di SNC prevedono l'interazione del farmaco con i recettori del glutammato, con conseguente diminuzione delle correnti neuronali eccitatorie postsinaptiche, l'inibizione dei canali del calcio voltaggio-dipendenti, con conseguente diminuzione dell'afflusso di calcio nei neuroni, e il legame competitivo per il sito di legame della picrotossina sul canale del cloro (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Farmacocinetica

Il PB presenta un'elevata biodisponibilità: viene assorbito entro 2 ore dalla somministrazione orale, e il picco ematico viene raggiunto entro 4-8 ore dalla somministrazione. Circa il 50% del farmaco è legato alle proteine plasmatiche. La maggior parte del fenobarbital viene metabolizzata dal fegato, mentre circa un terzo viene escreto immodificato nelle urine (Podell, et al., 2016). Per questa ragione, il PB è controindicato nei cani con disfunzioni epatiche (Bhatti, et al., 2015).

Ha un tempo di emivita plasmatica abbastanza variabile tra soggetti, compreso comunque, nel cane, in un intervallo tra 40 e 90 ore. Lo *steady state* viene raggiunto dopo 10-15 giorni dall'inizio del trattamento (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022). Pertanto, la determinazione dei livelli sierici è inaffidabile fino a diverse settimane dopo l'inizio della terapia o dopo la modifica del dosaggio (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Il PB attraversa la placenta e può essere teratogeno (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Diverse formulazioni di PB sono disponibili in diversi paesi. Sono disponibili formulazioni ad uso parenterale per via IM o EV, utili per somministrare la terapia di mantenimento nei pazienti ospedalizzati che non sono in grado di assumere farmaci per via orale (le formulazioni IM non possono essere utilizzate per via endovenosa e viceversa). L'emivita di eliminazione nei cani dopo una singola dose endovenosa è di circa 93 ore (Bhatti, et al., 2015). Esiste una variabilità individuale nell'assorbimento, nell'escrezione e nell'emivita di eliminazione del PB (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

Nel cane, il PB ha una straordinaria capacità di indurre la produzione degli enzimi epatici preposti al suo catabolismo, per cui nel tempo, a parità di dose assunta quotidianamente, i livelli plasmatici del farmaco tendono a diminuire e, di conseguenza, la sua efficacia terapeutica tende a ridursi (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

È infatti un induttore dell'attività del citocromo P450 nel fegato, e nel tempo può portare ad un'accelerazione della clearance non solo di se stesso (nota anche come *tolleranza farmacocinetica*), ma anche di composti endogeni (come gli ormoni tiroidei) (Bhatti, et al., 2015). Al dosaggio clinico, è stata dimostrata l'induzione delle sottofamiglie CYP1A, CYP2B, CYP2C e CYP3A (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Di conseguenza, con la somministrazione cronica di PB nei cani, la sua clearance totale aumenta, e l'emivita di eliminazione diminuisce progressivamente (si stabilizza tra i 30-45 giorni dopo l'inizio della terapia) (Bhatti, et al., 2015).

Questo può portare a una riduzione delle concentrazioni sieriche di PB e a un fallimento terapeutico; pertanto, il monitoraggio delle concentrazioni sieriche del farmaco è molto importante per la modulazione della dose nel tempo (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nei cani, la somministrazione cronica di PB può influenzare la disponibilità di altri farmaci, somministrati contemporaneamente, che vengono metabolizzati dalle sottofamiglie del citocromo P450, e/o che si legano alle proteine plasmatiche. Il PB può alterare la farmacocinetica di altri AED (levetiracetam, zonisamide e benzodiazepine), e di conseguenza può diminuirne l'effetto terapeutico. Lo stesso effetto può esercitarlo su corticosteroidi, ciclosporina, metronidazolo, voriconazolo, digossina, fenilbutazone e alcuni anestetici (come il tiopentale) (Bhatti, et al., 2015).

Essendo il diazepam il farmaco di prima linea utilizzato in caso di emergenza (ad esempio in caso di *status epilepticus*), va sottolineato che nella pratica è necessario raddoppiare la dose di diazepam per via endovenosa o rettale nei cani trattati cronicamente con PB (Wagner, Sams, & Podell, 1998).

La somministrazione concomitante di PB e di farmaci che inibiscono gli enzimi microsomiali del citocromo P450 (come cimetidina, omeprazolo, lansoprazolo, cloramfenicolo, trimetoprim, fluorochinoloni, tetracicline, ketoconazolo, fluconazolo, itraconazolo, fluoxetina, felbamato e topiramato) possono inibire il metabolismo del PB, aumentarne la concentrazione sierica e in questo modo provocare tossicità (Bhatti, et al., 2015).

Il metabolismo del PB può essere influenzato anche dalla dieta e dal pH delle urine (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). I cani alimentati con una dieta a basso contenuto di proteine o con una dieta a basso contenuto di proteine e grassi, sembrano infatti avere un'eliminazione più rapida del PB (Maguire, et al., 2000). Allo stesso modo, è probabile che il pH delle urine influenzi la farmacocinetica, in particolare il tasso di escrezione urinaria, di una dose clinica di fenobarbital orale. È possibile che la concentrazione sierica di fenobarbital possa essere alterata quando viene somministrata una dieta che modifica il pH allo scopo, ad esempio, di dissolvere o prevenire gli uroliti (Fukunaga, et al., 2008).

Dosaggio

Complessivamente, è un farmaco relativamente poco costoso e ben tollerato che nel cane può essere somministrato due volte al giorno a un dosaggio iniziale di 2,5 mg/kg PO ogni 12 ore (Podell, et al., 2016). Questo dosaggio è generalmente sufficiente per un buon controllo delle crisi nella maggior parte dei casi, almeno per il primo anno della terapia. Il proprietario deve essere avvertito della possibile minor efficacia del farmaco nel tempo legata all'induzione degli enzimi epatici, cui si ovvia con un aggiustamento del dosaggio nel tempo (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Inoltre, per ogni paziente, il dosaggio viene adattato, successivamente, in base al controllo delle crisi, agli effetti avversi e al monitoraggio della concentrazione sierica. A causa della notevole variabilità della farmacocinetica del PB tra gli individui, la concentrazione sierica deve essere misurata 14 giorni dopo l'inizio della terapia, e dopo ogni eventuale modifica della dose. Per valutare l'effetto della tolleranza farmacocinetica, è possibile misurare una seconda concentrazione sierica di PB 6 settimane dopo l'inizio della terapia (Bhatti, et al., 2015).

Inoltre, poiché il metabolismo del PB può essere influenzato dalla dieta e dalla composizione corporea, la dose deve essere rivalutata se la dieta del cane, il peso corporeo o la sua composizione corporea subiscono variazioni durante il trattamento (Maguire, et al., 2000).

Nel cane, l'intervallo terapeutico del PB nel siero è compreso tra 15 mg/l e 40 mg/l. Tuttavia, si ritiene che nella maggior parte dei cani sia necessaria una concentrazione sierica di PB tra 25-30 mg/l affinché vi sia un controllo ottimale delle crisi. Concentrazioni sieriche superiori a 35 mg/l sono associate a un aumento del rischio di epatotossicità, e dovrebbero essere evitate (Bhatti, et al., 2015).

In caso di controllo inadeguato delle crisi, le concentrazioni sieriche di PB devono essere utilizzate per guidare l'aumento della dose di farmaco. Si prospettano tre scenari:

1. Concentrazione sierica di PB < 30 mg/l → aumentare la dose di PB secondo la formula:
$$\text{nuovo dosaggio totale giornaliero di PB in mg} = (\text{concentrazione sierica di PB desiderata} / \text{concentrazione sierica attuale di PB}) \times \text{dosaggio totale giornaliero attuale di PB in mg}$$
2. Concentrazione sierica di PB pari a 30 – 35 mg/l → iniziare la terapia con KBr
3. Concentrazione sierica di PB > 35 mg/l → ridurre il dosaggio di PB per cercare di ottenere una concentrazione sierica del farmaco < 35 mg/l, e iniziare la terapia con KBr (Bhatti, et al., 2015).

Un cane con un adeguato controllo delle crisi, ma con concentrazioni sieriche di farmaco al di sotto dell'intervallo terapeutico, non richiede modifiche del dosaggio del farmaco, poiché è possibile che questa concentrazione sierica sia sufficiente per quel soggetto (Bhatti, et al., 2015).

In generale, la concentrazione sierica di AED desiderata per i singoli pazienti dovrebbe essere la concentrazione più bassa possibile che risulti associata a una riduzione >50 % della frequenza delle crisi, o alla libertà dalle crisi e all'assenza di effetti avversi (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'emocromo completo, il profilo biochimico (compresi colesterolo e trigliceridi) e il test di stimolazione degli acidi biliari andrebbero eseguiti prima di iniziare il trattamento con il PB, e periodicamente a 3 mesi e poi ogni 6 mesi durante il trattamento. In caso di adeguato controllo delle crisi, le concentrazioni sieriche di PB devono essere monitorate ogni 6 mesi. Se il cane è in remissione o non ha crisi, si consiglia un controllo periodico ogni 12 mesi (Bhatti, et al., 2015).

Negli animali con crisi a grappolo, *status epilepticus* o elevata frequenza di crisi epilettiche, il PB può essere somministrato a una dose di carico di 15-20 mg/kg per via endovenosa, IM o PO, suddivisa in dosi di 3-5 mg/kg nell'arco di 24-48 ore, al fine di ottenere rapidamente una concentrazione cerebrale terapeutica in tempi brevi, e di sostenerla successivamente. Le concentrazioni di PB nel siero possono essere misurate 1-3 giorni dopo la dose di carico. Alcuni autori somministrano la dose di carico il prima possibile (nell'arco di 40-60 minuti), e iniziano con una dose di 10-12 mg/kg per via endovenosa, seguita da due ulteriori boli di 4-6 mg/kg a distanza di 20 minuti l'uno dall'altro (Bhatti, et al., 2015).

Se il paziente diventa troppo sedato, si interrompe il protocollo di carico e si inizia la terapia di mantenimento (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Nel caso in cui si decida di interrompere l'uso di questo farmaco per qualsiasi motivo, è necessario fare attenzione a non interromperlo improvvisamente, in quanto ciò potrebbe determinare l'insorgenza di gravi crisi epilettiche: si consiglia di diminuire gradualmente la dose utilizzata, e di sospendere il farmaco nell'arco di diverse settimane. In alcune situazioni, come in caso di effetti avversi quali insufficienza epatica o discrasie ematiche, potrebbe essere necessario sospendere il farmaco immediatamente (in tal caso dovrebbero essere introdotti altri AED per prevenire l'attività convulsiva) (de Lahunta, Glass, & Kent, 2021).

Le raccomandazioni sulla tempistica ottimale del prelievo di sangue per il monitoraggio della concentrazione sierica di PB nel cane variano in base agli studi (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Sebbene le fluttuazioni della concentrazione ematica non siano drammatiche nel corso della giornata nei cani con concentrazioni allo stato stazionario, è preferibile prelevare i campioni di sangue al mattino presto, appena prima della somministrazione (valutando quindi i livelli sierici minimi del farmaco) nel paziente a digiuno, per aumentare la coerenza nel confronto con i dati pubblicati, mantenere la coerenza nell'interpretazione ed evitare le variazioni diurne o le fluttuazioni dell'assorbimento indotte dalla dieta. In cani che ricevevano >10 mg/kg/die di fenobarbital, le concentrazioni minime, ottenute misurando la concentrazione ematica del PB con un prelievo effettuato appena prima della somministrazione del farmaco, erano significativamente più basse rispetto alle concentrazioni rilevate grazie a prelievi fatti in altri momenti della giornata (Podell, et al., 2016).

Efficacia

Il PB sembra essere efficace nel ridurre la frequenza delle convulsioni in circa il 60-93% dei cani con epilessia idiopatica quando le concentrazioni plasmatiche sono mantenute entro l'intervallo terapeutico di 25-35 mg/l (Bhatti, et al., 2015).

Ci sono complessivamente buone evidenze per raccomandare l'uso di questo farmaco come antiepilettico in monoterapia nei cani con epilessia idiopatica (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014).

In uno studio clinico randomizzato che ha confrontato il PB con il bromuro (Br) come AED di prima linea nei cani, è stata dimostrata l'efficacia superiore del PB: l'85% dei cani a cui è stato somministrato il PB è rimasto libero da crisi per 6 mesi rispetto al 52% dei cani a cui è stato somministrato il Br. Questo studio ha dimostrato una maggiore efficacia del PB rispetto alla Br

come monoterapia, con un migliore controllo delle crisi e minori effetti collaterali (Boothe, Dewey, & Carpenter, Comparison of phenobarbital with bromide as a first-choice antiepileptic drug for treatment of epilepsy in dogs, 2012).

Effetti avversi

Gli effetti avversi comuni del PB nel cane sono dose-dipendenti, ed includono:

- sedazione;
- atassia;
- polifagia (forse causata dalla soppressione del centro della sazietà nell'ipotalamo) con aumento di peso;
- polidipsia/poliuria (probabilmente causata da un effetto inibitorio sul rilascio dell'ormone antidiuretico) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Questi effetti dose-dipendenti si manifestano generalmente nella prima e nella seconda settimana di trattamento o di aumento del dosaggio, e di solito si attenuano nelle 1-3 settimane successive a causa dello sviluppo di una tolleranza farmacocinetica e farmacodinamica. L'ipereccitabilità, l'iperattività, l'irrequietezza e l'aggressività possono insorgere occasionalmente nei cani, e tendono a essere transitorie durante le prime settimane di trattamento con PB. L'iperattività può risolversi in seguito all'aumento del dosaggio. È importante tenere presente, però, che cambiamenti comportamentali come paura/ansia, aggressività difensiva e comportamenti anomali (ad esempio abbaiare senza motivo apparente, inseguire ombre o punti luminosi, camminare senza meta, sguardo fisso nel vuoto) possono verificarsi nei cani nel momento dell'esordio dell'epilessia idiopatica, dunque può essere difficile differenziare le comorbidità neurocomportamentali dell'epilessia dalle alterazioni comportamentali correlate alla somministrazione di PB (o di altri AED) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Una reazione idiosincratca più grave è lo sviluppo di anemia immunomediata, neutropenia, trombocitopenia o una combinazione di queste, con una bassa prevalenza. In genere, questa reazione si verifica entro i primi 6 mesi di trattamento, ed è reversibile con la rimozione del farmaco e un trattamento appropriato (Podell, et al., 2016). Anche se il meccanismo esatto è sconosciuto, molto probabilmente le citopenie derivano dalla tossicità del midollo osseo piuttosto che da un processo immunomediato diretto alle cellule circolanti, dato che sia la necrosi del midollo osseo che la mielofibrosi sono state associate alla somministrazione di PB (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Raramente possono verificarsi anche reazioni epatotossiche acute e idiosincratice, come evidenziato da un rapido aumento dell'attività dell'alanina aminotransferasi (ALT) e dalle concentrazioni anomale di acidi biliari nel siero prima e dopo il pasto (Podell, et al., 2016).

L'induzione del citocromo P450 da parte del PB aumenta in modo significativo la produzione di specie reattive dell'ossigeno, aumentando così il rischio di lesioni epatiche. Non è ancora chiaro se l'epatotossicità correlata al PB si verifichi come effetto avverso diretto dose-dipendente o come reazione idiosincratice. La cirrosi epatica indotta dal PB sembra essere un effetto avverso dipendente dalla dose e dalla durata del trattamento, in quanto è stata segnalata nei cani a cui è stato somministrato un alto dosaggio di PB (>12 mg/kg/die) con conseguenti elevate concentrazioni sieriche di PB (>35 µg/ml) per periodi prolungati (>6 mesi). Al contrario, le reazioni idiosincratice non sono correlate alle concentrazioni sieriche di PB o alla durata del trattamento, e provocano segni di insufficienza epatica acuta. I segni clinici dell'epatotossicità indotta da PB includono sedazione, atassia, inappetenza o anoressia, ittero e ascite (nei cani gravemente colpiti) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Tutti i cani in trattamento cronico con fenobarbital dovrebbero essere sottoposti a un profilo biochimico del siero ogni 6 mesi per monitorare l'eventuale sviluppo di epatotossicità cronica, seguito da un test di tolleranza agli acidi biliari se si sospetta un'alterazione della funzione epatica (Podell, et al., 2016).

Il fenobarbital può anche essere un fattore di rischio, nel cane, per lo sviluppo di dermatite necrolitica superficiale (Podell, et al., 2016). Si ipotizza che questa potrebbe essere legata al fatto che la somministrazione cronica di PB porta ad un accelerato catabolismo epatico degli amminoacidi, la cui carenza potrebbe essere, appunto, la causa della dermatite necrolitica superficiale (March, et al., 2004).

Sono da ricordare anche, seppur rari, il rischio potenziale di pancreatite, discinesia, ansia, e ipoalbuminemia (Bhatti, et al., 2015).

Nel cane non sono riportati effetti carcinogeni o teratogeni, né effetti pericolosi per la vita associati a trattamento a lungo termine con fenobarbital (Podell, et al., 2016).

Alterazioni nelle analisi di laboratorio

L'alterazione biochimica sierica più comune nel cane in caso di trattamento cronico con fenobarbital è un aumento dell'attività della fosfatasi alcalina (ALP) nel siero, che può verificarsi già due settimane dopo l'inizio del trattamento (Podell, et al., 2016).

È possibile anche un aumento dell'attività sierica di ALT (alanina aminotransferasi), GGT (gamma glutamil transferasi) e GLDH (glutammato deidrogenasi) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). Oltre a queste, anche le concentrazioni sieriche di colesterolo e trigliceridi possono risultare aumentate (Bhatti, et al., 2015).

Né la concentrazione dell'ormone adrenocorticotropo endogeno (ACTH), né la risposta alla somministrazione di ACTH esogeno risultano alterate dalla somministrazione del PB. Inoltre il fenobarbital non interferisce con il test di soppressione a basse dosi di desametasone, indipendentemente dalla dose o dalla durata del trattamento. Le concentrazioni sieriche di tiroxina totale e tiroxina libera (T4), invece, possono essere basse nei cani trattati con PB, con conseguente possibile diagnosi errata di ipotiroidismo (Podell, et al., 2016).

Questi cambiamenti sono probabilmente associati all'aumento del metabolismo epatico e dell'escrezione biliare della T4 indotti dal PB, e si risolvono da una (per la TT4) a cinque (quanto alla fT4) settimane dopo la sospensione del farmaco (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Quando è consigliabile associare un secondo AED e quale farmaco scegliere

Il trattamento dell'epilessia dovrebbe essere orientato agli obiettivi, e seguire un approccio oggettivo. In Medicina Veterinaria mancano criteri rigorosi che supportino Medico Veterinario e proprietario nel processo decisionale per l'aggiunta di un secondo AED: la decisione di aggiungere un altro farmaco antiepilettico dipende dalla frequenza delle crisi, dalla loro gravità (durata delle crisi, insorgenza di crisi a grappolo, gravità dei segni post-ictali) e dalla valutazione complessiva della QoL dell'animale (Podell, et al., 2016).

Nel cane, l'aggiunta di un secondo farmaco antiepilettico si prospetta in tutti quei casi in cui non si riesce ad ottenere un buon controllo delle crisi epilettiche con una monoterapia a dosaggi adeguati, o in presenza di effetti collaterali inaccettabili per il proprietario (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

I fattori di rischio associati a un peggior controllo delle crisi includono il sesso maschile del paziente e una precedente storia di crisi a grappolo. Quanto alla scelta del secondo farmaco antiepilettico, è consigliabile:

- scegliere, come secondo antiepilettico, un farmaco che abbia un diverso meccanismo d'azione rispetto a quello già in uso;
- minimizzare il più possibile le interazioni farmaco-farmaco;

- considerare la tossicità additiva;
- considerare il rapporto rischio/beneficio della politerapia rispetto alla qualità della vita del paziente (Podell, et al., 2016).

Ipotizzando che la maggior parte dei casi sia stata trattata fino ad oggi con fenobarbital, il farmaco da aggiungere è in molti casi rappresentato dal bromuro, che ha il vantaggio di non coinvolgere il metabolismo epatico (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Un'altra opzione è quella di inserire imepitoina o levetiracetam. Per quanto riguarda il levetiracetam, è necessario tenere presente che questo prevede una somministrazione ogni otto ore, e che il PB induce un aumento significativo del suo metabolismo e della sua eliminazione, producendo così, in poche settimane, una riduzione significativa del livello plasmatico del farmaco e quindi della sua efficacia terapeutica. Qualora si debba associare il levetiracetam, soprattutto come farmaco di terza linea (ovvero da somministrare ad un paziente che sta già assumendo due farmaci antiepilettici), si consiglia di considerare nel breve periodo un suo aumento oltre il dosaggio di 20 mg/kg TID, arrivando anche a 30-35 mg/kg TID (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Altri farmaci da considerare come possibili farmaci di terza linea sono zonisamide e topiramato. Questi ultimi sono molecole relativamente recenti per le quali non esiste una robusta evidenza scientifica quanto ad efficacia e sicurezza. Il dosaggio consigliato della zonisamide è di 3-7 mg/kg BID, che arriva a 7-10 mg/kg BID in cani che assumono PB. Tra gli effetti collaterali, è stata osservata modesta sedazione, atassia e disoressia, e in alcuni casi, dopo la sua somministrazione, è stata segnalata un'epatopatia acuta. Anche se la zonisamide vanta una frequenza di somministrazione più favorevole rispetto al levetiracetam, come terapia aggiuntiva al PB molti neurologi preferiscono il levetiracetam, per evitare un eccessivo impegno metabolico del fegato. Il dosaggio del topiramato è di 5-10 mg/kg BID (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Imepitoina

L'imepitoina è un farmaco antiepilettico di nuova generazione, autorizzata dal 2013 in UE per l'uso in cani epilettici idiopatici con crisi generalizzate (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Inizialmente sviluppata come farmaco antiepilettico per l'epilessia umana, viene utilizzata nel cane in ragione del profilo farmacocinetico più favorevole in questa specie (Bhatti, et al., 2015). Oltre all'azione antiepilettica, l'imepitoina ha dimostrato di possedere anche attività ansiolitica (Rundfeldt & Löscher, The pharmacology of Imepitoin: the first partial Benzodiazepine receptor agonist developed for the treatment of epilepsy, 2014).

Meccanismo d'azione

Il meccanismo principale con cui agisce l'imepitoina consiste nell'interazione di questa con il recettore GABA_A dell'acido gamma-amminobutirrico a livello di neurone postsinaptico: essa è infatti un agonista parziale a bassa affinità per il sito di legame delle benzodiazepine (BZD) del recettore, e legandosi a questo sito potenzia l'ingresso dello ione cloruro determinato dal legame del GABA col suo recettore, con conseguente iperpolarizzazione della membrana del neurone, e inibizione del neurone postsinaptico (Rundfeldt & Löscher, The pharmacology of Imepitoin: the first partial Benzodiazepine receptor agonist developed for the treatment of epilepsy, 2014). Inoltre, l'imepitoina blocca i canali del calcio voltaggio-dipendenti con una modalità dose-dipendente (non è ancora chiaro quale sottotipo di canale sia interessato). Infine, è stato riportato che l'imepitoina antagonizza l'aumento dell'attivazione neuronale indotto dal CRH (ormone di rilascio della corticotropina) nei neuroni del *locus coeruleus* in sezioni di tronco encefalico murino, ed è possibile che questo effetto contribuisca all'azione ansiolitica del farmaco (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Farmacocinetica

Gli studi di farmacocinetica condotti nel cane indicano che l'imepitoina presenta un buon assorbimento quando somministrata per via orale (> 92%), e non subisce un marcato effetto di primo passaggio (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

In seguito alla somministrazione orale alla dose di 30 mg/kg in cani sani di razza Beagle, sono stati registrati livelli plasmatici elevati entro 30 minuti, ma il picco di concentrazione plasmatica è stato raggiunto solo dopo 2-3 ore (indice di un assorbimento molto lento) (Rundfeldt, Gasparic, & Wlaź, 2014).

L'emivita di eliminazione del farmaco è breve (circa 1,5-2 ore), anche se in uno studio condotto su cani Beagle è stata rilevata un'emivita più lunga (di circa 6 ore) con dosi di imepitoina più elevate, e l'accumulo dei livelli plasmatici è stato riscontrato durante la somministrazione

cronica di imepitoina BID. Va però considerato, a questo proposito, che i cani di razza Beagle eliminano gli AED più rapidamente di altre razze (Bhatti, et al., 2015).

Il legame con le proteine plasmatiche *in vivo* nel cane è del 60-70%. Non si verifica alcun accumulo di imepitoina nel plasma dopo somministrazione ripetuta, poiché lo stato stazionario viene raggiunto dopo la prima dose. Differenze di genere nel cane non si verificano. L'imepitoina attraversa la barriera emato-encefalica rapidamente e in una concentrazione relativamente elevata, senza coinvolgere il trasporto attivo o la clearance attiva (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nonostante l'emivita breve nei Beagle sani, questo profilo farmacocinetico è considerato adeguato, nel cane, per il mantenimento di concentrazioni terapeuticamente attive con la somministrazione due volte al giorno. L'imepitoina è ampiamente metabolizzata nel fegato prima dell'eliminazione (Bhatti, et al., 2015).

I profili dei metaboliti nelle urine e nelle feci rivelano quattro principali metaboliti inattivi (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nel cane, il farmaco viene escreto principalmente per via fecale, e la sua farmacocinetica non viene particolarmente influenzata né da una ridotta funzionalità renale né da un'alterata funzionalità epatica (Tipold, Keefe, Löscher, Rundfeldt, & de Vries, 2015).

Interazioni farmacocinetiche

Non ci sono informazioni sulle interazioni farmacocinetiche tra imepitoina e altri farmaci, e non sono state osservate interazioni cliniche dannose quando l'imepitoina è stata usata, in un ristretto numero di cani affetti da epilessia, come trattamento aggiuntivo a fenobarbital o primidone. Sebbene l'imepitoina sia un agonista parziale a bassa affinità per il sito di legame delle benzodiazepine (BZD) del recettore GABA_A, in ambito clinico non ha dimostrato di impedire l'attività farmacologica degli agonisti completi, come il diazepam (per esempio nei cani in *status epilepticus*) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Di conseguenza, poiché l'affinità del diazepam per il recettore GABA_A è molto più elevata rispetto a quella dell'imepitoina, occorre prestare attenzione in condizioni di emergenza: i cani con epilessia idiopatica trattati con imepitoina e presentati in *status epilepticus* potrebbero richiedere, oltre al diazepam, un ulteriore AED per via parenterale (ad esempio PB o levetiracetam) (Bhatti, et al., 2015).

Dosaggio

Il dosaggio per la somministrazione orale dell'imepitoina è di 10-30 mg/kg BID, e la dose iniziale raccomandata è di 10-20 mg/kg BID (Bhatti, et al., 2015).

Sebbene l'emivita plasmatica dell'imepitoina sia di circa 2 ore, i risultati osservati in modelli di crisi epilettiche e in molteplici studi sul campo nel cane dimostrano che l'effetto farmacodinamico è più lungo dell'emivita farmacocinetica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Se il controllo delle crisi non è soddisfacente dopo almeno una settimana di trattamento a questa dose e il farmaco è ben tollerato, il dosaggio può essere aumentato fino a un massimo di 30 mg/kg BID (Bhatti, et al., 2015).

Poiché la biodisponibilità dell'imepitoina è maggiore quando viene somministrata a digiuno, la raccomandazione del produttore è di mantenere un orario costante per la somministrazione delle compresse, in relazione all'alimentazione (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'intervallo di riferimento delle concentrazioni plasmatiche o sieriche di imepitoina non è noto, e da parte del produttore non ci sono raccomandazioni per il monitoraggio terapeutico. Gli studi di farmacocinetica condotti sui cani suggeriscono una variabilità delle concentrazioni plasmatiche di imepitoina in base al soggetto e al momento del prelievo. Tuttavia, non è stata identificata alcuna correlazione tra la concentrazione plasmatica di imepitoina e la riduzione della frequenza delle crisi. In ragione di questo, e in ragione del suo ampio indice terapeutico, il monitoraggio della concentrazione sierica dell'imepitoina non è necessario (Bhatti, et al., 2015).

Si raccomanda di effettuare emocromo completo e profilo biochimico prima di iniziare il trattamento con imepitoina e periodicamente ogni 6 mesi durante il trattamento. Se il cane è in remissione o non ha crisi, si consiglia un controllo periodico ogni 12 mesi (Bhatti, et al., 2015).

Efficacia

L'utilizzo dell'imepitoina viene raccomandato nei cani con epilessia idiopatica con crisi epilettiche singole e generalizzate ricorrenti. La sua efficacia non è ancora stata dimostrata nei pazienti con crisi a grappolo o *status epilepticus* (Bhatti, et al., 2015).

In uno studio di Rieck e colleghi (2006), a cani con epilessia cronica che non rispondevano al PB o al primidone è stata somministrata imepitoina o KBr come AED aggiuntivo, e la frequenza delle crisi è migliorata in misura simile in entrambi i gruppi (Bhatti, et al., 2015).

Uno studio condotto nel 2017 ha cercato di ottenere ulteriori informazioni sulla sicurezza e l'efficacia di una combinazione di PB e imepitoina come terapia per cani affetti da epilessia idiopatica resistente ai farmaci. Sono stati inclusi nello studio i pazienti sottoposti a terapia con fenobarbital, con o senza aggiunta di bromuro di potassio o levetiracetam. Non è stato incluso alcun gruppo di controllo separato, ma per ogni specifico paziente è stato definito un periodo di riferimento di 6 settimane (pre-trattamento con imepitoina), caratterizzato da registrazioni diligenti delle crisi da parte del proprietario, affinché costituissero il termine di confronto pre/post trattamento. Nella coorte A, i cani che non rispondevano al PB, con o senza trattamento aggiuntivo con KBr o levetiracetam, sono stati trattati in aggiunta con imepitoina, a partire da 10 mg/kg BID, con titolazione consentita fino a 30 mg/kg BID. Nella coorte B, l'unica differenza rispetto alla coorte A era che la dose iniziale di imepitoina era ridotta a 5 mg/kg BID. Nella coorte C, gli animali che non rispondevano alla somministrazione di imepitoina a >20 mg/kg BID sono stati trattati con aggiunta di PB a partire da 0,5 mg/kg BID (Neble, et al., 2017).

Il trattamento aggiuntivo ha comportato una riduzione della frequenza mensile delle crisi (MSF) in tutte e tre le coorti: una riduzione $\geq 50\%$ è stata ottenuta nel 36-42% di tutti gli animali, senza differenze significative tra le coorti. La dose iniziale più bassa di 5 mg/kg BID di imepitoina è stata meglio tollerata, e una titolazione media fino a 15 mg/kg BID è stata sufficiente nella coorte A e B. Nella coorte C, una dose aggiuntiva media di 1,5 mg /kg BID di PB è stata sufficiente per ottenere un effetto clinicamente significativo. Né il trattamento aggiuntivo con imepitoina né PB è stato in grado di sopprimere le crisi a grappolo, rendendo l'attività convulsiva a grappolo un importante predittore di resistenza ai farmaci. I risultati di questo studio suggeriscono che un trattamento combinato di imepitoina e PB rappresenta un'utile opzione terapeutica per cani con epilessia resistente ai farmaci, e si raccomanda una bassa dose iniziale di 5 mg/kg BID (Neble, et al., 2017).

In un altro studio, l'efficacia dell'imepitoina è stata confrontata con quella del PB: in 226 cani la somministrazione di imepitoina due volte al giorno in dosi incrementali di 10, 20 o 30 mg/kg ha fatto sì che la maggior parte di questi cani con IE siano stati gestiti con successo con questo farmaco, senza differenze significative rispetto al PB in termini di efficacia. Inoltre, la frequenza degli effetti avversi (come sedazione, polidipsia, polifagia) è stata significativamente più alta nel gruppo trattato con il PB (Tipold, Keefe, Löscher, Rundfeldt, & de Vries, 2015).

Attualmente, non sono disponibili dati scientifici o linee guida in merito a quale AED possa essere meglio combinato con l'imepitoina, e sono necessarie ulteriori ricerche. Tuttavia, al momento si raccomanda l'uso del PB come AED in aggiunta nei cani che ricevono la dose

massima di imepitoina e che presentano uno scarso controllo delle crisi. In caso di terapia combinata con imepitoina e PB, si consiglia di sospendere lentamente l'imepitoina nell'arco di diversi mesi se il controllo delle crisi appare efficace con il PB e/o ridurre la dose di imepitoina se si verificano effetti avversi (ad esempio, sedazione) (Bhatti, et al., 2015).

Secondo Charalambous e colleghi, esistono buone evidenze per raccomandare l'uso di imepitoina come monoterapia in cani con crisi epilettiche singole generalizzate ricorrenti, ma prove insufficienti per l'uso come AED aggiuntivo (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014).

Nel 2017, uno studio clinico prospettico, randomizzato e controllato, ha valutato, invece, l'efficacia del fenobarbital o del bromuro di potassio come farmaci antiepilettici aggiuntivi per il controllo dei cani refrattari a una dose massima di imepitoina (30 mg/kg due volte al giorno). La terapia aggiuntiva con fenobarbital o KBr ha ridotto MSF (frequenza mensile delle crisi) e MSDF (frequenza giornaliera mensile delle crisi) nei cani oggetto di studio. Inoltre, il numero di cani con crisi a grappolo è diminuito significativamente durante il periodo di studio. La terapia di combinazione è stata generalmente ben tollerata e ha portato a una migliore gestione delle crisi nella maggior parte degli animali (Royaux, et al., 2017).

I cani del suddetto studio che avevano raggiunto un soddisfacente controllo delle crisi per 6 mesi consecutivi sono stati inseriti, successivamente, in uno studio prospettico e in aperto, per valutare se la sospensione di imepitoina avrebbe destabilizzato o peggiorato il controllo delle crisi epilettiche. Nei cani che non avevano ancora raggiunto un soddisfacente controllo delle crisi alla fine dello studio precedente, è stato aggiunto un terzo farmaco antiepilettico (KBr nei cani che ricevevano la combinazione di imepitoina e fenobarbital, o fenobarbital nei cani che ricevevano la combinazione di imepitoina e KBr) al protocollo di trattamento antiepilettico (Stee, et al., 2017).

Nei cani con un soddisfacente controllo delle crisi, l'imepitoina è stata sospesa riducendo gradualmente la dose in un periodo di 3 mesi. Ogni cane è stato valutato clinicamente e neurologicamente prima della sospensione di imepitoina, immediatamente dopo, e 3 mesi e 9 mesi dopo. Inoltre, i proprietari di cani sono stati contattati telefonicamente a 6 e 12 mesi durante il periodo post-sospensione per registrare la frequenza delle crisi epilettiche e gli effetti avversi correlati al farmaco. La frequenza mensile delle crisi è rimasta stabile o è diminuita in 12/13 cani. Poiché due cani hanno manifestato epilessia a grappolo durante il periodo pre-astinenza e durante il periodo post-astinenza, non è stato possibile identificare alcun effetto dell'astinenza da imepitoina sulle crisi a grappolo. Dopo la sospensione di imepitoina, tutti i proprietari di cani hanno riportato una riduzione degli eventi avversi (Stee, et al., 2017).

Rundfeldt e colleghi hanno dimostrato che sia l'attività antiepilettica che il profilo di sicurezza rendono l'imepitoina adatta all'uso clinico a lungo termine in pazienti canini con epilessia di nuova diagnosi e convulsioni tonico-cloniche generalizzate, e che un trattamento con 30 mg/kg BID è in grado di ridurre significativamente la frequenza mensile delle crisi rispetto a una dose bassa (1 mg/kg): sia le crisi generalizzate che quelle parziali, ma non le crisi a grappolo, erano significativamente meno frequenti nel gruppo ad alto dosaggio. Il farmaco, inoltre, è stato ben tollerato (la maggior parte delle reazioni avverse correlate al SNC sono state transitorie) (Rundfeldt, Tipold, & Löscher, Efficacy, safety, and tolerability of imepitoin in dogs with newly diagnosed epilepsy in a randomized controlled clinical study with long-term follow up, 2015).

Uno studio condotto nel 2017 ha valutato l'efficacia e la tollerabilità a lungo termine dell'imepitoina, utilizzata come farmaco di prima linea in 56 cani affetti da IE. Lo studio si proponeva di dare un contributo per la valutazione dell'imepitoina come monoterapico in condizioni di campo, per le quali gli studi risultavano limitati. In questo studio, l'imepitoina si è dimostrata efficace nel 54% dei cani trattati, e ha prodotto uno stato libero da crisi nel 25% dei cani alla fine dei 12 mesi di follow-up. Come dosaggio minimo ottimale gli autori hanno individuato una dose ≥ 19 mg/kg di imepitoina ogni 12 ore (Gallucci, et al., 2017).

Gli effetti avversi, registrati nel 29% dei cani, sono stati lievi e transitori: sono scomparsi entro 10 giorni dall'inizio del trattamento. Nessuno dei cani che hanno interrotto il trattamento ha avuto crisi di astinenza. I cani privi di crisi a 3 e 6 mesi di follow-up sono stati associati positivamente al raggiungimento dello stato libero da crisi a 12 mesi di follow-up. L'associazione positiva tra la bassa frequenza delle crisi pre-trattamento e la libertà dalle crisi in tutti gli end point del follow-up può suggerire che le forme di IE meno gravi sono più reattive al trattamento con imepitoina. Il numero di cani con crisi a grappolo (CS) si è ridotto significativamente a 6 mesi e a 12 mesi di follow-up e, alla fine del follow-up di un anno, solo due cani presentavano ancora crisi a grappolo. Il 22% dei cani con CS ha raggiunto la libertà dalle crisi al follow-up di 12 mesi (va notato però che il 39% dei cani con crisi a grappolo ha interrotto il trattamento terapeutico con imepitoina ed è stato trasferito ad altri protocolli) (Gallucci, et al., 2017).

Effetti avversi

In studi preclinici e clinici su cani ai quali è stata somministrata una dose di 10-30 mg/kg di imepitoina BID, sono state osservate reazioni avverse lievi e generalmente transitorie: polifagia

all'inizio del trattamento, iperattività, poliuria, polidipsia, sonnolenza, ipersalivazione, emesi, atassia, letargia, diarrea, prolasso della membrana nittitante, diminuzione della vista e della sensibilità ai suoni (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

In condizioni di laboratorio, cani sani di razza Beagle sono stati esposti a dosi elevate di imepitoina per 6 mesi (fino a 150 mg/kg ogni 12h). I segni clinici di tossicità sono stati lievi e poco frequenti, e sono stati per lo più legati al SNC (depressione, atassia transitoria) o all'apparato gastrointestinale (vomito, perdita di peso, salivazione) (Bhatti, et al., 2015).

È stato rilevato anche un aumento reversibile dell'intervallo QT (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Tali segni clinici non erano pericolosi per la vita, e si sono generalmente risolti entro 24 ore grazie a un trattamento sintomatico. Questi dati indicano che l'imepitoina è un farmaco antiepilettico sicuro e ben tollerato fino a dosi elevate nei cani trattati due volte al giorno. Tuttavia, la sua sicurezza non è stata valutata in cani di peso inferiore a 5 kg, né in cani con disturbi quali malattie renali, malattie epatiche, cardiache, gastrointestinali o di altro tipo (Bhatti, et al., 2015).

Non sono state dimostrate reazioni idiosincratice o pericolose per la vita del paziente (Podell, et al., 2016).

L'imepitoina non sembra provocare alcun aumento nell'attività degli enzimi epatici. Rispetto alle benzodiazepine tradizionali, come il diazepam, che agiscono come agonisti completi del sito per le BZD del recettore GABA_A, gli agonisti parziali come l'imepitoina mostrano effetti avversi sedativi minori, e non sono associati a tolleranza e dipendenza nel corso della somministrazione a lungo termine in modelli animali. Anche nei cani epilettici, non è stato riportato lo sviluppo di tolleranza, e non sono stati osservati segni di astinenza dopo la sospensione del trattamento (Bhatti, et al., 2015).

Il profilo di sicurezza dell'imepitoina è stato ulteriormente studiato, *in vitro*, con test di genotossicità e con la somministrazione di dosaggi multipli in topi, ratti e cani: ha dimostrato di non essere genotossica, teratogena o immunotossica (Podell, et al., 2016).

Alterazioni nelle analisi di laboratorio

Non sono state osservate alterazioni significative dell'attività degli enzimi in pazienti trattati con imepitoina (Podell, et al., 2016).

Bromuro

Il bromuro (Br^-) è stato il primo farmaco antiepilettico documentato utilizzato per l'epilessia umana, ed è stato introdotto in Medicina Veterinaria negli anni '80 (Podell, et al., 2016).

Si tratta di un sale alogenato, che può essere somministrato come sale di potassio (K) o di sodio (Na). Il bromuro di potassio (KBr) è la forma più comunemente utilizzata. L'utilizzo del KBr è stato segnalato per la prima volta nel cane nel 1907 (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). L'uso del bromuro di sodio (NaBr) viene raccomandato, invece, nei cani con disfunzione renale o ipoadrenocorticismo, e quando è necessaria la somministrazione per via endovenosa. Il NaBr è controindicato nei cani con insufficienza cardiaca congestizia, ipertensione e insufficienza epatica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

La forma di sale di sodio (NaBr) contiene più bromuro per grammo di composto, pertanto la dose dovrebbe essere inferiore di circa il 15% rispetto a quella calcolata per il KBr (Bhatti, et al., 2015).

Il KBr è un AED economico, relativamente sicuro ed efficace per la gestione a lungo termine dell'epilessia nei cani. La sua emivita prolungata permette una comoda somministrazione una o due volte al giorno. Il bromuro può essere utilizzato sia come agente monoterapico che in combinazione con altri farmaci antiepilettici (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

In UE, solo il PB e l'imepitoina sono approvati come farmaci di prima linea nel trattamento dell'epilessia canina: nella maggior parte dei paesi dell'UE, il KBr è approvato solo come trattamento aggiuntivo nei cani resistenti ai trattamenti di prima linea (Bhatti, et al., 2015).

Come farmaco di aggiunta alla terapia con PB, il KBr è efficace per ridurre la frequenza delle crisi nei cani resistenti al PB e nel mantenere il controllo delle crisi in cani che richiedono una riduzione del dosaggio di PB a causa degli effetti avversi intollerabili associati al suo utilizzo (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il bromuro di potassio viene tipicamente somministrato come soluzione di 200-250 mg/mL disciolti in acqua bidistillata. Nel Regno Unito sono disponibili diverse formulazioni commerciali approvate (Podell, et al., 2016).

Meccanismo d'azione

L'esatto meccanismo con cui il bromuro esercita la sua azione anti-crisi epilettica non è ancora completamente chiaro, ma sembra coinvolgere i canali ionici del cloro GABA-dipendenti. Un meccanismo che è stato proposto prevede l'afflusso intracellulare di bromuro attraverso i canali

del cloro, con conseguente iperpolarizzazione neuronale, aumento della soglia epilettogena e prevenzione della diffusione della scarica convulsiva (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il potenziamento mediato dal bromuro delle correnti ioniche attivate dal GABA e il potenziamento dei potenziali postsinaptici inibitori del GABA sono stati identificati *in vitro*. Il bromuro potrebbe avere un'azione sinergica con il PB nell'innalzare la soglia epilettogena potenziando l'attività GABA-ergica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Farmacocinetica

Nel cane i sali di bromuro (KBr e NaBr) sono rapidamente assorbiti dall'intestino tenue, con un picco di assorbimento raggiunto 1,5 ore dopo la somministrazione orale. L'assunzione di cibo non dovrebbe influenzare l'assorbimento del bromuro dopo la somministrazione orale (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

La biodisponibilità del bromuro dopo somministrazione orale nel cane è di circa il 46%. L'emivita di eliminazione è lunga, e va da 25 a 46 giorni (dunque dopo l'inizio del trattamento al dosaggio di mantenimento, possono essere necessari anche 3 mesi prima che vengano raggiunte le concentrazioni allo stato stazionario) (Bhatti, et al., 2015).

Il bromuro si distribuisce nello spazio extracellulare e si equilibra con il cloruro nella maggior parte dei tessuti dell'organismo, per mantenere costante la concentrazione di alogenuri (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il KBr non è legato alle proteine plasmatiche e può diffondersi liberamente attraverso le membrane cellulari; non viene metabolizzato a livello epatico, ed è quindi una buona alternativa nei cani con disfunzioni epatiche. Viene escreto immutato nelle urine, e subisce un riassorbimento tubulare in competizione con il Cl⁻, pertanto i fattori dietetici che influenzano i livelli di cloruro possono alterare la concentrazione sierica di KBr: alti (bassi) livelli di cloruro nella dieta aumentano (diminuiscono) l'escrezione di KBr, e ne accorciano (prolungano) l'emivita. I cani a cui viene somministrato KBr devono dunque essere mantenuti a dieta costante, e con apporto di cloruro costante, per evitare fluttuazioni nelle concentrazioni sieriche di KBr, che potrebbero determinare fallimento terapeutico o tossicità. Se sono necessarie modifiche alla dieta, queste devono essere effettuate gradualmente, nell'arco di almeno 5 giorni, e le concentrazioni sieriche di KBr devono essere monitorate, soprattutto se il cane dimostra sedazione o ha crisi epilettiche inaspettate (Bhatti, et al., 2015).

Nell'ambito del profilo biochimico, le concentrazioni sieriche di cloruro risultano spesso falsamente elevate (fenomeno della "pseudo-ipercloremia) poiché i test non sono in grado di distinguere tra ioni cloruro e bromuro (Bhatti, et al., 2015).

Le concentrazioni allo stato stazionario variano in base al soggetto, probabilmente anche a causa di differenze individuali nella clearance e nella biodisponibilità (Podell, et al., 2016).

Il KBr deve essere evitato nei cani con disfunzione renale per prevenire la tossicità secondaria alla ridotta eliminazione renale (Bhatti, et al., 2015). Se non ci sono alternative, il KBr può essere somministrato in questi soggetti, ma a un dosaggio iniziale corrispondente alla metà del dosaggio raccomandato normalmente, con un attento monitoraggio degli effetti avversi e misurando frequentemente le concentrazioni sieriche di bromuro (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Piccole quantità di bromuro sono escrete anche sotto forma di saliva, sudore, secrezioni nasali e congiuntivali e feci contenenti secrezioni gastriche non assorbite. Il bromuro attraversa la placenta e viene escreto nel latte (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

Dato che il KBr non viene metabolizzato, e non presenta un legame con le proteine plasmatiche, le sue interazioni farmacocinetiche risultano ridotte. Come citato in precedenza, il tasso di eliminazione del KBr è inversamente proporzionale all'assunzione di Cl⁻ (Bhatti, et al., 2015). Un aumento dell'apporto di cloruro (in seguito ad esempio a cambio di dieta, ingestione di cibi salati o di acqua di mare, somministrazione di liquidi per via endovenosa o di formulazioni farmacologiche contenenti cloruro) aumenterà la velocità di eliminazione renale del bromuro e, di conseguenza, diminuirà la concentrazione sierica di questo, con potenziale perdita del controllo delle crisi. Una diminuzione dell'apporto di cloruro (per esempio, un cambiamento nella dieta) comporta una riduzione della velocità di eliminazione renale del bromuro, un conseguente aumento della concentrazione sierica di questo, e, potenzialmente, tossicità da bromuro (bromismo) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

I diuretici dell'ansa, come la furosemide, possono aumentare l'eliminazione del KBr bloccandone il riassorbimento attraverso i canali del cloro dei tubuli renali (Bhatti, et al., 2015). Al contrario, i diuretici osmotici non sembrano influenzare l'escrezione del bromuro (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

La dose iniziale di KBr raccomandata per la somministrazione orale è di 15 mg/kg BID, se usato come farmaco di aggiunta alla terapia con un altro AED, mentre in caso di monoterapia si raccomanda un dosaggio pari a 20 mg/kg BID. Anche se, grazie alla sua lunga emivita di eliminazione, il KBr può essere somministrato solo una volta al giorno (preferibilmente la sera), per aiutare a prevenire l'irritazione della mucosa gastrointestinale si consiglia la somministrazione del farmaco due volte al giorno, e la sua somministrazione con il cibo. Anche in caso di eccessiva sedazione, la somministrazione due volte al giorno è da preferire (Bhatti, et al., 2015).

A questo proposito, il NaBr, che può essere meno irritante per la mucosa gastrica, può essere indicato nei cani che presentano nausea o vomito secondari all'irritazione della mucosa gastrica indotta dal KBr (in questo caso, come citato in precedenza, la dose deve essere ridotta di circa il 15% rispetto a quella calcolata per il KBr) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Gli intervalli terapeutici corrispondono a circa 1000 mg/l – 2000 mg/l, quando il KBr viene somministrato in associazione con il PB, e 2000 mg/l – 3000 mg/l quando somministrato come monoterapia (Bhatti, et al., 2015). È importante tenere presente, tuttavia, che (come per il PB) esiste una variabilità individuale nelle concentrazioni sieriche del KBr associate al controllo delle crisi o alla tossicità, e gli intervalli di riferimento devono essere utilizzati solo come linee guida all'inizio del trattamento. Infatti, il dosaggio deve essere poi adattato al paziente, sulla base della risposta clinica dimostrata e del monitoraggio dei livelli sierici: per ogni paziente andrebbe individuata la dose più bassa, somministrata per via orale, e la concentrazione sierica più bassa del farmaco che risultano associate all'eliminazione delle crisi o a una riduzione >50% di queste, e all'assenza di effetti avversi intollerabili (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Data l'emivita lunga del bromuro, il raggiungimento della concentrazione sierica allo stato stazionario può richiedere anche 3 mesi (Bhatti, et al., 2015).

A causa della lunga emivita di eliminazione del farmaco, inoltre, i campioni di sangue possono essere raccolti in qualsiasi momento (sempre, comunque, almeno 2 h dopo la somministrazione del farmaco, per evitare la variabilità data dall'effetto di picco) (Podell, et al., 2016).

Prima di iniziare il trattamento con KBr si raccomanda di eseguire emocromo completo e profilo biochimico del paziente (compresi colesterolo e trigliceridi), che andranno ripetuti ogni 6 mesi nel corso del trattamento. Le concentrazioni sieriche di KBr devono essere valutate 3 mesi dopo l'inizio del trattamento o in seguito a qualsiasi variazione nel dosaggio. Nei pazienti

che grazie al KBr raggiungono un adeguato controllo delle crisi, le concentrazioni sieriche del farmaco devono essere monitorate ogni 6 mesi, e, se il cane è in remissione o non ha crisi, è consigliabile poi un controllo periodico ogni 12 mesi (Bhatti, et al., 2015).

Per raggiungere più rapidamente le concentrazioni terapeutiche allo stato stazionario (per esempio nei cani con crisi frequenti o gravi, o quando il PB deve essere rapidamente interrotto a causa di effetti avversi pericolosi per la vita), può essere raccomandata una dose di carico:

- il carico orale può essere effettuato somministrando 625 mg/kg di KBr nell'arco di 48 ore, in 8 o più dosi;
- un carico più graduale può essere realizzato con una dose di 125 mg/kg/die di KBr suddivisi in tre o quattro somministrazioni giornaliere per 5 giorni consecutivi (Bhatti, et al., 2015).

I livelli sierici di KBr devono essere monitorati un mese dopo il carico (Bhatti, et al., 2015).

Se il carico supera le 48 ore, il cane deve essere ricoverato. Il carico può essere associato a effetti avversi, come nausea, vomito, diarrea, sedazione, atassia, debolezza degli arti pelvici, polidipsia, poliuria e polifagia. Si consiglia di interrompere il carico quando si evidenziano effetti avversi gravi (i cani in cui il KBr è usato come AED aggiuntivo al PB possono essere più inclini agli effetti avversi, e in questi casi può essere necessaria una riduzione della dose di PB del 25 %) (Bhatti, et al., 2015).

Quando è necessario un carico di bromuro in cani che non sono in grado di assumere farmaci per via orale (ad esempio, in stato epilettico, sedazione grave e/o in fase post-ictale grave) il bromuro può essere somministrato per via endovenosa o intrarettale. Una soluzione di NaBr al 3% in acqua sterile, somministrata come infusione a velocità costante (CRI) per 24 ore, alla dose di 900 mg/kg è stata suggerita, nel cane, per il carico endovenoso nei cani (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

La somministrazione di KBr per via endovenosa non è raccomandata a causa del potenziale rischio di aritmie cardiache derivanti da un'infusione rapida di potassio. È stato proposto un protocollo di carico di 600 mg/kg di soluzione sterile di KBr (con concentrazione 250 mg/ml) somministrato per via intrarettale, o come sei boli di 100 mg/kg ogni 4 ore per 24 ore, o come infusione a velocità costante per 24 ore. Gli effetti avversi segnalati includono diarrea transitoria per 24-48 ore e sedazione (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

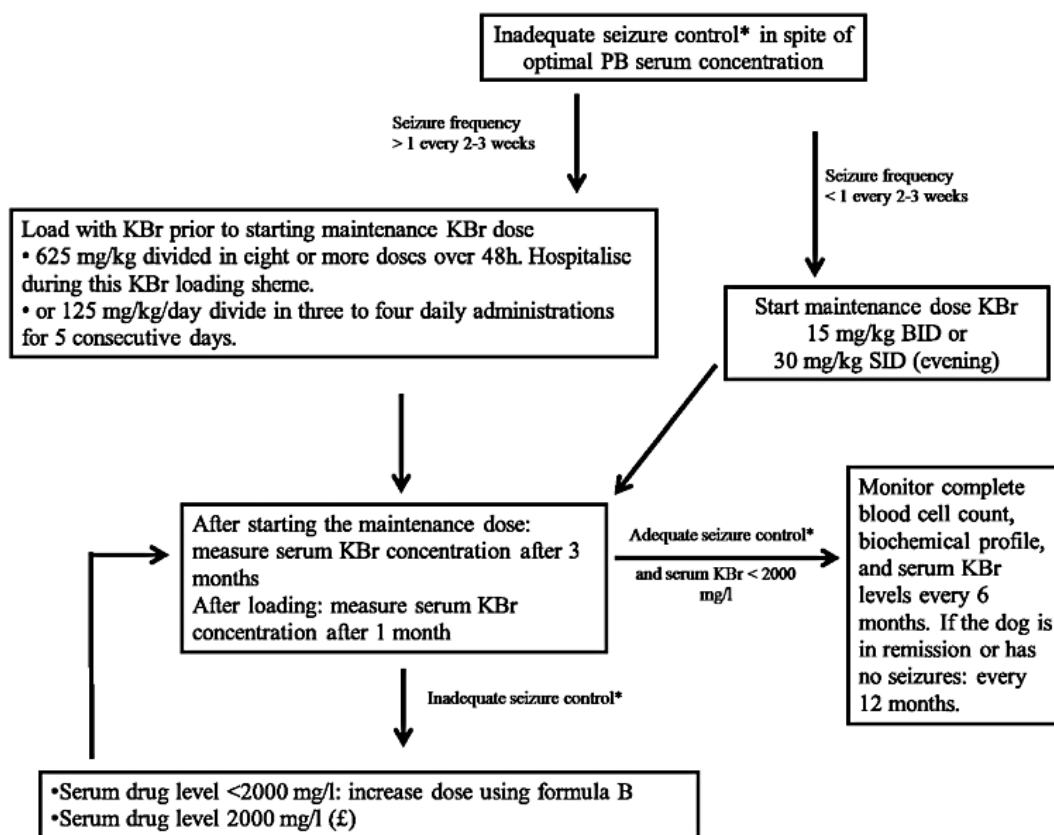


Figura 7: Diagramma di flusso di supporto per il processo decisionale relativo all'aggiunta di KBr alla terapia con PB (Bhatti, et al., 2015)

La dose di carico può essere seguita dalla dose di mantenimento (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Quando il Br viene aggiunto al PB per migliorare il controllo delle crisi e non ci sono effetti avversi pericolosi per la vita indotti dal PB, la somministrazione di quest'ultimo viene mantenuta, al dosaggio attuale, almeno fino al raggiungimento dei livelli sierici di riferimento del bromuro. Successivamente, se il controllo delle crisi è soddisfacente, ma gli effetti avversi persistono, il dosaggio del PB può essere diminuito del 10-25% ogni 4-6 settimane, mentre il cane viene monitorato attentamente dal punto di vista clinico. In alternativa, la dose di Br può essere diminuita del 10-25% (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Se necessario, l'aumento del dosaggio del KBr può essere calcolato secondo formule precise:

- in caso di trattamento concomitante con PB e KBr, la nuova dose di mantenimento può essere calcolata come segue:

$$(2000 \text{ mg/l} - \text{concentrazione sierica effettiva di KBr allo stato stazionario}) \times 0,02$$

$$= \text{mg/kg/die aggiunti alla dose esistente}$$

- in caso di monoterapia con KBr, la nuova dose di mantenimento può essere calcolata come segue:

$$(2500 \text{ mg/l} - \text{concentrazione sierica effettiva di KBr allo stato stazionario}) \times 0,02 \\ = \text{mg/kg/die aggiunti alla dose esistente (Bhatti, et al., 2015).}$$

Come nel caso del PB, se la frequenza delle crisi non è elevata, il trattamento dovrebbe iniziare con il dosaggio più basso, e un'eventuale modifica del dosaggio dovrebbe basarsi sul grado di controllo delle crisi, sulla presenza di effetti avversi e sul monitoraggio delle concentrazioni sieriche (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Efficacia

Il bromuro ha dimostrato di essere efficace come unico AED utilizzato nei cani affetti da epilessia, anche se la sua efficacia non raggiunge quella del PB. Come farmaco aggiuntivo, invece, somministrato in cani con epilessia idiopatica resistenti al PB, si è dimostrato efficace, nonché per il controllo delle crisi in cani che necessitano di una riduzione o interruzione della terapia a base di PB, a causa degli effetti avversi considerati inaccettabili (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Esiste un discreto livello di evidenza per raccomandare l'uso di KBr come monoterapia, ma meno come AED aggiuntivo (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014).

Uno studio condotto nel 2012 ha dimostrato che il KBr è meno efficace e tollerabile del PB come farmaco di prima scelta (Boothe, Dewey, & Carpenter, Comparison of phenobarbital with bromide as a first-choice antiepileptic drug for treatment of epilepsy in dogs, 2012). Tuttavia, il KBr può rappresentare il farmaco antiepilettico di prima scelta in cani con disfunzione epatica o in cani con patologie concomitanti che richiedono la somministrazione a vita di altri farmaci metabolizzati a livello epatico (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Cani in cui si registra un controllo inadeguato delle crisi epilettiche nonostante i livelli sierici di PB e di KBr (o soltanto del KBr, nei casi in cui il PB non è indicato) vicino ai limiti superiori del range di riferimento per almeno due mesi, o con effetti avversi persistenti e inaccettabili, vengono considerati resistenti a questi farmaci, e richiedono l'aggiunta di un altro farmaco antiepilettico, o una terapia basata totalmente su un altro farmaco (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Effetti avversi

Nel cane, gli effetti avversi dose-dipendenti più comuni del trattamento con KBr si manifestano nelle prime settimane di trattamento, e possono essere amplificati dalla somministrazione concomitante di PB. Includono:

- sedazione;
- atassia;
- debolezza degli arti pelvici;
- polidipsia/poliuria e polifagia con aumento di peso (Bhatti, et al., 2015).

Si attenuano parzialmente o completamente una volta raggiunte le concentrazioni di KBr allo stato stazionario. Inoltre, è stato riportato che si risolvono con una riduzione del 10-30% del dosaggio di PB (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'irritazione gastrointestinale e i segni clinici possono essere prevenuti o minimizzati grazie alla somministrazione di bromuro con il cibo, e dividendo la dose giornaliera in 2 o più dosi (Bhatti, et al., 2015). A questo proposito, alcuni individui possono tollerare meglio le soluzioni rispetto alle capsule, e il NaBr può essere tollerato meglio rispetto al KBr (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Reazioni idiosincriche non comuni, nel cane, includono cambiamenti di personalità (l'animale manifesta comportamento aggressivo, irritabilità, iperattività), tosse persistente, aumento del rischio di pancreatite e megaesofago (Bhatti, et al., 2015). Questi ultimi effetti solitamente si attenuano o si risolvono con la riduzione della dose di farmaco, o con l'interruzione del trattamento (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

La tossicosi da bromuro (*bromismo*) è la condizione tossica derivante dall'ingestione di composti contenenti bromuro in eccesso, e si sviluppa nei cani trattati con bromuro. Sebbene il bromismo si sviluppi in modo dose-dipendente, il grado di tolleranza clinica del bromuro varia tra i pazienti e, di conseguenza, le concentrazioni sieriche di bromuro nel cane sono scarsamente predittive di bromismo imminente. Poiché il bromuro viene eliminato principalmente attraverso i reni, l'insufficienza renale con conseguente ridotta escrezione di bromuro è un fattore di rischio riportato per lo sviluppo di bromismo nei cani che ricevono dosi di bromuro entro l'intervallo terapeutico raccomandato; altri fattori di rischio ipotizzati per lo sviluppo del bromismo nel cane includono predisposizioni di razza, malattie neurologiche concomitanti, ridotto apporto dietetico di sale e uso concomitante di altri AED (Rossmeisl & Inzana, 2009).

I segni clinici del bromismo sono generalmente da subacuti a cronici e progressivi, e comprendono ottundimento, stupore o coma, midriasi bilaterale con riflessi pupillari lenti e incompleti, cecità bilaterale, anisocoria, comportamento anomalo, *head pressing*, atassia,

paraparesi, tetraparesi con riflessi spinali normali o ridotti, disfagia, megaesofago e dolori muscolari (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

I casi lievi possono essere trattati con una riduzione della dose di bromuro dal 25% al 50%, grazie alla quale dovrebbe essere registrata una risposta clinica entro una o due settimane. I casi più gravi vanno gestiti interrompendo temporaneamente la somministrazione di bromuro, e stimolando la diuresi con soluzione fisiologica EV per favorire l'escrezione di bromuro e ridurre gradualmente le concentrazioni sieriche. Anche la furosemide è stata usata per favorire la diuresi del bromuro, ma il suo impatto sulla clearance di quest'ultimo non è chiaro. Una riduzione improvvisa ed eccessiva delle concentrazioni sieriche di bromuro può causare crisi epilettiche, pertanto la diuresi deve essere effettuata con attenzione. La somministrazione per via orale di una dose più bassa di bromuro può essere iniziata una volta risolti i segni di tossicità (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Se il bromismo è legato allo sviluppo di un'insufficienza renale, devono essere presi in considerazione AED alternativi come levetiracetam, zonisamide o PB, e il dosaggio di KBr deve essere ridotto del 50% oppure interrotto (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Alterazioni nelle analisi di laboratorio

Come citato in precedenza, la somministrazione di bromuro può provocare nel paziente un'ipercloromia fittizia ("pseudo-ipercloromia") nel dosaggio su siero, sangue intero o plasma. La maggior parte dei metodi analitici biochimici disponibili in commercio utilizzati per la determinazione del cloruro misurano in realtà la concentrazione totale di ioni alogenuri nel campione, che in genere include il cloruro, le concentrazioni fisiologiche di bromuro endogeno e il bromuro esogeno somministrato. A differenza della vera ipercloromia, la pseudo-ipercloromia non è associata a ipernatriemia o acidosi metabolica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il trattamento cronico con KBr nel cane non provoca alcuna alterazione nella funzione o nella morfologia tiroidea, dunque nelle analisi di laboratorio non si rinvenivano anomalie degli ormoni tiroidei (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Sulla base delle ampie prove degli ultimi decenni che mostrano che gli oligoelementi svolgono un ruolo nell'epilessia degli esseri umani, uno studio recente ha proposto una valutazione delle concentrazioni di oligoelementi e metalli tossici nel sangue intero di cani a cui era stata diagnosticata l'IE, confrontandole con quelle di cani sani. Tra i vari risultati dello studio, è stato

riportato che nel cane il trattamento dell'IE con bromuro di potassio può essere associato ad un aumento significativo della concentrazione di arsenico nel sangue (Rosandal, et al., 2023).

Levetiracetam

In Medicina Umana, il levetiracetam si è dimostrato uno dei AED di nuova generazione più efficaci e meglio tollerati, molto efficace nel trattamento delle epilessie refrattarie ad altri farmaci (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Dal punto di vista chimico, il levetiracetam (LEV) è l'S enantiomero dell'alfa-etil-2-oxo-1-pirollidin acetamide (C₈H₁₄N₂O₂). Sembra avere un meccanismo diverso da quello degli altri farmaci antiepilettici attualmente disponibili (Contreras-García, et al., 2022).

Il LEV è un farmaco ad ampio spettro, utilizzato da solo o insieme ad altri farmaci antiepilettici per il controllo delle crisi sia ad insorgenza focale che generalizzata. Nel 1999, la FDA statunitense ha approvato l'uso della formulazione orale come terapia aggiuntiva per il trattamento di crisi focali, miocloniche e generalizzate. Una formulazione per via EV è stata approvata nel 2006 come terapia anticonvulsivante aggiuntiva in quei pazienti in cui la somministrazione orale non è praticabile. In Europa, la EMA ne ha approvato l'uso nel 2000, come monoterapico per il trattamento delle crisi ad insorgenza focale e delle crisi tonico-cloniche che da focali evolvono in bilaterali (note precedentemente, queste ultime, come crisi parziali con generalizzazione secondaria), e come farmaco aggiuntivo nel trattamento delle crisi focali, delle crisi miocloniche, e delle crisi generalizzate tonico-cloniche. Il farmaco ha dimostrato una buona efficacia anche in pazienti con crisi riflesse, ed è probabilmente il migliore AED, tra quelli nuovi, per il trattamento dell'epilessia mioclonica giovanile, grazie ad un'efficacia elevata e prolungata (Contreras-García, et al., 2022).

Anche se l'uso principale il LEV è come AED, sono state sperimentate altre applicazioni cliniche: in generale, importanti evidenze hanno dimostrato che il farmaco ha effetti antiepilettogeni, neuroprotettivi, antinfiammatori e antiossidanti (Contreras-García, et al., 2022).

L'efficacia del LEV come farmaco antiepilettico è stata dimostrata in modelli animali di epilessia, e risulta ben tollerato e sicuro, solitamente, per l'uso clinico, sia nei cani che nei gatti. I dati sulla sua efficacia clinica in queste specie, tuttavia, sono ancora limitati. Il farmaco ha anche proprietà neuroprotettive, ed è in grado di ridurre i danni cerebrali dovuti alle crisi e all'ischemia acuta che ne può conseguire (in caso di crisi prolungata). Ad oggi, il LEV è

disponibile in commercio nella forma di compresse a rilascio immediato o a rilascio ritardato, come soluzione orale e anche come formulazione ad uso EV (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Viste le proprietà farmacocinetiche favorevoli nella specie canina, il levetiracetam ha guadagnato una considerevole popolarità in Medicina Veterinaria. Tuttavia, attualmente non esistono studi pubblicati che valutino l'uso di questo farmaco come trattamento di prima linea nei cani affetti da epilessia (Podell, et al., 2016).

Meccanismo d'azione

Il meccanismo d'azione del LEV non è del tutto chiaro, ma si ritiene che questo agisca principalmente legandosi alla proteina 2A della vescicola sinaptica (SV2A) a livello di terminale presinaptico, regolando la fusione della vescicola e così il rilascio del neurotrasmettitore (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Altri meccanismi che potrebbero contribuire all'azione antiepilettica del LEV includono:

- inibizione dello scambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ Na^+ -dipendente;
- modulazione dei canali del K^+ e dei canali del Ca^{2+} ad alto voltaggio di tipo N;
- riduzione del rilascio di glutammato attraverso la modulazione dei canali del Ca^{2+} voltaggio-dipendenti presinaptici di tipo P/Q;
- contrasto all'inibizione allosterica delle correnti ioniche determinate dal legame del GABA e della glicina;
- antagonismo all'ipersincronizzazione neuronale (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Inoltre, uno studio del 2011 suggerisce che il LEV può ridurre la diffusione dell'attività elettrica indotta dalle crisi all'interno del sincizio funzionale astrogliale, con una conseguente stabilizzazione dell'interazione tra neuroni e cellule della glia (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il LEV si differenzia dagli AED classici poiché non condivide l'affinità con i bersagli di altri AED e non agisce attraverso le tre vie classiche degli AED: la modulazione dei canali del sodio, la modulazione dei canali del calcio a basso voltaggio (tipo T) e l'aumento diretto dell'attività del GABA. Inoltre, il LEV è risultato privo di effetto anticonvulsivante nei test con crisi epilettiche indotte da elettroshock massimale (MES) e pentilentetrazolo (PTZ), tradizionalmente utilizzati per valutare l'efficacia dei farmaci antiepilettici, ma sopprime marcatamente le crisi in modelli cronici come topi sottoposti a *kindling* con elettroshock

corneale, animali geneticamente epilettici e modelli di epilessia indotti da pilocarpina o acido kainico, fornendo prove delle sue proprietà anticonvulsivanti (Contreras-García, et al., 2022). L'azione del LEV di protezione selettiva dalle crisi in modelli cronici lo distingue da altri AED che agiscono sia in animali sani che in animali epilettici. Ciò è coerente con le registrazioni intracellulari condotte su sezioni di neuroni CA3, dove il LEV non influenza la normale trasmissione glutammatergica e GABAergica, ma diminuisce invece l'attività epilettiforme indotta dalla bicucullina (antagonista del recettore GABA_A), o dell'acido N-metil-D-aspartico (agonista del glutammato). Questa attività selettiva sembra essere correlata a un diverso meccanismo d'azione che comprende solo l'inibizione del *burst firing*, senza interferire con la normale eccitabilità neuronale, con conseguente protezione dalla transizione da attività interictale ad attività ictale. Su questa base, si suggerisce che il LEV agisca preferibilmente sui neuroni che presentano pattern di attività anomali. Ciò spiega probabilmente la mancanza di attività anticonvulsiva contro le crisi acute rispetto alla sua potente azione anticonvulsiva nei modelli cronici, nonché la sua straordinaria tollerabilità e sicurezza (Contreras-García, et al., 2022).

Il diverso meccanismo d'azione del levetiracetam rispetto a quello degli altri AED può risultare vantaggioso in quei pazienti in cui viene impostata una politerapia (Bhatti, et al., 2015).

Farmacocinetica

Nel cane, il levetiracetam possiede un profilo farmacocinetico favorevole come AED aggiuntivo: vanta un assorbimento rapido e completo dopo somministrazione orale, un legame proteico minimo, un metabolismo epatico minimo, e viene escreto principalmente immutato attraverso i reni (dunque, nei pazienti con compromissione renale è necessario considerare una riduzione del dosaggio) (Bhatti, et al., 2015).

La somministrazione del levetiracetam col cibo rallenta la velocità ma non l'entità del suo assorbimento (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Visto il suo metabolismo epatico molto ridotto, nel cane, il levetiracetam rappresenta un'opzione terapeutica preziosa nei pazienti con disfunzione epatica nota o sospetta. La sua breve emivita di eliminazione (pari a 3-6 ore), rende necessaria, però, una somministrazione frequente del farmaco (Bhatti, et al., 2015).

Uno studio ha riportato che nei ratti l'emivita di LEV nel liquido cerebrospinale era significativamente più lunga (circa il doppio) rispetto all'emivita plasmatica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

Il levetiracetam presenta un basso potenziale di interazioni farmacocinetiche clinicamente rilevanti con altri farmaci, grazie a un metabolismo epatico e a un legame proteico trascurabili. Inoltre, non presenta alcuna attività di induzione/inibizione degli enzimi epatici responsabili del metabolismo di altri farmaci. Nel cane, la somministrazione di LEV non influisce in alcun modo sulla concentrazione sierica allo stato stazionario di PB e bromuro (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

È stato dimostrato, invece, che la somministrazione concomitante di PB altera in modo significativo la farmacocinetica del levetiracetam nei cani sani e in quelli affetti da epilessia, determinando una diminuzione del picco di concentrazione del LEV e una sua più rapida eliminazione (Podell, et al., 2016). Pertanto, in caso di terapia concomitante con PB potrebbe essere necessario aumentare la dose orale di levetiracetam, oppure ridurre l'intervallo di somministrazione (monitorando, preferibilmente, la concentrazione sierica del LEV) (Bhatti, et al., 2015).

La somministrazione di LEV insieme ad altri AED, in particolare con quelli che come meccanismo d'azione principale potenziano l'attività del GABA, garantisce un effetto sinergico di protezione dalle crisi epilettiche, senza, al tempo stesso, determinare effetti collaterali e interazioni farmacocinetiche più pronunciati (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

Per quanto riguarda l'intervallo terapeutico del levetiracetam, dato che nel cane non sono disponibili informazioni utili, può essere usato come guida, per definire le concentrazioni efficaci del farmaco, l'intervallo di riferimento per l'uomo: 12-46 µg/l (Bhatti, et al., 2015).

Sulla base dei risultati degli studi di farmacocinetica e degli intervalli di riferimento presi come guida dalla Medicina Umana, la dose di LEV raccomandata per la terapia di mantenimento nel cane è di 20 mg/kg per via orale ogni 8 ore. Lo stesso dosaggio può essere somministrato per via parenterale (SC, IM, EV) quando la somministrazione orale non è possibile. Nei pazienti con funzionalità renale compromessa è necessario considerare una riduzione del dosaggio di LEV, in quanto questa condizione potrebbe comportare una diminuzione della clearance renale di LEV (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Quando le concentrazioni sieriche di riferimento del LEV devono essere raggiunte rapidamente, una dose singola di 60 mg/kg può essere somministrata per via orale o parenterale come dose

di carico, seguita, dopo 8 ore, dalla dose di mantenimento (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Somministrazioni ripetute di 20 mg/kg di LEV possono essere usate per il trattamento delle crisi a grappolo e dello *status epilepticus*, in qualsiasi momento in cui si sospetti una disfunzione epatica per cui i farmaci metabolizzati a livello epatico (come BZD o PB) devono essere evitati. Questo protocollo viene consigliato, in tali situazioni, anche per quei pazienti che si dimostrano resistenti a PB o BZD (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Le concentrazioni sieriche di LEV non sono misurate di routine nella pratica clinica, a causa dell'ampio indice terapeutico del farmaco e della mancanza di una relazione accertata tra le concentrazioni sieriche del farmaco e la risposta al trattamento e gli effetti avversi nell'uomo e nel cane (Podell, et al., 2016).

Tuttavia, il monitoraggio della concentrazione sierica del LEV ha come vantaggio il fatto che questo aiuta ad adattare la terapia al paziente, e che, in caso di recidiva delle crisi in quei pazienti che hanno attraversato un periodo di controllo soddisfacente delle crisi grazie a una concentrazione sierica costante di LEV, questo aiuta a capire se si è verificata una diminuzione della concentrazione sierica del farmaco. Il momento della giornata in cui si effettua il prelievo di sangue è importante per l'interpretazione della concentrazione sierica di LEV a causa dell'emivita relativamente breve di quest'ultimo. La raccolta del campione appena prima della somministrazione consente di valutare la concentrazione più bassa nell'intervallo di dosaggio e anche la coerenza del momento del campionamento. Inoltre, il momento del prelievo (mattina o pomeriggio) deve essere coerente, poiché può verificarsi una variazione diurna nell'escrezione di LEV (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

La valutazione delle concentrazioni sieriche e plasmatiche di LEV allo stato stazionario può essere utilizzata per determinare l'emivita del LEV, e questo può essere particolarmente utile nei cani a cui viene somministrato contemporaneamente il PB, per identificare, eventualmente, la necessità di aumentare il dosaggio totale somministrato o l'intervallo di somministrazione del LEV (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Alcuni cani sottoposti a terapia con levetiracetam hanno dimostrato il cosiddetto “effetto luna di miele”: i pazienti hanno infatti sviluppato una tolleranza al farmaco durante la terapia cronica. Per questa ragione, è stato sviluppato un trattamento terapeutico pulsatile, che prevede la somministrazione di una dose iniziale di 60 mg/kg per via orale o parenterale dopo l'esordio della crisi epilettica, o nel momento in cui vengono riconosciuti segni pre-ictali, seguita da 20 mg/kg TID finché il paziente non si dimostra libero da crisi nell'arco di 48 ore. Tale protocollo è stato introdotto al fine di iniziare il trattamento solo in caso di crisi a grappolo, quando è

necessario ottenere rapidamente le concentrazioni terapeutiche di levetiracetam. La terapia pulsatile è stata tuttavia associata a un maggior numero di effetti collaterali rispetto alla terapia di mantenimento (Bhatti, et al., 2015).

Efficacia

I dati relativi all'efficacia clinica del LEV nel cane sono limitati (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). Fino a pochi anni fa, tutti gli studi pubblicati sul levetiracetam come terapia per cani affetti da epilessia ne hanno valutato l'uso come trattamento aggiuntivo in cani refrattari al fenobarbital, al bromuro o a entrambi (Podell, et al., 2016).

In tre studi condotti tra il 2004 e il 2012, che hanno valutato l'efficacia del levetiracetam come aggiunta ad altri AED, la maggior parte dei cani è stata trattata con successo con levetiracetam orale come AED aggiuntivo (Bhatti, et al., 2015).

Nel 2008, quattordici cani con epilessia idiopatica resistenti al trattamento con PB e bromuro sono stati trattati con levetiracetam come farmaco aggiuntivo, e sono stati inseriti in uno studio prospettico, in aperto, non comparativo. Dopo 2 mesi di trattamento orale con levetiracetam (10 mg/kg TID), 8/14 cani hanno risposto in modo significativo al trattamento, e la frequenza delle crisi si è ridotta almeno del 50%. Nei cani che sono rimasti refrattari, il dosaggio è stato aumentato a 20 mg/kg TID per 2 mesi, e un altro cane ha risposto al trattamento. È stato riportato un tasso di risposta del 57% nei cani con epilessia resistente ai farmaci. Tuttavia, 6/9 *responder* hanno sperimentato un aumento della frequenza delle crisi e dei giorni di crisi dopo 4-8 mesi (continuando con il trattamento con LEV all'ultimo dosaggio efficace). Il farmaco è stato ben tollerato da tutti i cani, e la sedazione è stato l'unico effetto collaterale riportato (solo in uno dei 14 cani) (Volk, Matiasek, Feliu-Pascual, Platt, & Chandler).

Nel 2012, in uno studio randomizzato in cieco, controllato con placebo, sono state valutate efficacia e sicurezza del LEV come terapia aggiuntiva in 34 cani con epilessia resistente ai farmaci. Nei 22 cani che hanno completato lo studio, è stata registrata una riduzione significativa della frequenza delle crisi rispetto al periodo pre-trattamento, ma non è stata rilevata alcuna differenza nella frequenza delle crisi quando il LEV è stato confrontato con il placebo. L'evento avverso più comune è stato l'atassia, senza differenze di incidenza tra LEV e placebo (Muñana, et al., 2012). La divergenza nella dimensione del gruppo e la piccola dimensione del campione (a causa dell'elevato tasso di abbandono) possono aver contribuito a questo risultato (Bhatti, et al., 2015).

Possiamo dire che vi è una discreta evidenza per raccomandare l'uso del LEV come AED (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014). Ad ogni modo, la tendenza alla diminuzione della frequenza delle crisi e all'aumento del tasso di *responder* durante la somministrazione di LEV rispetto al placebo merita un'ulteriore valutazione in uno studio più ampio (Bhatti, et al., 2015).

Nel 2015, uno studio retrospettivo ha valutato l'uso del LEV in una clinica per l'epilessia canina al fine di determinare l'efficacia e la tollerabilità a lungo termine del farmaco nella pratica clinica veterinaria, fornendo ulteriori prove del fatto che la somministrazione di levetiracetam come AED aggiuntivo è ben tollerata, e sopprime significativamente le crisi epilettiche nei cani con epilessia idiopatica. Gli autori hanno anche confermato che se la frequenza delle crisi aumenta, un ulteriore AED può essere utile, e hanno introdotto la possibilità di somministrare il LEV come terapia pulsatile per le crisi a grappolo (Packer, Nye, Porte, & Volk, 2015).

Nel 2022, uno studio clinico prospettico in aperto ha confrontato due strategie di trattamento in 26 cani con epilessia idiopatica resistente ai farmaci: la prima strategia di trattamento consisteva nella terapia aggiuntiva con pregabalin (PGB) *per os* a un dosaggio di 4 mg/kg ogni 12 ore (BID), e la seconda consisteva in un aumento del 30% della dose di LEV come farmaco aggiuntivo, somministrato ogni 8 ore (TID). La popolazione dello studio era costituita da cani (età media 5,5 anni) con epilessia idiopatica e frequenti crisi mensili (una media di 4 crisi al mese) nonostante il trattamento adeguato con AED autorizzati, e tutti i cani avevano una storia di crisi a grappolo. La strategia a base di PGB è stata introdotta in 14 dei 26 cani, quella a base di LEV è stata riservata ai restanti 12 (Kriechbaumer, et al., 2022).

L'aumento della dose nel trattamento aggiuntivo LEV è stato scelto in quanto le linee guida di consenso IVETF e ACVIM consigliano di aumentare il dosaggio o l'intervallo di applicazione del LEV in caso di fallimento del trattamento con PB. I tassi di successo complessivo sono stati bassi con entrambe le strategie in questa popolazione di cani resistente ai farmaci: il prolungamento dell'intervallo interictale di tre volte rispetto a quello precedente lo studio e un periodo libero da crisi ≥ 3 mesi (utilizzati come criteri di esito terapeutico positivo) si sono verificati solo nel 14,3% (due cani) e nell'8,7% (un cane) nei gruppi PGB e LEV, rispettivamente. Il successo del trattamento è durato 6, 10 (PGB) e 8 mesi (LEV) in questi cani: in seguito, le crisi mensili si sono ripresentate (il trattamento con gli altri AED non è stato modificato) (Kriechbaumer, et al., 2022).

L'insorgenza di crisi epilettiche focali è stata sospettata nel 46,2% dei cani dello studio (12/26 cani: 6 nel gruppo PGB e 6 nel gruppo LEV) ed è stato il tipo di crisi predominante nel 26,9% dei cani (7/26 cani: 4 nel gruppo PGB e 3 nel gruppo LEV) (Kriechbaumer, et al., 2022).

Il fallimento riportato del trattamento con LEV potrebbe essere riconducibile a fattori genetici o molecolari dell'epilessia dei cani oggetto dello studio, che non hanno risposto al meccanismo d'azione del LEV, oppure ad un “effetto luna di miele”. L'aumento del 30% del dosaggio del LEV non ha permesso di ottenere concentrazioni del farmaco all'interno dell'intervallo terapeutico umano in quattro cani dello studio, pertanto tale aumento potrebbe essere stato insufficiente per ottenere un ulteriore effetto del trattamento (fino a ora non è stato stabilito un intervallo terapeutico per le concentrazioni sieriche di LEV nel cane) (Kriechbaumer, et al., 2022).

Quanto ad un eventuale utilizzo del LEV come monoterapico, uno studio condotto nel 2016 ha esaminato l'efficacia e la tollerabilità del farmaco come monoterapia in cani affetti da epilessia idiopatica: è stato utilizzato un disegno di studio prospettico a gruppi paralleli, in singolo cieco, in cui sono stati inclusi 12 cani, randomizzati al trattamento con LEV (30 mg/kg/die o 60 mg/kg/die suddivisi in tre dosi giornaliere) o PB (4 mg/kg/die suddivisi in due dosi al giorno). A 30 e 60 giorni sono state effettuate visite di controllo, ripetute poi ogni tre mesi, per un massimo di un anno (nei pazienti in cui sono state rilevate due o più crisi nell'arco di 3 mesi è stato introdotto un aumento del dosaggio del farmaco). Cinque dei sei cani trattati con LEV e uno dei sei cani trattati con PB si sono ritirati dallo studio entro 2-5 mesi a causa di un controllo insufficiente delle crisi (Fredso, Sabers, Toft, Møller, & Berendt, 2016).

Nei cani trattati con LEV non c'è stata una differenza significativa nel numero mensile di crisi prima e dopo il trattamento, mentre nei cani trattati con PB c'è stata una riduzione significativa della frequenza delle crisi: cinque cani trattati con PB sono stati classificati come veri *responder* (riduzione $\geq 50\%$ delle crisi/mese), mentre nessuno dei cani trattati con LEV ha soddisfatto questo criterio. Gli effetti avversi sono stati riportati in entrambi i gruppi, ma sono stati più frequenti nel gruppo del PB. In questo studio, dunque, il LEV è stato ben tollerato, ma non è stato efficace alle dosi indicate come monoterapia nei cani con epilessia idiopatica (Fredso, Sabers, Toft, Møller, & Berendt, 2016).

Effetti avversi

Nel cane, tutti gli effetti avversi segnalati associati alla somministrazione di levetiracetam sono effetti avversi prevedibili e correlati ai suoi effetti farmacologici in modo dose-dipendente (Podell, et al., 2016). In questa specie il levetiracetam è un farmaco solitamente sicuro e ben tollerato: fatta eccezione per una lieve sedazione, atassia, diminuzione dell'appetito e vomito, gli effetti avversi descritti risultano molto rari (Bhatti, et al., 2015).

In alcuni casi, per risolvere questi effetti è stata necessaria una riduzione della dose, o anche l'interruzione permanente della somministrazione di LEV. Il potenziale di tossicosi associato alla somministrazione di LEV è basso. Nel cane, la somministrazione orale di 2000 mg/kg e la somministrazione per via endovenosa di 1200 mg/kg hanno dato luogo a lievi reazioni avverse, tra cui salivazione, vomito, tachicardia e irrequietezza (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nei pazienti sottoposti a terapia con LEV, inoltre, è possibile che si verifichino cambiamenti comportamentali, sia positivi che negativi. Uno studio retrospettivo condotto nel 2020, infatti, ha valutato l'incidenza dei cambiamenti comportamentali in 84 cani epilettici trattati con LEV (come monoterapia/trattamento aggiuntivo/terapia pulsatile), sulla base delle informazioni ottenute grazie ad un questionario sottoposto ai proprietari degli animali (Erath, et al., 2020).

Circa la metà dei cani (44/84) presentava cambiamenti comportamentali preesistenti prima del trattamento con LEV; alcuni di questi (14) hanno riportato un peggioramento di tali cambiamenti o l'esordio di nuove alterazioni comportamentali, in aggiunta, dopo l'inizio della terapia (4). Ansia, depressione e ricerca di attenzione sono stati i tre comportamenti che con più frequenza si sono intensificati o sono stati riportati in cani che non presentavano alterazioni comportamentali. 15 di questi 44 cani hanno registrato un miglioramento del comportamento dopo il trattamento con LEV (comportamento più calmo, maggiore attività e maggiore energia sono stati i tre cambiamenti comportamentali positivi riportati più frequentemente nello studio). È interessante notare che solo cinque dei cani per i quali è stato segnalato un cambiamento comportamentale positivo erano privi di crisi epilettiche. Su 40 cani che invece non presentavano anomalie comportamentali preesistenti, 10 hanno sviluppato cambiamenti comportamentali associati alla somministrazione di LEV (Erath, et al., 2020).

In totale, dopo l'inizio della terapia con LEV, il 51% degli 84 cani esaminati ha sviluppato un cambiamento o un'intensificazione di un'alterazione preesistente del comportamento. Non è stato possibile, però, trovare una chiara associazione tra il dosaggio di LEV e la comparsa di alterazioni comportamentali (anche se sono stati riportati cambiamenti comportamentali più evidenti quando, dopo un periodo di terapia con LEV, il dosaggio del farmaco è stato aumentato). È raro che, quando negativi, i cambiamenti comportamentali associati al trattamento con LEV siano talmente gravi da rendere necessaria l'interruzione del farmaco, e ad ogni modo, generalmente sono reversibili (Erath, et al., 2020).

Alterazioni nelle analisi di laboratorio

La somministrazione di LEV non dimostra avere effetti clinicamente rilevanti sui parametri di laboratorio di routine (inclusi ematologia, profilo chimico del siero o analisi delle urine) nei cani e nei gatti, né influisce sulle concentrazioni sieriche di PB e di bromuro (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Zonisamide

La zonisamide (ZNS) è un farmaco antiepilettico sintetico, che dal punto di vista chimico è una sulfonamide, ed è strutturalmente diversa da tutti gli altri AED. Nell'uomo, è stata autorizzata negli Stati Uniti e in Europa soltanto nel 2000 e nel 2005, rispettivamente, come trattamento aggiuntivo negli adulti con crisi epilettiche focali. Diversi studi hanno riportato che la ZNS è un farmaco ben tollerato ed efficace, come antiepilettico di prima linea o come farmaco aggiuntivo, nelle persone affette da epilessia con crisi focali, ma anche come trattamento aggiuntivo, in molti casi, per soggetti con crisi generalizzate (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Esistono poche segnalazioni sull'uso della zonisamide nei cani, nonostante sia autorizzata per il trattamento dell'epilessia canina in Giappone (Bhatti, et al., 2015).

Nel cane, la ZNS è generalmente ben tollerata e ha un profilo farmacocinetico favorevole, che permette la somministrazione due volte al giorno e il raggiungimento delle concentrazioni plasmatiche allo stato stazionario in circa 4 giorni dopo l'inizio del trattamento o la modifica della dose. La sua efficacia nel ridurre le crisi epilettiche è stata dimostrata in modelli animali di epilessia con crisi sia focali che generalizzate. Tuttavia gli studi clinici sulla sua efficacia nel cane sono limitati. L'efficacia (intesa come riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi) della ZNS riportata nei cani con IE varia dal 58 all'80% quando usata come trattamento aggiuntivo, ed è del 60% quando somministrata come monoterapia (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Attualmente, la zonisamide non è disponibile in tutti i paesi, e se disponibile può essere molto costosa (Bhatti, et al., 2015).

Meccanismo d'azione

L'attività anticonvulsivante della ZNS è stata dimostrata in una serie di modelli sperimentali di convulsioni in animali e *in vitro*. Le prove attuali suggeriscono che il farmaco possieda meccanismi d'azione multipli e complementari, che contribuiscono alla sua efficacia in molti tipi di epilessia. Questi sono:

1. Stabilizzazione della membrana neuronale e inibizione dell'ipersincronizzazione neuronale mediante inibizione dei canali neuronali del sodio voltaggio-dipendenti, e inibizione dei canali del calcio voltaggio-dipendenti a basso voltaggio di tipo T;
2. Neuromodulazione attraverso il potenziamento della funzione del GABA, inibizione del rilascio di glutammato, facilitazione della trasmissione dopaminergica e serotoninergica, e aumento del turnover dell'acetilcolina;
3. Neuroprotezione grazie all'eliminazione dei radicali liberi (che può limitare i danni neuronali causati da crisi ricorrenti e contribuire alla stabilizzazione della membrana neuronale), contrasto all'esordio e alla diffusione delle crisi (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Farmacocinetica

Nel cane, la zonisamide viene assorbita rapidamente dal tratto gastrointestinale, e il picco delle concentrazioni sieriche viene raggiunto da 2,5 a 6 ore dopo la somministrazione orale (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'emivita di eliminazione è relativamente lunga (circa 15 ore) e il legame con le proteine è basso (fattore che riduce al minimo le interazioni farmacologiche) (Bhatti, et al., 2015).

La concentrazione della zonisamide differisce tra i vari costituenti del sangue: essa infatti presenta un'elevata affinità di legame con i globuli rossi, e si accumula all'interno di questi. Per questa ragione, la concentrazione e la disponibilità della ZNS nei globuli rossi e nel sangue intero sono simili tra loro, ma diverse da quelle rilevate nel siero e nel plasma (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dopo una singola dose per via EV o orale:

- la concentrazione massima (C_{max}) di ZNS nel siero o nel plasma è inferiore a quella degli eritrociti;
- il tempo per raggiungere la C_{max} (T_{max}) è più breve nel siero rispetto che nei globuli rossi;

- il volume apparente di distribuzione (V_d) è maggiore nel siero e nel plasma rispetto al sangue intero e agli eritrociti;
- l'emivita di eliminazione ($T_{1/2}$) è più rapida nel siero e nel plasma rispetto al sangue intero e ai globuli rossi;
- la clearance totale del farmaco è maggiore nel siero e nel plasma rispetto al sangue intero e ai globuli rossi (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

La ZNS penetra facilmente attraverso le membrane lipidiche e la barriera emato-encefalica, e la sua concentrazione rimane più elevata nel SNC che nel siero o nel plasma (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Viene metabolizzata principalmente a livello epatico, attraverso il citocromo P450, e infine escreta dai reni (Bhatti, et al., 2015). Circa il 10% della zonisamide viene escreto nelle feci (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

Nell'uomo, la zonisamide viene metabolizzata prevalentemente dal CYP3A4 a livello epatico, e la co-somministrazione di farmaci che inducono o inibiscono il CYP3A4 può modificare la farmacocinetica della ZNS: il PB, che è un induttore del CYP3A4, infatti, aumenta la clearance della ZNS di circa il 50%, e ne diminuisce l'emivita di eliminazione (Podell, et al., 2016).

Nel cane, la somministrazione ripetuta di PB aumenta l'attività del CYP3A, ma non è ancora stato stabilito, in questa specie, quali sono i CYP coinvolti nel metabolismo della ZNS. Ad ogni modo, è stato dimostrato che la somministrazione concomitante di PB altera la farmacocinetica della zonisamide: la somministrazione orale ripetuta di PB in un dosaggio di 5 mg/kg ogni 12 ore per 30-35 giorni può diminuire la biodisponibilità, la concentrazione sierica massima, l'area sotto la curva della concentrazione sierica rispetto al tempo e l'emivita di eliminazione apparente della ZNS, e può aumentarne la clearance totale (senza che T_{max} e V_d subiscano alterazioni). I parametri farmacocinetici della ZNS possono essere riportati ai valori precedenti al trattamento con PB con la sospensione della somministrazione di quest'ultimo (le alterazioni dei parametri vengono meno entro 12 settimane) (Podell, et al., 2016).

La zonisamide non sembra possedere attività di induzione o inibizione degli isoenzimi epatici CYP450, mentre è un debole inibitore dell'anidraasi carbonica; è dunque necessario agire con cautela quando viene somministrata insieme ad altri farmaci con questa caratteristica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

La dose iniziale di zonisamide raccomandata per via orale nel cane è di 3-7 mg/kg BID e di 7-10 mg/kg BID nei cani a cui sono stati somministrati induttori degli enzimi microsomiali epatici (come il PB) (Bhatti, et al., 2015).

Le concentrazioni sieriche di zonisamide devono essere misurate 1-2 settimane dopo l'inizio del trattamento o l'eventuale modifica del dosaggio, e ogni volta che la frequenza delle crisi aumenta. Il range terapeutico di riferimento nell'uomo è di 10-40 µg/mL, e può essere utilizzato come guida per stimare le concentrazioni efficaci nel cane (Podell, et al., 2016).

La valutazione clinica, insieme al monitoraggio della concentrazione sierica del farmaco, possono aiutare a stabilire un intervallo terapeutico per i singoli pazienti, e a regolare di conseguenza il dosaggio orale (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Attualmente non ci sono raccomandazioni sulla tempistica ottimale del prelievo di sangue per il monitoraggio della concentrazione sierica. In uno studio farmacocinetico del 2008, è stato riportato che la fluttuazione tra le C_{max} e C_{min} della ZNS era del 10% allo stato stazionario. Gli autori raccomandano di raccogliere un campione entro un'ora prima della successiva somministrazione programmata, in quanto ciò consente di valutare la concentrazione più bassa che può verificarsi durante l'intervallo di somministrazione, e facilitare il confronto dei risultati di campioni seriali (Podell, et al., 2016).

Nei cani con crisi epilettiche difficili da controllare, ai quali vengono somministrati sia ZNS che PB, si consiglia di misurare sia la C_{min} che la C_{max} (rispettivamente tramite prelievo entro un'ora dalla somministrazione del farmaco, e tre ore dopo la somministrazione), al fine di indagare quanto la breve emivita del farmaco può avere avuto un ruolo in un eventuale fallimento terapeutico (Podell, et al., 2016).

L'emocromo completo e il profilo biochimico devono essere eseguiti prima di iniziare il trattamento con zonisamide, e ripetuti periodicamente ogni 6 mesi durante il trattamento (Bhatti, et al., 2015).

Efficacia

Le informazioni sull'efficacia clinica della zonisamide nei cani epilettici si limitano a pochi studi, condotti in aperto e senza gruppo di controllo: due di questi studi hanno valutato la zonisamide come farmaco aggiuntivo per il trattamento di cani affetti da epilessia idiopatica, e un solo studio ne ha valutato l'efficacia come farmaco monoterapico (Podell, et al., 2016).

In questi studi, l'efficacia complessiva della ZNS nella riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi nei cani epilettici con crisi generalizzate è stata del 58-80% quando il farmaco veniva usato come AED aggiuntivo (dove l'80% di efficacia si riferisce ai primi 4 mesi di trattamento con ZNS) e del 60% se usato come monoterapia. Nei soggetti in cui è stata registrata una riduzione della frequenza delle crisi, farmaci antiepilettici somministrati in concomitanza (tra cui PB, KBr, felbamato o clorazepato) hanno potuto essere ridotti nel dosaggio o addirittura sospesi (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Sulla base di questi risultati, è stato concluso che, al momento, non ci sono prove sufficienti per raccomandare l'uso della zonisamide come monoterapia o come AED aggiuntivo nel cane affetto da epilessia idiopatica, e che sono necessari studi più ampi (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014).

Effetti avversi

Nel cane, gli effetti avversi della zonisamide includono sedazione, vomito, atassia generalizzata e perdita di appetito. Come per l'uomo, un adattamento graduale del dosaggio al paziente può contribuire a ridurre l'incidenza e la gravità di questi effetti (Podell, et al., 2016).

È stata descritta epatotossicità in due cani in monoterapia con zonisamide, ritenuta una reazione idiosincratca al farmaco, mentre in un cane in monoterapia con zonisamide è stata descritta acidosi tubulare renale. Pertanto, la zonisamide deve essere usata con cautela nei cani con insufficienza renale o epatica (Bhatti, et al., 2015).

Infine, un altro effetto avverso descritto è stato neutropenia, con o senza concomitante anemia rigenerativa (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Alterazioni nelle analisi di laboratorio

Il trattamento con ZNS può influire sulla funzione tiroidea e sui risultati di alcuni esami clinici di laboratorio. In uno studio farmacocinetico su cani sani a cui è stata somministrata ZNS a 10,3 mg/kg PO ogni 12 ore per 8 settimane, la T4 totale media è diminuita al di sotto del normale intervallo di riferimento. La T4 libera media e il TSH, invece, anche dopo 6 mesi di trattamento sono rimasti all'interno del range di riferimento. Alla fine dello studio, inoltre, la fosfatasi alcalina e il calcio sierici risultavano aumentati, e le proteine totali e l'albumina diminuite, restando comunque all'interno dell'intervallo di riferimento (Podell, et al., 2016).

Una diminuzione piccola ma statisticamente significativa della concentrazione di albumina plasmatica e un aumento dell'attività della fosfatasi alcalina sono stati registrati in cani a cui sono stati somministrati sperimentalmente 75 mg/kg/die di zonisamide per 52 settimane (questi studi dimostrano il potenziale della ZNS come causa di epatotossicità) (Podell, et al., 2016).

Felbamato

Il felbamato è stato il primo dei farmaci antiepilettici introdotti negli anni '90 (il primo dal 1978). Si tratta di un AED dicarbammato, approvato per l'uso nell'uomo nel 1993 per il controllo delle crisi focali. La principale indicazione per il suo utilizzo è nei bambini con la sindrome di Lennox-Gastaut (LGS) che non hanno risposto agli altri AED (come clonazepam e valproato). La sindrome di Lennox-Gastaut è una forma di epilessia infantile difficile da trattare che si manifesta spesso tra il secondo e il sesto anno di vita, ed è caratterizzata da crisi frequenti e di diverso tipo; è spesso accompagnata da un ritardo nello sviluppo e da problemi psicologici e comportamentali (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nell'uomo, l'uso non autorizzato del felbamato comprende il trattamento delle crisi di assenza, dell'afasia epilettica acquisita, degli spasmi infantili e dell'epilessia mioclonica giovanile (Patsalos, Spencer, & Berry, 2018).

Nonostante l'approvazione per il suo utilizzo clinico risalga al 1993, il felbamato è diventato disponibile come farmaco generico negli Stati Uniti solo nel 2011 (Dewey, Rishniw, & Sakovitch, 2022). Attualmente, non è disponibile in tutti i paesi (Bhatti, et al., 2015).

Meccanismo d'azione

Il suo meccanismo d'azione è multiplo: include l'inibizione delle correnti di calcio intracellulare indotte dal legame della glicina con i recettori NMDA, il blocco dei canali del sodio voltaggio-dipendenti e l'inibizione delle correnti del calcio voltaggio-dipendenti (Bhatti, et al., 2015).

Farmacocinetica

Dopo la somministrazione di una dose di felbamato per via orale, la concentrazione sierica picco del farmaco, nel cane, viene raggiunta dopo 2-6 ore. Circa il 25% della dose si lega alle

proteine. Nel cane, circa il 50-76% di una dose di felbamato viene escreto nelle urine non metabolizzato e non coniugato (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il felbamato viene metabolizzato principalmente dal fegato, dunque non dovrebbe essere utilizzato nei cani con una malattia epatica preesistente (Bhatti, et al., 2015).

Viene parzialmente metabolizzato dal sistema P450, in particolare dal CYP3A4, tramite idrossilazione e coniugazione. Nel cane, presenta un'emivita di eliminazione di 4-6 ore, e ciò si traduce in una concentrazione allo stato stazionario in 20-30 ore (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

Sono state ben descritte interazioni farmacocinetiche tra felbamato e altri AED. Ad esempio, il farmaco aumenta i livelli sierici di PB in modo dose-dipendente, ed è stata notata una notevole riduzione dell'eliminazione del felbamato quando somministrato con gabapentin (Bhatti, et al., 2015). In generale, infatti, il felbamato agisce come inibitore enzimatico piuttosto che come induttore enzimatico: determina l'inibizione del CYP2C19, che comporta un aumento del 30-50% dei livelli sierici dei farmaci metabolizzati da questo enzima. Anche il diazepam risente di questa inibizione (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

La dose iniziale orale raccomandata nel cane è di 20 mg/kg TID, aumentando a 400-600 mg/die ogni 1-2 settimane nei soggetti adulti (Bhatti, et al., 2015). In base agli studi di sicurezza pubblicati, per adesso nel cane non è stata stabilita alcuna dose massima (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Gli esami ematologici e il profilo biochimico (in particolare le concentrazioni degli enzimi epatici) andrebbero eseguiti prima di iniziare la terapia con felbamato, e poi durante la terapia. Questo è particolarmente importante negli animali che ricevono anche il PB. Nell'uomo, i segni dell'anemia aplastica e di insufficienza epatica si manifestano di solito durante i primi 6-12 mesi di terapia. Dunque nel cane, in questo stesso intervallo di tempo è necessario eseguire almeno gli esami del sangue una volta al mese, da ripetere, successivamente, ogni 6-12 mesi (Bhatti, et al., 2015). Anche nel caso in cui la terapia con felbamato venga sospesa, dopo la sua interruzione è raccomandato eseguire esami ematologici (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Efficacia

Sebbene la farmacocinetica e la tollerabilità del felbamato per via orale nei cani sani siano ben consolidate, la letteratura relativa all'uso nei cani epilettici è limitata (Dewey, Rishniw, & Sakovitch, 2022).

Uno studio condotto nel 2001 su sei cani con attività epilettica focale refrattaria dovuta a un'eziologia idiopatica, ha rilevato una riduzione della frequenza delle crisi in tutti i cani dello studio, poco dopo l'inizio della terapia, o dopo l'aggiustamento della dose di felbamato (a tre cani è stato somministrato felbamato come monoterapia, mentre negli altri tre è stato aggiunto a un precedente regime di PB). Le crisi sono state completamente eliminate in due cani, e una riduzione della frequenza e della gravità delle crisi è stata registrata nei restanti quattro cani. Non è stata trovata alcuna correlazione tra i livelli sierici del farmaco e l'efficacia della terapia, e non sono stati registrati effetti avversi gravi (due cani hanno sviluppato discrasie ematiche reversibili e un cane ha sviluppato KCS) (Ruehlmann, Podell, & March, 2001).

Tuttavia, lo studio sopracitato ha dimostrato un rischio complessivo moderato/alto di *bias* (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014). Recentemente (2022), uno studio in aperto non controllato condotto su sei cani con presunta IE, che manifestavano crisi generalizzate, ha valutato l'efficacia clinica e la tollerabilità del felbamato come AED aggiuntivo somministrato per via orale (Dewey, Rishniw, & Sakovitch, 2022).

Complessivamente, i cani hanno registrato una riduzione delle crisi poco dopo l'aggiunta del farmaco, con 5 cani (83%) classificati come *responder* (riduzione $\geq 50\%$ nella frequenza delle crisi) e 3 cani (50%) che hanno raggiunto la libertà dalle crisi. I tempi medi e mediani di follow-up a lungo termine sono stati rispettivamente di 13 e 11 mesi. Quattro dei 6 cani sono rimasti farmaco-rispondenti al follow-up finale, con una riduzione media delle crisi del 98%, due dei quali sono rimasti liberi da crisi a 8 e 21 mesi. Due cani hanno registrato un aumento dell'attività convulsiva durante il follow-up a lungo termine (12 e 23 mesi), e sono stati considerati non-responder. I cani non *responder* hanno avuto una riduzione media delle crisi epilettiche a lungo termine del 33%. Nessun cane ha manifestato effetti avversi evidenti associati alla somministrazione di felbamato, anche se un cane è stato escluso dallo studio per sospetta epatotossicità indotta da felbamato (Dewey, Rishniw, & Sakovitch, 2022).

I risultati dello studio suggeriscono che il felbamato potrebbe essere un efficace farmaco aggiuntivo per i cani con presunta IE che presentano crisi generalizzate che non sono adeguatamente controllate con gli AED di prima linea, e giustificano un'indagine prospettica e

più controllata sul felbamato come agente terapeutico per l'epilessia canina (Dewey, Rishniw, & Sakovitch, 2022).

Per adesso, comunque, possiamo dire che non ci sono prove sufficienti per raccomandare l'uso del felbamato come AED aggiuntivo: questo farmaco dovrebbe essere riservato ai cani refrattari agli AED più accuratamente studiati e più sicuri in questa specie, e come tale si tratta di un'opzione di quarta o quinta linea (Bhatti, et al., 2015).

Il felbamato ha anche effetti neuroprotettivi contro l'ipossia neuronale in modelli animali (Dewey, Rishniw, & Sakovitch, 2022).

Effetti avversi

Nel 1993, il felbamato è stato commercializzato, in Medicina Umana, come AED sicuro, che non presentava effetti collaterali tossici dimostrabili e non richiedeva alcun monitoraggio tramite esami laboratorio. Tuttavia, entro un anno dalla sua immissione in commercio è apparso evidente che gli effetti collaterali erano più frequenti e più gravi di quanto previsto: il farmaco era associato a un'incidenza inaccettabile di effetti collaterali pericolosi per la vita, come anoressia, perdita di peso, vomito, cefalea, irritabilità. Inoltre, sono state riscontrate anemia aplastica ed epatotossicità fatale (Bhatti, et al., 2015).

Gli effetti avversi attribuibili all'uso clinico del felbamato nel cane non sono ben documentati, ma includono epatotossicità, discrasie ematiche reversibili e, forse, KCS. La combinazione di PB e felbamato può presentare rischio maggiore di epatotossicità rispetto ad altre combinazioni di farmaci con il felbamato (Dewey, Rishniw, & Sakovitch, 2022).

Topiramato

Il topiramato (2,3,5-Bis-O-(1-metiletilidene)- β -D-fruttopiranosio sulfamato) è un farmaco antiepilettico strutturalmente nuovo, derivato sulfamato-sostituito del monosaccaride D-fruttosio (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

In Medicina Umana, il topiramato (TPM) è stato approvato nel 1996 negli Stati Uniti come monoterapico e come farmaco aggiuntivo nel trattamento di vari tipi di epilessia, da utilizzare in caso di crisi focali, crisi generalizzate tonico-cloniche, epilessia mioclonica giovanile (JME), encefalopatie epilettiche (ad esempio, la sindrome di West, la sindrome di Dravet e la sindrome di Lennox-Gastaut), e lo stato epilettico, sia nei bambini che negli adulti. Inoltre, con

l'approfondimento della ricerca sui meccanismi dell'epilessia, il TPM ha esteso il suo spettro terapeutico anche ad altri tipi di encefalopatie epilettiche (Bai, Zeng, Jia, & Xiao, 2022).

Meccanismo d'azione

Il meccanismo preciso con cui il topiramato esercita il suo effetto antiepilettico è ancora sconosciuto. Sappiamo che il farmaco agisce aumentando la frequenza con cui il GABA attiva il proprio recettore GABA_A, e potenzia il flusso di ioni Cl⁻ all'interno del neurone, determinato dallo stesso GABA. Inoltre, provoca l'inibizione dei recettori AMPA/del kainato del glutammato, e i canali del sodio e del calcio voltaggio-dipendenti. Infine, il topiramato aumenta anche la conduttanza della membrana neuronale al potassio, e inibisce alcuni isoenzimi dell'anidraasi carbonica (attività che però non ha a che fare con le proprietà antiepilettiche del farmaco) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Farmacocinetica

Nell'uomo, il topiramato viene rapidamente assorbito, e raggiunge il picco medio di concentrazione plasmatica in circa due ore; l'assorbimento non è influenzato in alcun modo dal cibo, e la biodisponibilità orale corrisponde a circa l'80-95%. Il legame del topiramato con le proteine è minimo. Se il paziente presenta una normale funzionalità renale, il farmaco raggiunge lo stato stazionario in circa 4-8 giorni, e l'emivita di eliminazione è di 19-25 ore (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). Una volta assorbito, in buona parte il topiramato nell'uomo non viene metabolizzato: il 70-80% della dose somministrata, infatti, viene eliminata immutata nelle urine (Bhatti, et al., 2015).

Tuttavia, nell'uomo la percentuale di topiramato che viene sottoposta a metabolismo aumenta in caso di somministrazione concomitante di AED induttori enzimatici (come il PB); questi ultimi determinano anche una riduzione significativa dell'emivita del topiramato (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

La sua clearance è ridotta nei pazienti con insufficienza renale, per cui in questi casi richiede un aggiustamento del dosaggio (Bhatti, et al., 2015).

Nel cane, il topiramato presenta un'emivita di eliminazione di 2-4 ore. Anche in questa specie, il suo legame con le proteine è basso, e il farmaco non viene sottoposto a un metabolismo marcato e viene eliminato prevalentemente immutato con le urine. È presente anche una significativa escrezione biliare (Bhatti, et al., 2015).

Nel cane il topiramato non dimostra di avere alcuna attività di induttore/inibitore degli enzimi responsabili del suo metabolismo (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

Il farmaco ha un potenziale relativamente basso di interazioni clinicamente rilevanti con altri farmaci (Bhatti, et al., 2015).

Come citato precedentemente, è suscettibile alle interazioni farmacologiche che risultano nell'induzione del suo metabolismo in caso di politerapia con farmaci antiepilettici induttori enzimatici. Tuttavia, nell'uomo, quando il topiramato viene co-somministrato con il fenobarbital, le variazioni che si verificano nelle concentrazioni plasmatiche del PB o del topiramato sono limitate. A differenza del felbamato, la somministrazione del topiramato concomitante a quella del PB risulta in un effetto sinergico, sebbene i meccanismi che stanno alla base di questo non siano ancora del tutto chiari (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

Al momento non sono state pubblicate raccomandazioni per quanto riguarda il dosaggio e il monitoraggio del topiramato nel cane (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Può essere assunto con o senza cibo: è disponibile in capsule da spruzzare, che possono essere aperte e il contenuto può essere spruzzato su cibo morbido (modalità di somministrazione che può essere utile nel cane e nel gatto). La dose deve essere ridotta del 50% nei pazienti con insufficienza renale, mentre questo non è necessario in caso di insufficienza epatica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nei pazienti epilettici umani, è stato visto che le concentrazioni plasmatiche di topiramato allo stato stazionario aumentano in modo lineare, di solito, con l'aumento della dose giornaliera (sempre rimanendo all'interno dell'intervallo di dosaggio somministrato generalmente in ambito clinico). Sebbene le concentrazioni plasmatiche di topiramato siano state misurate in vari studi, nell'uomo non è stata documentata una relazione stretta tra queste e la risposta clinica. Le concentrazioni di topiramato sono generalmente più elevate nei pazienti con effetti avversi (in particolare anoressia, perdita di peso, ridotta capacità di concentrazione e ansia) rispetto a quelli che non presentano effetti avversi. Tuttavia, non ci sono prove che suggeriscano che il

monitoraggio dei livelli plasmatici di topiramato migliorerebbe i risultati clinici in termini di efficacia o sicurezza (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Efficacia

In studi sperimentali condotti su animali, il topiramato mostra proprietà antiepilettiche a spettro relativamente ampio. I modelli in cui ha dimostrato attività protettiva dalle crisi epilettiche includono il test dell'elettroshock massimale (MES) nel topo e nel ratto, il topo DBA/2 geneticamente predisposto allo sviluppo di crisi, il ratto affetto da epilessia spontanea e il ratto sottoposto a *kindling* a livello di amigdala. Nel test MES, l'effetto del topiramato è risultato comparabile a quello del PB, e più favorevole in relazione agli effetti tossici collaterali. Il topiramato è inattivo o debolmente attivo in una serie di modelli di convulsioni indotte chimicamente nei roditori, tra cui le crisi cloniche o toniche indotte dalla picrotossina, dal pentilentetrazolo (PTZ), dalla bicucullina e dalla stricnina. Nel complesso, questi dati suggeriscono che l'attività antiepilettica del topiramato sia dovuta principalmente ad un blocco della propagazione delle crisi piuttosto che a un aumento della soglia epilettogena (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Attualmente non sono disponibili dati certi sull'efficacia del topiramato nel cane (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). Uno studio clinico prospettico in aperto, non comparativo, condotto nel 2013, ha valutato l'efficacia e la sicurezza del topiramato come terapia aggiuntiva in 10 cani con epilessia idiopatica refrattaria alla terapia a base di PB, KBr e levetiracetam. I risultati dello studio hanno suggerito che il topiramato può essere efficace come farmaco aggiuntivo nel trattamento dell'epilessia idiopatica del cane, e che, fatta eccezione per sedazione e atassia (riportate in alcuni cani) si tratta di un farmaco ben tollerato (Kiviranta, Laitinen-Vapaavuori, Hielm-Björkman, & Jokinen, 2013).

Tuttavia, lo studio ha dimostrato un rischio complessivo moderato/alto di *bias*. Pertanto, attualmente non ci sono prove sufficienti per raccomandare l'uso del topiramato come AED aggiuntivo (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014).

Il TPM, inoltre, ha mostrato effetti neuroprotettivi in diversi studi preclinici, ma non è stato approvato per l'uso come neuroprotettore nella pratica clinica. Ha dimostrato effetti protettivi sulle regioni ippocampali CA1 e CA3, contrastando la neurodegenerazione indotta da *status epilepticus*, e viene riportato come agente neuroprotettivo sinaptico, in grado di prevenire i danni sinaptici nelle stesse aree dell'ippocampo, in un modello animale di crisi indotte da

ipertermia febbrile. Inoltre, nell'ippocampo isolato di ratto, il TPM ha dimostrato un'azione protettiva delle cellule ippocampali da stress ossidativo e neuroinfiammazione, in parte attraverso l'attivazione dei recettori GABA_A e l'inibizione dei recettori AMPA/del kainato (Bai, Zeng, Jia, & Xiao, 2022).

Effetti avversi

Le reazioni avverse più comuni del TPM vanno da lievi a moderate, come sonnolenza, vertigini, affaticamento, insonnia, e perdita di peso, e la maggior parte di esse è dose-dipendente. Sono stati segnalati anche rari effetti avversi che meritano attenzione, tra cui il glaucoma in pazienti con marcata miopia, calcoli renali e acidosi metabolica. La modulazione della neurotrasmissione GABAergica e l'inibizione della neurotrasmissione glutammatergica AMPA/kainato da parte del TPM, inoltre, sono state associate a effetti collaterali di tipo psichiatrico e comportamentale, soprattutto in pazienti con una storia nota di disturbi psichiatrici: il farmaco può indurre disturbi psichiatrici, tra cui depressione, ansia o aggressività, nonché disturbi cognitivi, come disturbi del linguaggio (Bai, Zeng, Jia, & Xiao, 2022).

Come risultato dell'inibizione dell'anidrasi carbonica, il TPM può causare acidosi metabolica, pH urinario elevato, riduzione del citrato urinario e ipercalciuria; l'acidosi metabolica, se non trattata, induce acidosi tubulare renale, e può aumentare il rischio di nefrolitiasi. Un aggiustamento della dose risulta necessario in pazienti con compromissione renale (Bai, Zeng, Jia, & Xiao, 2022).

Nell'uomo, dunque, si consiglia di sottoporre i pazienti a una valutazione del rischio di reazioni avverse prima di intraprendere la terapia con topiramato, e iniziare il trattamento con una dose bassa di farmaco, da aumentare gradualmente (Bai, Zeng, Jia, & Xiao, 2022).

Non sono state segnalate reazioni avverse in cani Beagle sani a cui sono state somministrate dosi orali giornaliere di topiramato di 10-150 mg/kg per 15 giorni (Bhatti, et al., 2015).

La somministrazione per 3 e 12 mesi non è stata associata a tossicità evidente. Tuttavia, i cani trattati con dosi fino a 400 mg/kg hanno manifestato atassia, diminuzione dell'attività motoria, tremori e convulsioni cloniche (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Gabapentin

Il gabapentin (GBP), acido 2-[1-(amminometil)cicloesil]acetico, è strutturalmente simile al pregabalin. È stato sviluppato, in origine, come analogo chimico del GABA per attenuare i riflessi spinali polisinnaptici per il trattamento della spasticità muscolare. Sebbene gli effetti antispastici di questo farmaco apparissero modesti, in una serie di modelli sperimentali di crisi epilettiche è stata scoperta la sua attività antiepilettica. Successivamente, si è rivelato efficace anche nel trattamento del dolore neuropatico e post-operatorio (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nell'uomo, il gabapentin è approvato dal 1993, sia in Europa che negli Stati Uniti, come trattamento aggiuntivo delle crisi epilettiche focali con o senza generalizzazione secondaria, e per il trattamento della nevralgia post-erpetica (Bhatti, et al., 2015).

È stato usato nei cani come AED aggiuntivo e per il trattamento del dolore neuropatico e post-operatorio. Le informazioni su tollerabilità, sicurezza ed efficacia clinica del GBP nel cane, però, sono limitate (la stessa cosa vale per il pregabalin). La formulazione liquida di gabapentin disponibile in commercio negli Stati Uniti contiene xilitolo, che può essere tossico, dunque è preferibile l'utilizzo di compresse o capsule (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Meccanismo d'azione

Il preciso meccanismo d'azione del GBP non è chiaro. Si ritiene che gran parte del suo effetto antiepilettico sia dovuto al suo legame con una specifica proteina modulatrice dei canali del calcio voltaggio-dipendenti, che determina una diminuzione del rilascio di neurotrasmettitori eccitatori (Bhatti, et al., 2015).

Sebbene sia un analogo strutturale del GABA, non si lega ai recettori GABA_A o GABA_B, non viene metabolizzato in GABA o in un agonista del GABA e non inibisce la captazione o la degradazione del GABA (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Farmacocinetica

Il metabolismo e la farmacocinetica del GBP sono stati valutati in molte specie. Si tratta di un farmaco che viene ben assorbito in seguito a somministrazione orale, con un picco plasmatico raggiunto nel giro di 1-3 ore. Il cibo non influenza in alcun modo il suo assorbimento. Nel cane, le concentrazioni plasmatiche massime di GBP aumentano proporzionalmente alla dose

somministrata, per dosi comprese tra 10 e 50 mg/kg (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il farmaco attraversa prontamente la barriera emato-encefalica, e a 1, 2, 4 e 8 ore dalla somministrazione, le concentrazioni di GBP nel cervello del cane sono simili, anche se leggermente inferiori a quelle presenti nel sangue. Il legame del GBP con le proteine plasmatiche è < 3%, e il farmaco non presenta attività di induttore enzimatico nei confronti del CYP microsomiale epatico (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). Nel cane, dopo un parziale metabolismo epatico, il gabapentin viene escreto per via renale. L'emivita di eliminazione è di 3-4 ore (Bhatti, et al., 2015).

Interazioni farmacocinetiche

Sebbene le informazioni in Medicina Veterinaria siano limitate, è improbabile che si verifichino interazioni farmacocinetiche tra il gabapentin e altri farmaci eventualmente co-somministrati, in quanto il farmaco presenta un legame proteico trascurabile e non presenta attività di induzione degli enzimi epatici della famiglia del citocromo P450. In Medicina Umana si riporta che in caso di co-somministrazione del gabapentin con il felbamato è possibile una riduzione dell'eliminazione di quest'ultimo (Bhatti, et al., 2015). È stato suggerito che la ridotta eliminazione del felbamato sia dovuta alla competizione attiva con il GBP per l'escrezione renale (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

Sulla base dei risultati degli studi di farmacologia attualmente disponibili e della concentrazione sierica target nell'uomo, la dose di GBP raccomandata per la somministrazione orale nel cane è 10-20 mg/kg ogni 6-8 ore (è possibile iniziare il trattamento con una dose inferiore, da aumentare, eventualmente, in base alla risposta clinica del paziente e agli effetti avversi) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). Può essere necessaria una riduzione della dose nei pazienti con ridotta funzionalità renale (Bhatti, et al., 2015).

L'intervallo di concentrazioni sieriche o plasmatiche di GBP associato al controllo delle crisi nel cane è ancora sconosciuto (nell'uomo, il controllo delle crisi richiede, di solito, una concentrazione sierica o plasmatica superiore a 2 µg/ml) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'obiettivo principale del monitoraggio della concentrazione sierica di GBP è individuare il dosaggio e l'intervallo di somministrazione raccomandabili per lo specifico paziente. Come per altri AED caratterizzati da un'emivita breve, per l'interpretazione della concentrazione del farmaco è importante mettere in relazione il momento in cui viene effettuato il prelievo con quello in cui viene somministrata la dose di GBP. Si raccomanda di raccogliere un campione di sangue appena prima della somministrazione del farmaco, per valutare la concentrazione più bassa di questo, e per standardizzare il momento del prelievo rispetto al momento in cui viene somministrato il GBP (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Efficacia

Nell'uomo, il GBP è considerato efficace come farmaco aggiuntivo e come monoterapia per le crisi focali (anche se il pregabalin e altri AED sembrano essere più efficaci). Il GBP non è autorizzato, però, per il trattamento delle crisi generalizzate, per cui le informazioni sulla sua efficacia rispetto a questo tipo di crisi sono limitate (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Ad oggi, non ci sono studi relativi all'efficacia del GBP come farmaco monoterapico nei cani affetti da epilessia (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Esistono soltanto due studi clinici prospettici sull'uso di gabapentin come farmaco aggiuntivo per il trattamento dell'epilessia refrattaria nel cane. Nel primo studio, per 6 cani su 11 è stata descritta una risposta positiva al trattamento (riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi) in seguito all'aggiunta di gabapentin (somministrato per via orale a un dosaggio di 10 mg/kg ogni 8 ore). Il secondo studio pubblicato ha valutato in 17 cani il trattamento aggiuntivo con gabapentin, somministrato per via orale alla dose di 35-50 mg/kg/die, suddivisa in varie somministrazioni ogni 8-12 ore; non è stata riscontrata una diminuzione significativa della frequenza delle crisi per l'intera popolazione dello studio, sebbene siano stati descritti tre cani che sono diventati liberi da crisi. Gli effetti collaterali in entrambi i report sono stati considerati lievi, e includevano sedazione e atassia (Muñana K. R., Management of Refractory Epilepsy, 2013).

Uno di questi studi ha dimostrato un rischio complessivo di *bias* moderato/alto, mentre l'altro ha dimostrato un rischio complessivo di *bias* elevato. Di conseguenza, attualmente le prove sono complessivamente insufficienti per raccomandare l'uso del gabapentin come AED nel cane (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014).

Effetti avversi

Gli effetti avversi più comuni nell'uomo comprendono capogiro, sonnolenza e affaticamento. Tali effetti sembrano essere dose-dipendenti, e si risolvono entro le prime settimane di trattamento (Bhatti, et al., 2015).

Nel cane, in due studi che hanno valutato l'efficacia del GBP come trattamento antiepilettico aggiuntivo al PB e/o al KBr sono state riportate sedazione e atassia in circa il 55% dei cani inclusi; tuttavia, è possibile che queste siano state causate da PB e KBr, e che la somministrazione concomitante di GBP abbia semplicemente esacerbato tali effetti avversi (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Sia nell'uomo che nel cane, non sono state identificate reazioni idiosincratice gravi o tossicità d'organo (Bhatti, et al., 2015).

Pregabalin

Il pregabalin (PGB), acido (S)-3-(amminometil)-5-metilesanoico, è un analogo del GABA strutturalmente simile al GBP (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

In Europa è stato approvato nel 2004, nell'uomo, per il trattamento di adulti affetti da dolore neuropatico periferico, e come trattamento aggiuntivo per gli adulti affetti da crisi epilettiche focali con o senza generalizzazione secondaria (Bhatti, et al., 2015).

Successive approvazioni sono state concesse, in Europa, per il trattamento del dolore neuropatico centrale e dei disturbi d'ansia generalizzati. Nel 2005 la FDA ha approvato il PGB per il trattamento del dolore neuropatico e come trattamento aggiuntivo, negli adulti, per crisi epilettiche focali, e, nel 2007, come farmaco per la gestione della fibromialgia (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Esistono dati limitati riguardo l'uso del PGB nel cane; ad ogni modo questo farmaco sembra essere più potente ed efficace del GBP (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Meccanismo d'azione

Il pregabalin è un analogo del GABA, strutturalmente simile al gabapentin, con il quale condivide il meccanismo d'azione principale; è tuttavia più potente del gabapentin, grazie a una maggiore affinità per i suoi recettori (Bhatti, et al., 2015).

Farmacocinetica

Alcuni studi farmacocinetici condotti nel cane hanno dimostrato per il pregabalin un'emivita di eliminazione di circa 7 ore (Bhatti, et al., 2015).

Nell'uomo, il farmaco viene assorbito rapidamente dopo somministrazione per via orale, con una biodisponibilità del 90%, indipendentemente dalla dose, e la co-somministrazione di cibo diminuisce la velocità ma non l'entità del suo assorbimento. All'interno dell'intervallo di dosaggi clinicamente utilizzati, le concentrazioni sieriche di PGB variano in modo lineare con la dose somministrata. Il T_{max} è di circa un'ora, e lo stato stazionario viene raggiunto entro 24-48 ore (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il farmaco non si lega alle proteine plasmatiche né viene metabolizzato; viene eliminato interamente per via renale con un'emivita di eliminazione di 5-7 ore negli adulti con funzione renale normale (Patsalos, Spencer, & Berry, 2018).

Quanto all'utilizzo del farmaco nel cane, sono necessari ulteriori studi per comprendere il metabolismo del PGB e la sua farmacocinetica nell'ambito di un regime di somministrazioni ripetute (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

Nel cane, ad oggi, non ci sono informazioni disponibili su eventuali interazioni farmacocinetiche del PGB. Come per il GBP, il potenziale di interazione farmacocinetica del PGB è molto basso in ragione dell'assenza del legame del farmaco con le proteine e della mancata attività di questo come induttore/inibitore degli enzimi epatici (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Anche nell'uomo, fino ad ora, non sono state identificate interazioni farmacocinetiche clinicamente rilevanti (Bhatti, et al., 2015). Fa eccezione, nell'uomo, una lieve diminuzione delle concentrazioni di PGB in seguito a co-somministrazione del farmaco con AED induttori enzimatici (quali carbamazepina, oxcarbazepina e fenitoina). Invece, la co-somministrazione di PGB non sembra alterare le concentrazioni plasmatiche allo stato stazionario di fenobarbital, topiramato, carbamazepina, lamotrigina, fenitoina, tiagabina e valproato (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

Sulla base dei dati farmacocinetici provenienti da uno studio condotto su cani sani, e in base al presunto intervallo di 2,8-8,2 µg/ml raccomandato nell'uomo per la concentrazione plasmatica di PGB, la dose raccomandata per la somministrazione orale nel cane è di 3-4 mg/kg ogni 8-12 ore (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Per ridurre al minimo gli eventuali effetti avversi, è consigliabile iniziare il trattamento con una dose di 2 mg/kg da due a tre volte al giorno, da aumentare di 1 mg/kg ogni settimana fino al raggiungimento della dose finale. Poiché la clearance del pregabalin è strettamente correlata alla funzionalità renale, è necessario ridurre la dose nei pazienti con funzionalità renale ridotta (Bhatti, et al., 2015).

Non è stato ancora individuato un intervallo di riferimento per le concentrazioni sieriche di PGB associate al controllo delle crisi epilettiche nel cane. Come nel caso del GBP, se si esegue il monitoraggio della concentrazione sierica di PGB, si consiglia di raccogliere il campione appena prima della somministrazione del farmaco, in modo da valutare la concentrazione più bassa di questo, e standardizzare il momento del prelievo in relazione alla dose (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Efficacia

Le attività anticonvulsivanti, analgesiche e ansiolitiche del PGB sono state dimostrate in vari modelli animali, nonché in studi clinici su esseri umani con crisi epilettiche focali, dolore neuropatico e disturbo d'ansia generalizzato (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Esistono dati limitati sull'uso del pregabalin nel cane: uno studio clinico (in aperto, non comparativo) condotto nel 2009 ha valutato la tollerabilità e l'efficacia a breve termine della somministrazione orale di pregabalin come farmaco di aggiunta alla terapia antiepilettica a base di PB e/o KBr in 11 cani affetti da IE non adeguatamente controllata dagli AED già in uso. Le crisi epilettiche sono risultate significativamente ridotte dopo la somministrazione di pregabalin nei 9 cani che hanno completato lo studio, e gli effetti avversi sono stati lievi (Dewey, et al., 2009). Questo studio ha dimostrato, tuttavia, un rischio di *bias* complessivamente moderato/alto (Charalambous, Brodbelt, & Volk, Treatment in canine epilepsy - a systematic review, 2014). Nel 2022 uno studio clinico prospettico in aperto ha confrontato due strategie di trattamento in 26 cani con IE resistente ai farmaci: la prima strategia di trattamento consisteva nella terapia aggiuntiva con PGB *per os* a un dosaggio di 4 mg/kg ogni 12 ore (BID), e la seconda consisteva

in un aumento del 30% della dose di LEV come farmaco aggiuntivo, somministrato ogni 8 ore (TID). La popolazione dello studio era costituita da cani (età media 5,5 anni) con epilessia idiopatica e frequenti crisi mensili (una media di 4 crisi al mese) nonostante il trattamento adeguato con AED autorizzati, e tutti i cani avevano una storia di crisi a grappolo. La strategia a base di PGB è stata introdotta in 14 dei 26 cani, quella a base di LEV è stata riservata ai restanti 12. L'aumento della dose nel trattamento aggiuntivo LEV è stato scelto in quanto le linee guida di consenso IVETF e ACVIM consigliano di aumentare il dosaggio o l'intervallo di applicazione del LEV in caso di fallimento del trattamento con PB (Kriechbaumer, et al., 2022). I tassi di successo complessivo sono stati bassi con entrambe le strategie in questa popolazione di cani resistente ai farmaci: il prolungamento dell'intervallo interictale di tre volte rispetto a quello precedente lo studio e un periodo libero da crisi ≥ 3 mesi (utilizzati come criteri di esito terapeutico positivo) si sono verificati solo nel 14,3% (due cani) e nell'8,7% (un cane) nei gruppi PGB e LEV, rispettivamente. Il successo del trattamento è durato 6, 10 (PGB) e 8 mesi (LEV) in questi cani: in seguito, le crisi mensili si sono ripresentate (il trattamento con gli altri AED non è stato modificato) (Kriechbaumer, et al., 2022).

L'insorgenza di crisi epilettiche focali è stata sospettata nel 46,2% dei cani dello studio (12/26 cani: sei nel gruppo PGB e sei nel gruppo LEV) ed è stato il tipo di crisi predominante nel 26,9% (7/26 cani: quattro nel gruppo PGB e tre nel gruppo LEV). I due cani con successo di trattamento nel gruppo PGB avevano sospette crisi ad insorgenza focale (Kriechbaumer, et al., 2022).

In conclusione, non ci sono attualmente prove sufficienti per raccomandare l'uso del pregabalin come farmaco antiepilettico nel cane (Bhatti, et al., 2015).

Effetti avversi

Gli effetti avversi più comunemente riportati nell'uomo sono correlati alla dose, e comprendono vertigini, sonnolenza e atassia (Bhatti, et al., 2015). Tali effetti sono il motivo più frequente di interruzione del trattamento, in Medicina Umana. Altri effetti avversi includono cefalea, secchezza delle fauci, edema periferico, visione offuscata e aumento di peso proporzionale alla dose (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Gli effetti avversi più comuni registrati nel cane nello studio di Dewey e colleghi del 2009 comprendevano sedazione, atassia e debolezza (Bhatti, et al., 2015).

Primidone

Negli Stati Uniti, il primidone è l'unico farmaco antiepilettico approvato specificamente per il trattamento dell'epilessia nel cane (come citato in precedenza, in Europa sono approvati il fenobarbital, l'imepitoina e, come farmaco aggiuntivo, il bromuro di potassio) (Podell, et al., 2016).

In Medicina Umana, il primidone è autorizzato sia come monoterapico che come farmaco aggiuntivo nel trattamento delle crisi generalizzate tonico-cloniche e delle crisi psicomotorie e focali in adulti e bambini. È inoltre approvato per la gestione di crisi Jacksoniane, scatti mioclonici e attacchi acinetici, e per il trattamento del tremore essenziale (Patsalos, Spencer, & Berry, 2018).

Farmacocinetica

Il primidone somministrato per via orale viene rapidamente metabolizzato nel suo principale metabolita attivo, il fenobarbital: studi sperimentali condotti nel cane hanno dimostrato che il fenobarbital è responsabile di oltre l'85% dell'attività antiepilettica nel corso di trattamento continuativo con primidone (Podell, et al., 2016).

Efficacia

In uno studio clinico prospettico randomizzato, in cui sono state confrontate l'efficacia del fenobarbital e del primidone nel trattamento dell'epilessia canina, 35 cani con crisi epilettiche generalizzate tonico-cloniche sono stati trattati per almeno 6 mesi con uno dei due farmaci. Il 40% dei cani è diventato libero da crisi durante il trattamento con il fenobarbital, mentre solo il 25% con il primidone. Inoltre, il primidone ha dimostrato di essere meno tollerato rispetto al PB (Podell, et al., 2016).

Un confronto retrospettivo tra fenobarbital e primidone in 70 cani epilettici di nuova diagnosi, con cause diverse di epilessia, in cui gli animali erano stati trattati per almeno 3 mesi, ha evidenziato che solo il 20% dei cani trattati con fenobarbital è diventato libero da crisi, rispetto al 15% di quelli trattati con primidone. Inoltre, il passaggio dei cani resistenti al fenobarbital alla terapia a base di primidone non ha portato ad alcun miglioramento nel controllo delle crisi: ciò dimostra che non c'è alcun vantaggio nell'utilizzo del primidone rispetto al fenobarbital per il controllo delle crisi nella maggior parte dei cani (Podell, et al., 2016).

Poiché il primidone non presenta alcun vantaggio in termini di efficacia rispetto al fenobarbital, ma è associato a un potenziale di rischio più elevato (soprattutto per quanto riguarda l'epatotossicità), non dovrebbe essere utilizzato come secondo farmaco antiepilettico o come farmaco alternativo nei cani in cui la monoterapia con fenobarbital, imepitoina o altri farmaci di prima linea ha fallito. Nei cani epilettici che non rispondevano alla monoterapia con primidone, è stato aggiunto il bromuro di potassio, che ha determinato, tuttavia, un successo terapeutico limitato (Podell, et al., 2016).

Monitoraggio

Come citato in precedenza, il fenobarbital, metabolita attivo del primidone, è responsabile dell'85% dell'effetto anticonvulsivante ottenuto durante il trattamento con primidone. Pertanto, il trattamento con primidone può essere monitorato in base alle concentrazioni plasmatiche di fenobarbital. L'intervallo di concentrazione plasmatica terapeutica del fenobarbital nei cani trattati con fenobarbital o primidone è lo stesso (Podell, et al., 2016).

Effetti avversi

Il trattamento con primidone è associato a effetti avversi dose-dipendenti e a reazioni idiosincratice simili a quelli documentati per il trattamento con fenobarbital. L'aumento dell'attività enzimatica epatica è più frequente e grave con il primidone che con il fenobarbital; ciò può essere spiegato ipotizzando che sia il primidone intatto che il suo metabolita attivo fenobarbital agiscano sul fegato. Di conseguenza, il primidone è associato a una frequenza più elevata di epatotossicità rispetto al fenobarbital: necrosi epatica, fibrosi e cirrosi sono tutte condizioni che sono state associate alla somministrazione cronica di primidone. In ragione di ciò, nel cane i dosaggi degli enzimi epatici e i test di funzionalità epatica dovrebbero essere eseguiti ogni 3-6 mesi per monitorare eventuale tossicità (Podell, et al., 2016).

Non sono stati riportati effetti cancerogeni o teratogeni associati al trattamento con primidone nel cane (Podell, et al., 2016).

Lacosamide

La lacosamide (LCM), enantiomero R della 2-acetamide-N-benzil-3-metossipropionamide, è un aminoacido funzionalizzato, ed è un farmaco antiepilettico di terza generazione. In Medicina Umana, è stata inizialmente approvata nel 2008 come farmaco aggiuntivo nel trattamento delle crisi a esordio parziale, con o senza generalizzazione secondaria. Successivamente, nel 2014 e nel 2016, è stata approvata dalla FDA (Food and Drug Administration) e dall'EMA (Agenzia Europea per i Medicinali) come monoterapia nelle crisi a esordio parziale, in adulti, adolescenti e bambini di età superiore ai 4 anni. Recentemente, la lacosamide è stata approvata dalla FDA, dall'EMA e dalla *Pharmaceutical and Medical Devices Agency* come trattamento aggiuntivo per le crisi tonico-cloniche generalizzate non controllate in pazienti a partire dai 4 anni di età con epilessia idiopatica (Carona, et al., 2021).

In commercio esistono tre formulazioni di LCM: compresse, sciroppo e una formulazione iniettabile EV (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nell'uomo, la lacosamide è inoltre consigliata come farmaco di seconda scelta in caso di *status epilepticus*, in quei casi in cui la terapia di prima scelta (come il midazolam IM, il lorazepam in EV o il diazepam EV) risulta inefficace, e le crisi persistono per almeno 20 minuti. Inoltre, negli ultimi anni sono stati condotti vari studi in Medicina Umana, per valutare l'efficacia e la tollerabilità della LCM in patologie diverse dall'epilessia, tra cui, ad esempio, il dolore neuropatico, l'osteoartrite, il dolore acuto post-operatorio, la neuropatia diabetica distale dolorosa, e l'emicrania (Carona, et al., 2021).

Meccanismo d'azione

Nei test di laboratorio, è stato visto che la LCM è in grado di ridurre la frequenza di attivazione neuronale e l'eccitabilità sinaptica. Dato che tale attività non è dovuta al coinvolgimento dei principali recettori post-sinaptici eccitatori o inibitori (AMPA/NMDA/GABA), il preciso meccanismo d'azione del farmaco inizialmente risultava sconosciuto (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Soltanto recentemente, sono stati scoperti due meccanismi d'azione con cui, molto probabilmente, la lacosamide esplica la propria attività anticonvulsivante:

1. Aumento selettivo dell'inattivazione lenta dei canali del sodio voltaggio-dipendenti, con stabilizzazione delle membrane neuronali che tendono all'ipereccitabilità, e inibizione conseguente dell'attivazione di questi neuroni (Carona, et al., 2021).

I canali del sodio subiscono, infatti, sia un'inattivazione lenta che un'inattivazione veloce. I modulatori classici dei canali del sodio aumentano in modo selettivo l'inattivazione veloce di questi. Dato che l'inattivazione lenta dei canali del sodio rappresenta un meccanismo endogeno grazie al quale i neuroni riducono l'iperattività ectopica, questo tipo di attività, da parte della LCM, rappresenta un meccanismo efficace per ridurre in modo selettivo l'iperattività patologica, lasciando intatta l'attività fisiologica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

2. Nonostante i risultati contraddittori, è stato suggerito che la lacosamide moduli l'espressione della proteina mediatrice della risposta alla collapsina 2 (CRMP2) e della CRMP2 fosforilata, anche se non è stato dimostrato un legame diretto (Carona, et al., 2021).

La famiglia di proteine CRMP è coinvolta nei processi di sviluppo del SN (infatti la maggior parte delle cinque proteine CRMP vengono espresse ampiamente durante le prime fasi dello sviluppo, e principalmente a livello di SNC) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014). La proteina citosolica CRMP2 è altamente espressa nel SN in via di sviluppo, e media la polarità neuronale e la crescita assonale, promuovendo la crescita dei neuriti (Carona, et al., 2021). La funzione di CRMP2 nel promuovere la crescita dei neuriti è determinata principalmente dalla sua fosforilazione, che può essere regolata da varie chinasi (Wang, Yang, Rui, Shao, & Meng, 2018).

Questi processi mediati dalla CRMP2 sono indotti da fattori neurotrofici quali il fattore neurotrofico di derivazione cerebrale (BDNF) o la neurotrofina-3 (NT-3). La LCM sembra attenuare gli effetti dei fattori neurotrofici sulla crescita degli assoni. Gli studi in corso hanno come obiettivo quello di dimostrare che la LCM può interferire con questi processi indotti dalla NT, attenuando, potenzialmente, lo sviluppo e/o la progressione dell'epilessia e/o del dolore neuropatico (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'interazione tra lacosamide e CRMP2 sembra diminuire la perdita di neuroni dell'ippocampo e inibire la germinazione delle fibre muschiose a questo livello, probabilmente attraverso la soppressione della fosforilazione della CRMP2. Una massiccia germinazione (*sprouting*) delle fibre muschiose dell'ippocampo è spesso osservata, infatti, nei pazienti con epilessia del lobo temporale, e viene definita come la crescita degli assoni delle cellule granulari nel proprio campo dendritico nello strato molecolare interno del giro dentato, con la formazione di circuiti eccitatori ricorrenti *de novo*. Questi nuovi circuiti rappresentano un interessante bersaglio terapeutico per il

trattamento dell'epilettogenesi, anche se questa teoria è ancora agli albori (Carona, et al., 2021).

Rogawski e colleghi hanno esaminato il meccanismo d'azione della lacosamide, inclusa la sua interazione con CRMP2, e hanno concluso che anche se non c'è evidenza di un legame diretto, non si può escludere un'interazione funzionale indiretta (Carona, et al., 2021).

In un recente studio condotto su un modello di topo con TLE (epilessia del lobo temporale) indotta da pilocarpina, gli autori hanno cercato di definire il ruolo della neurogenesi aberrante nell'epilessia e nella funzione cognitiva associata: le convulsioni acute dopo un grave insulto cerebrale, infatti, possono spesso portare ad epilessia e deterioramento cognitivo. La neurogenesi aberrante dell'ippocampo segue l'insulto, ma resta da determinare il ruolo dei neuroni generati dagli adulti nello sviluppo di convulsioni croniche o deficit cognitivi associati (Cho, et al., 2015).

Utilizzando un approccio genetico per sopprimere la neurogenesi adulta, gli autori hanno dimostrato che l'ablazione della neurogenesi prima delle crisi acute riduce la frequenza delle crisi croniche, ma non impedisce completamente lo sviluppo dell'epilessia. Anche con l'ablazione quasi completa della neurogenesi pre- e post-crisi acute, ci sono ancora convulsioni ricorrenti che suggeriscono che la neurogenesi dell'adulto contribuisce all'epilessia (ma non è strettamente necessaria). Questi risultati evidenziano il ruolo principale della neurogenesi dell'adulto nella TLE e nel declino cognitivo associato. Questi risultati supportano anche l'idea che la neurogenesi adulta sia uno dei tanti fattori che contribuiscono alla TLE (Cho, et al., 2015).

Un altro studio recente ha dimostrato che la CRMP-2 risulta deregolata in campioni di cervello umano provenienti da pazienti affetti da epilessia resistenti al trattamento, ma non in quelli del gruppo di controllo; ciò rende questa ipotesi ancora più plausibile (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Ulteriori esperimenti condotti *in vitro* suggeriscono che la CRMP-2 è coinvolta nella protezione dei neuroni dall'eccitotossicità e dall'apoptosi: la LCM ha dimostrato forti effetti neuroprotettivi e anti-apoptotici in risposta all'eccitotossicità indotta dal glutammato in sezioni di ippocampo. Inoltre, gli effetti neuroprotettivi della LCM sono stati osservati anche in modelli animali *in vivo*, in seguito, ad esempio, a *status epilepticus* (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

La varietà di meccanismi d'azione della lacosamide può spiegare il suo successo come trattamento alternativo per altre patologie, studiato in fase clinica e pre-clinica. Ad esempio, in studi preclinici condotti in un modello murino indotto di sclerosi multipla (encefalomielite autoimmune sperimentale), l'inibizione della fosforilazione di CRMP2 a livello di treonina 555 ha permesso la prevenzione della degenerazione assonale. In un modello murino di sclerosi laterale amiotrofica, la soppressione genetica della fosforilazione di CRMP2 a livello di serina 522 ha ritardato il peggioramento dei sintomi motori (Carona, et al., 2021).

La lacosamide sembra bloccare la fosforilazione di CRMP2 anche nel dolore cronico, che è caratterizzato da un aumento della funzione dei canali Ca^{2+} e Na^{+} voltaggio-dipendenti. Questo porta a una diminuzione dell'afflusso di Ca^{2+} nei neuroni sensoriali e a una minore espressione superficiale dei canali Na^{+} nei neuroni dei gangli spinali del ratto e dell'uomo (Carona, et al., 2021).

Più recentemente, è stato dimostrato che la lacosamide è in grado anche di attenuare il fenomeno del *rundown* del GABA in pazienti epilettici resistenti ai farmaci. In particolare, la LCM, a concentrazioni non efficaci quando viene somministrata da sola, è in grado di agire in sinergia con dosi molto basse di LEV, migliorando la trasmissione GABAergica. Questo nuovo meccanismo potrebbe contribuire a spiegare l'efficacia clinica della combinazione LCM-LEV in diversi pazienti epilettici refrattari (Ruffolo, et al., 2018).

Farmacocinetica

Nell'uomo, la LCM viene assorbita rapidamente e quasi completamente dal tratto gastrointestinale, con una biodisponibilità orale di circa il 100%: viene assorbita entro 4 ore dalla somministrazione, e il cibo non influisce affatto sulla sua biodisponibilità. In seguito a somministrazione per via orale o EV, circa il 40% del farmaco viene escreto immutato attraverso i reni, con meno dello 0,5% eliminato immutato con le feci. La lacosamide viene metabolizzata anche grazie agli enzimi del citocromo P450, in particolare alle isoforme CYP2C19, CYP2C9 e CYP3A4. Il suo principale metabolita non è attivo, e viene eliminato dal rene (Carona, et al., 2021).

L'emivita della LCM è di circa 13 ore, e il farmaco richiede 3 giorni di somministrazioni ripetute due volte al giorno per raggiungere lo stato stazionario. Circa 7 giorni dopo la somministrazione, la lacosamide viene quasi interamente escreta, a conferma del fatto che non si accumula nei tessuti, né lo fanno i suoi metaboliti. Il legame con le proteine è minimo (meno

del 15%), e le concentrazioni plasmatiche sono lineari e proporzionali alla dose (Carona, et al., 2021).

Le concentrazioni terapeutiche di LCM non sono state stabilite né per l'uomo né per il cane, e il monitoraggio dei livelli del farmaco non è necessario. Sia una moderata compromissione epatica che una moderata compromissione renale hanno dimostrato di aumentare l'esposizione sistemica al farmaco fino a circa il 40%, dunque l'aggiustamento del dosaggio andrebbe fatto con cautela in questo tipo di pazienti. In cani incroci di segugi, quando somministrata a un dosaggio di 3 mg/kg per via orale, la lacosamide dimostra un T_{max} di $2,33 \pm 1,44$ ore, con una C_{max} di $8,06 \pm 5,46$ mg/ml. L'area sotto la curva, che rappresenta la quantità totale di esposizione del farmaco nel siero nel corso del tempo, è stata di $43,4 \pm 29,1$ mg/h/ml (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

La LCM presenta un profilo di interazione favorevole con i farmaci antiepilettici attualmente prescritti e con altri farmaci di uso comune. Uno studio clinico di farmacocinetica condotto su soggetti umani sani ha dimostrato che la somministrazione concomitante di LCM con AED comunemente prescritti non influisce in modo significativo sulla velocità e sull'entità dell'assorbimento della LCM o dei farmaci antiepilettici. La LCM, inoltre, non ha dimostrato alcuna influenza sulle concentrazioni plasmatiche di farmaci antiepilettici concomitanti, tra cui gabapentin, topiramato, levetiracetam e fenobarbital, in pazienti umani con crisi focali con o senza generalizzazione secondaria. Negli studi di farmacocinetica di popolazione, però, è stato visto che il livello ematico di LCM può diminuire del 15-20% in caso di co-somministrazione di farmaci antiepilettici con attività di induttori enzimatici (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Ai livelli terapeutici, non è stata identificata, ad oggi, alcuna interazione tra LCM e cibo, o tra LCM e altri farmaci presenti in commercio che dipendono dal CYP2C19 o dal legame con le proteine plasmatiche (come l'omeprazolo) (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

In Medicina Umana, la dose raccomandata per l'utilizzo della lacosamide come farmaco aggiuntivo in caso di crisi focali corrisponde a dosi giornaliere totali di 200-400 mg, sebbene la dose di 600 mg si sia rivelata la più efficace negli studi clinici. Tuttavia, i pazienti che

assumono da 400 a 600 mg al giorno presentano effetti avversi più frequenti rispetto a quelli trattati con dosi inferiori (Carona, et al., 2021).

La letteratura attuale indica che la LCM dovrebbe essere somministrata con cautela nei pazienti umani che presentano gravi patologie cardiache, e in coloro cui vengono somministrati anche farmaci noti per indurre il prolungamento dell'intervallo PR: i soggetti con anomalie cardiache sottostanti, infatti, devono essere sottoposti a un ECG prima di iniziare il trattamento con lacosamide, e dopo che il farmaco ha raggiunto lo stato stazionario. La lacosamide, inoltre, andrebbe ridotta molto lentamente, prima di essere sospesa, al fine di minimizzare la sua capacità di indurre, in questi casi, un aumento nella frequenza delle crisi (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nell'uomo, è stato stabilito un intervallo sierico di riferimento di 3-14 mg/l. Quanto al dosaggio raccomandato nel cane, al momento non sono ancora state pubblicate raccomandazioni a riguardo, anche se è probabile che il farmaco, in ragione della sua emivita, richieda una somministrazione tre volte al giorno (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Efficacia

Quando viene studiata in vari modelli animali di epilessia, la LCM dimostra un effetto antiepilettico simile a quello di molti dei più recenti AED. È efficace nel modello di elettroshock massimale (MES), e dimostra di agire innalzando la soglia epilettogena in caso di convulsioni indotte da PTZ (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Per comprendere se la LCM sia in grado di influire oppure no sull'epilettogenesi indotta da *kindling*, è stato utilizzato un modello di convulsioni da *kindling*: i ratti sono stati trattati con dosi diverse di LCM (3, 10 o 30 mg/kg/die) per 22-23 giorni durante il periodo in cui l'amigdala veniva sottoposta a *kindling*. La somministrazione giornaliera di LCM durante il *kindling* ha prodotto un effetto dose-dipendente sullo sviluppo dello stesso *kindling*: sebbene il farmaco fosse inattivo a 3 mg/kg/die, è stato osservato un significativo ritardo del *kindling* con 10 mg/kg/die, con il quale il numero medio di stimolazioni per raggiungere i criteri di *kindling* è aumentato di più del 90%. Questi dati dimostrano che la LCM, oltre ad esercitare un'attività anticonvulsivante, è in grado, potenzialmente, di ritardare l'epilettogenesi indotta dal *kindling* (Brandt, Heile, Potschka, Stohr, & Löscher, 2006).

La LCM, inoltre, riduce lo stato epilettico autosostenuto (SSSE) nei ratti, inibisce le crisi epilettiche indotte dall'NMDA nei topi, ed è in grado, *in vitro*, di bloccare completamente le crisi epilettiche indotte dalla 4-aminopiridina (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy,

2014). La frequenza degli spike e il tempo cumulativo trascorso nelle crisi risultano significativamente diminuiti: per 12 ore dopo l'induzione di SSSE sono stati registrati solo picchi isolati (Wasterlain, Stöhr, & Matagne, 2011).

Nel gruppo di controllo, tre dei sei animali sono morti, mentre nel gruppo di trattamento sono sopravvissuti tutti (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'esame istologico di sezioni cerebrali (ippocampo dorsale) raccolte 72 ore dopo lo stato epilettico ha rivelato danni significativamente minori nei ratti trattati con LCM rispetto agli animali di controllo, cosa che suggerisce che la LCM possa avere proprietà neuroprotettive (Beyreuther, et al., 2007).

Come farmaco aggiuntivo, la LCM ha dimostrato di ridurre significativamente l'attività convulsiva in pazienti umani con epilessia focale. Quando è stata utilizzata come terapia aggiuntiva, la percentuale mediana di riduzione nella frequenza delle crisi variava dal 26 al 40%. Fino all'8% dei pazienti negli studi sulla LCM come terapia aggiuntiva sono risultati completamente liberi da crisi, e sono state dimostrate risposte a lungo termine (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il potenziale valore della LCM come farmaco di prima linea e come terapia per il trattamento delle epilessie generalizzate è sconosciuto. Questi dati supportano l'uso della LCM EV come potenziale alternativa agli AED standard per il trattamento acuto delle convulsioni, anche se sono necessari studi randomizzati controllati (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Effetti avversi

Nel complesso, gli studi di tossicità con dosi ripetute hanno dimostrato che la LCM è ben tollerata nei ratti e nei cani dopo somministrazione EV o orale. Analogamente, la somministrazione di LCM a dosi ripetute nei topi non è stata associata a una tossicità significativa. Il cane è risultato leggermente più sensibile all'esposizione alla LCM rispetto ai roditori (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Tutti gli effetti correlati al trattamento, osservati nei ratti e nei cani, si sono dimostrati completamente reversibili nel giro di 4 settimane di riposo: i segni clinici osservati negli studi di tossicità cronica nei topi, nei ratti e nei cani erano tutti dose-dipendenti, e includevano segni neurologici come atassia, riduzione della funzione motoria, tremori o, ad alte dosi, convulsioni. Nella maggior parte dei casi, questi effetti erano attribuibili ad una esagerazione degli effetti farmacodinamici del farmaco, e sono stati considerati limitanti per la dose. Simili effetti

farmacodinamici legati al SNC sono stati riportati anche da studi preclinici con altri AED, come il pregabalin (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Sulla base degli studi condotti fino ad ora sugli animali (per lo più su ratti e cani), possiamo dire che la LCM non dimostra effetti sul sistema nervoso autonomo e non ha effetti avversi clinicamente significativi a livello gastrointestinale, renale o respiratorio. Due studi hanno dimostrato che la soluzione di LCM per infusione è sicura e ben tollerata quando somministrata come infusione EV per 10, 15, 30 e 60 minuti in dosi comprese tra 200 e 600 mg/die (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Sulla base di diversi studi condotti sull'uomo, la LCM può essere considerata un farmaco ben tollerato. La maggior parte degli eventi avversi documentati sono da lievi a moderati, e vengono comunemente osservati durante la fase di titolazione. Gli effetti più comunemente riscontrati sono associati al SNC e al tratto gastrointestinale, e includono vertigini, nausea, atassia, vomito e nistagmo (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nell'uomo, gli effetti avversi si registrano più spesso nei pazienti epilettici resistenti ai farmaci. Uno studio retrospettivo con dati provenienti dalla pratica clinica ha dimostrato che la principale causa di interruzione della terapia con lacosamide sono, appunto, i suoi effetti avversi, tra i quali le vertigini sono quelle con il più alto tasso di prevalenza (Carona, et al., 2021).

Brivaracetam

Il brivaracetam (BRV), ((2S)-2-((4R)-2-oxo-4-propilpirrolidinil) butanamide), è un farmaco di nuova generazione rispetto al LEV, al quale sono state recentemente attribuite attività antiepilettiche potenzialmente superiori, sulla base di studi farmacologici condotti *in vitro* e di test su animali. È disponibile sia in Europa che negli Stati Uniti (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il BRV è stato approvato nel 2016 in UE e negli Stati Uniti come terapia aggiuntiva per il trattamento di crisi epilettiche ad insorgenza focale con o senza generalizzazione secondaria in pazienti di età pari o superiore a 16 anni. Nel 2018, la FDA ha esteso l'approvazione del BRV alla monoterapia delle crisi ad insorgenza focale nei pazienti di età pari o superiore a 4 anni. In UE, il limite di età è stato abbassato a 4 anni, ma senza estendere l'approvazione alla monoterapia (de Biase, Gigli, & Valente, 2020).

Nonostante l'attuale uso del BRV per le crisi ad insorgenza focale, gli studi clinici hanno dimostrato un'efficacia e un adeguato profilo di sicurezza nei pazienti con GGE (epilessie genetiche generalizzate) (Lince-Rivera, Martínez Córdoba, & Ortiz De la Rosa, 2022).

Il BRV è disponibile in formulazioni somministrabili per via orale (come sciroppo o compresse) e come infusione endovenosa, con conversione diretta da o verso le formulazioni orali e quella per via endovenosa, senza alcun aggiustamento della dose (de Biase, Gigli, & Valente, 2020).

Meccanismo d'azione

La farmacologia dei farmaci correlati al piracetam è stata poco approfondita, e deve ancora essere chiarita del tutto. La somiglianza della sua struttura chimica con un derivato ciclico del GABA suggerisce che i composti del piracetam possiedono, probabilmente, un'azione GABA-mimetica (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il brivaracetam, come il LEV, agisce come ligando ad alta affinità della glicoproteina 2A delle vescicole sinaptiche (SV2A), presente nei neuroni presinaptici. Ha la capacità di modulare l'esocitosi delle vescicole sinaptiche e quindi il rilascio dei neurotrasmettitori. Il BRV ha un potenziale di legame più selettivo e ha un'affinità da 10 a 30 volte superiore a quella del LEV per la proteina SV2A. È stato dimostrato che è più efficace nel rallentare la mobilità delle vescicole sinaptiche, e che esercita effetti inibitori sui canali del sodio voltaggio-dipendenti (Lince-Rivera, Martínez Córdoba, & Ortiz De la Rosa, 2022).

Farmacocinetica

Nell'uomo, in seguito a somministrazione orale, il BRV viene assorbito rapidamente e quasi completamente dal tratto gastrointestinale. Ha un'elevata biodisponibilità (circa il 100%), mostra un profilo lineare e dose-proporzionale, con una bassa variabilità interindividuale, ed è caratterizzato da un T_{max} mediano di circa un'ora. Il cibo ha dimostrato di influenzare la velocità ma non l'entità dell'assorbimento orale: un pasto ad alto contenuto di grassi prolunga il T_{max} di 3 ore e riduce la concentrazione plasmatica massima (C_{max}) di un terzo, ma non influisce sull'area sotto la curva (AUC). Lo stato stazionario plasmatico viene raggiunto entro 2 giorni dall'inizio del trattamento (de Biase, Gigli, & Valente, 2020).

La rapida penetrazione cerebrale del BRV è dovuta alla sua lipofilia, simile a quella delle benzodiazepine e superiore a quella del LEV (questo profilo farmacocinetico favorevole ne fa un agente promettente per il trattamento dello SE). Il BRV viene ampiamente metabolizzato

nel fegato, e la principale via metabolica coinvolge l'idrolisi del gruppo acetammidico, non dipendente dal CYP450, con formazione di un metabolita acido. Quest'ultimo subisce poi l'idrossilazione mediata dal CYP2C9, che porta alla formazione di un metabolita idrossiacido. I tre metaboliti sono tutti farmacologicamente non attivi (de Biase, Gigli, & Valente, 2020). La clearance renale del farmaco è bassa. Oltre il 95% del BRV viene eliminato con le urine entro 72 ore, con l'8,6% della dose somministrata che viene eliminata immutata (la restante parte è costituita dai metaboliti del farmaco). L'escrezione fecale rappresenta meno dell'1% della dose. L'emivita plasmatica è di circa 9 ore, il che consente la somministrazione due volte al giorno (de Biase, Gigli, & Valente, 2020).

Interazioni farmacocinetiche

Nell'uomo, il brivaracetam, somministrato a una dose totale giornaliera compresa tra 50 e 200 mg/die, presenta un basso rischio di interazioni farmaco-farmaco clinicamente rilevanti. Esistono potenziali interazioni del BRV con la carbamazepina (con conseguente aumento dell'epossido di carbamazepina) e con la fenitoina. Quest'ultima interazione si è verificata a dosi sovrat terapeutiche di brivaracetam, con conseguente moderato aumento dei livelli di fenitoina (negli Stati Uniti, comunque, si raccomanda il monitoraggio dei livelli di fenitoina). Ad ogni modo, quando il BRV viene prescritto a dosi approvate, queste interazioni non sembrano comportare un aumento significativo degli eventi avversi legati al trattamento, suggerendo pochi, se non nulli, effetti clinicamente rilevanti legati a queste interazioni (Moseley, et al., 2020).

Poiché il brivaracetam non interagisce con la maggior parte degli enzimi di metabolizzazione e trasportatori di farmaci, non interferisce con i farmaci che utilizzano queste vie metaboliche. Il profilo farmacocinetico favorevole del BRV e l'assenza di interazioni clinicamente rilevanti con gli AED comunemente prescritti permette la somministrazione senza aggiustamento della dose, ed evita i potenziali eventi avversi legati a una diminuzione dell'efficacia di un AED a causa di un'interazione farmaco-farmaco (Moseley, et al., 2020).

Sono stati segnalati pochi agenti che influenzano la farmacocinetica del brivaracetam. Questa bassa propensione alle interazioni con altri farmaci è attribuita, in parte, sia alla presenza di vie di eliminazione diverse (metabolismo renale, metabolismo mediato da CYP e metabolismo non mediato da CYP), sia al fatto che la principale via di eliminazione del brivaracetam avviene attraverso le amidasi, per le quali non sono state segnalate interazioni farmaco-farmaco (Moseley, et al., 2020).

Tuttavia, gli AED che inducono fortemente il CYP, come la carbamazepina, la fenitoina e il PB/primidone, hanno dimostrato di abbassare moderatamente le concentrazioni plasmatiche di brivaracetam. Nonostante questo, generalmente non è necessario un aggiustamento della dose di BRV. L'aggiustamento della dose deve essere considerato, però, quando il brivaracetam è co-somministrato con il più potente induttore del CYP, la rifampicina, e si deve procedere con cautela, inoltre, quando si inizia un trattamento aggiuntivo con l'erba di San Giovanni (forte induttore enzimatico), o quando tale trattamento viene interrotto (Moseley, et al., 2020).

In sintesi, gli studi condotti *in vitro* e le analisi farmacocinetiche cliniche hanno dimostrato che il brivaracetam presenta un profilo farmacocinetico favorevole e poche interazioni clinicamente rilevanti con altri farmaci (Moseley, et al., 2020).

Dosaggio

Attualmente non esistono raccomandazioni coerenti per il dosaggio e il monitoraggio del BRV nell'uomo e nel cane. Quanto al monitoraggio, è probabile che in futuro le indicazioni saranno le stesse raccomandate per il monitoraggio del levetiracetam (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Efficacia

I test preclinici hanno dimostrato che il BRV è in grado di indurre una soppressione più potente e completa delle crisi epilettiche e dell'acquisizione di *kindling* rispetto al LEV, in vari modelli *in vitro* e *in vivo* di epilessia. Le attività antiepilettiche osservate con il BRV in modelli animali che si ritiene imitano le forme di epilessia parziale (animali sottoposti a *kindling*) e generalizzata (topi sensibili alle crisi audiogene) dell'uomo, sono state superiori a quelle osservate con il LEV. Il pretrattamento con BRV durante il processo di *kindling* corneale nei topi ha rivelato una capacità di inibire lo sviluppo del *kindling* in modo potente e persistente, superiore a quella del LEV. Il BRV ha dimostrato anche un ampio indice terapeutico negli animali sottoposti a *kindling*, simile a quello del LEV. Nel complesso, questi risultati dimostrano che il BRV possiede proprietà superiori al LEV come agente antiepilettico e antiepilettogeno in vari modelli sperimentali di epilessia (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il BRV ha dimostrato di essere efficace in umani con attività convulsiva a esordio focale con o senza generalizzazione secondaria e mostra una chiara relazione dose-risposta (con una dose di

5-50 mg/die) in tutte le diverse analisi di efficacia (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il farmaco si dimostra promettente in termini di efficacia, tolleranza e sicurezza a breve e lungo termine: sembra avere una buona efficacia nel ridurre la frequenza delle crisi e, in alcuni casi, permette al paziente di raggiungere uno stato di assenza di crisi. La tollerabilità del farmaco è una caratteristica importante, come dimostrano gli alti tassi di mantenimento e la scarsa evidenza di effetti avversi gravi: buoni tassi di ritenzione ed effetti avversi minimi sono caratteristiche costanti, presenti indipendentemente dall'uso di questo farmaco come monoterapico, come farmaco aggiuntivo o come trattamento per l'epilessia refrattaria ad altri farmaci (Lince-Rivera, Martínez Córdoba, & Ortiz De la Rosa, 2022).

Ad oggi ancora non sono stati pubblicati studi clinici sull'uso del BRV nel cane o nel gatto (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Effetti avversi

Tutti gli effetti avversi riportati nell'uomo, associati alla somministrazione di BRV, sono lievi o moderati, e quasi tutti sono relativi al SNC. Quelli riportati più frequentemente includono vertigini, sonnolenza, affaticamento, cefalea, nausea, nasofaringite e irritabilità (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Rufinamide

La rufinamide (1-(2,6-difluoro-fenil)-metil-1 idro-1,2,3-triazolo-4 carbossamide) è un nuovo farmaco antiepilettico che, in quanto derivato triazolico, non è strutturalmente correlato a nessun altro farmaco anticonvulsivante attualmente in uso. È stata approvata per l'uso in Europa nel 2007, e dalla FDA nel 2009, per il trattamento di bambini dai 4 anni in poi con sindrome di Lennox-Gastaut. È anche approvata come trattamento aggiuntivo per adulti e adolescenti con crisi focali (Panebianco, Prabhakar, & Marson, 2020).

Meccanismo d'azione

Sebbene il meccanismo d'azione preciso della rufinamide non sia ancora chiaro, studi in vitro hanno suggerito che il farmaco agisce prolungando lo stato di inattività dei canali del sodio

voltaggio-dipendenti, diminuendo così l'eccitabilità dei neuroni (Stefanović, Janković, Novaković, Milosavljević, & Folić, 2018).

Farmacocinetica

Nell'uomo, a stomaco pieno, la rufinamide per via orale è assorbita per il 70%: in studi preliminari è stato visto che il cibo ne aumenta l'assorbimento, accorcia il T_{max} e aumenta la C_{max} . Il picco di concentrazione plasmatica viene raggiunto in 5-6 ore, indipendentemente dalla dose. La rufinamide è legata per il 34% alle proteine. È ampiamente metabolizzata da sistemi non-CYP450 (carbossilisterasi nel fegato) e solo il 2% rimane invariato nelle urine e nelle feci. Il metabolita principale, CGP47292, si forma per idrolisi del gruppo carbossilamidico. L'emivita di eliminazione è di 8-12 ore (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nel cane, la farmacocinetica della rufinamide è stata calcolata in seguito alla somministrazione di una singola dose orale media di 20 mg/kg. Non sono stati osservati effetti avversi. L'emivita di eliminazione media è stata di $9,86 \pm 4,77$ h, paragonabile a quella osservata nell'uomo, e ci si aspetta che sia ugualmente adeguata, nella pratica clinica, alla somministrazione del farmaco due volte al giorno. La variabilità dei valori di emivita calcolati tra i cani, tuttavia, suggerisce che in alcuni pazienti potrebbe essere necessaria la somministrazione della dose ogni 8 ore. La concentrazione plasmatica massima media raggiunta dopo una singola dose di 20 mg/kg è stata di $19,6 \pm 5,8$ µg/ml. Sebbene non sia possibile estrapolare una concentrazione stimata allo stato stazionario da questo studio limitato, è garantito che sia più alta di 19,6 µg/ml. Questo valore supera il livello terapeutico desiderato di 15 µg/ml nel trattamento dell'epilessia umana (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Sono necessari ulteriori studi per determinare se una concomitante malattia epatica o renale può alterare la farmacocinetica della rufinamide (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Interazioni farmacocinetiche

La rufinamide non viene metabolizzata dal sistema del citocromo P450, e questo riduce il suo potenziale di interazioni farmaco-farmaco; tuttavia, sono state segnalate diverse interazioni con altri farmaci. Il fenobarbital, la fenitoina e il primidone aumentano la clearance della rufinamide del 25-46%. Il farmaco, invece, non influenza le concentrazioni minime di fenitoina,

fenobarbital, primidone, topiramato e clonazepam (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Dosaggio

Nell'uomo, la rufinamide deve essere somministrata con il cibo, e le dosi giornaliere devono essere divise equamente per una somministrazione due volte al giorno. La dose raccomandata per il trattamento dell'epilessia refrattaria è di 45 mg/kg/die, divisi in due dosi somministrate a distanza di 12 ore l'una dall'altra (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Per diminuire la probabilità di effetti avversi, la dose di rufinamide viene gradualmente aumentata nell'arco di circa una settimana, iniziando con 10 mg/kg/die per arrivare alla dose target di 45 mg/kg/die. Al dosaggio di 45 mg/kg/die, la tipica concentrazione plasmatica allo stato stazionario raggiunta nell'uomo è di circa 15 µg/ml, che rappresenta la concentrazione plasmatica media di rufinamide (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'eventuale interruzione del trattamento con rufinamide deve essere graduale, con una riduzione della dose del 25% ogni 2 giorni per ridurre al minimo il rischio di crisi epilettiche. I pazienti che necessitano di una brusca interruzione della terapia con rufinamide devono passare a un antiepilettico alternativo sotto stretto controllo medico (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

L'uso di rufinamide non è raccomandato nei pazienti con grave compromissione epatica: i soggetti con insufficienza epatica lieve e moderata richiedono un attento monitoraggio e aggiustamenti del dosaggio. La somministrazione a pazienti con grave insufficienza renale, invece, è accettabile (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Efficacia

Numerosi studi sugli animali hanno dimostrato l'efficacia della rufinamide contro le crisi epilettiche. Il farmaco ha mostrato una forte inibizione delle crisi indotte da elettroshock massimale, pentilentetrazolo, bicucullina e picrotossina negli animali da esperimento. Ha ritardato il *kindling* e ha soppresso le scariche successive nell'amigdala di gatti sottoposti a *kindling*, ha ridotto la frequenza delle crisi in scimmie *rhesus* con focolai cronici di allumina nella corteccia motoria e ha inibito le scariche successive nell'ippocampo e nella corteccia di gatti non sottoposti a *kindling* (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Nell'uomo, la rufinamide rappresenta un'opzione efficace e tollerabile come trattamento aggiuntivo in pazienti che presentano crisi focali refrattarie agli altri antiepilettici (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Pålhagen e colleghi hanno valutato l'efficacia e la sicurezza della rufinamide come farmaco aggiuntivo nel trattamento di pazienti umani affetti da epilessia in uno studio multicentrico, randomizzato, controllato con placebo, della durata di 4 settimane, che ha confrontato dosi crescenti di rufinamide con il placebo. I pazienti sono stati randomizzati affinché ricevessero o la rufinamide, a partire da 400 mg/die e aumentata di 400 mg settimanalmente fino a una dose di 1600 mg/die, oppure il placebo (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Il tasso di frequenza delle crisi durante il trattamento è stato confrontato con un periodo di 28 giorni senza somministrazione del farmaco (la frequenza delle crisi in questo periodo basale è stata determinata in modo retrospettivo grazie ad un questionario sottoposto ai partecipanti). I pazienti nel gruppo della rufinamide hanno dimostrato una riduzione significativa nel tasso mediano di crisi. Inoltre, la rufinamide ha dimostrato efficacia significativa nella riduzione della frequenza del 25%, anche se non nella riduzione del 50%. Infine, un tasso di crisi basso ($\leq 4/28$ giorni) lo hanno dimostrato in modo significativamente maggiore i pazienti del gruppo trattato con rufinamide, rispetto a quelli trattati con placebo (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Effetti avversi

Gli effetti avversi segnalati più frequentemente nell'uomo vanno da lievi a moderati, e non causano l'interruzione del trattamento. Questi includono affaticamento, sonnolenza, tremore, vertigini, vomito, cefalea, diplopia e diarrea (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

Alterazioni nelle analisi di laboratorio

I parametri di laboratorio, compreso l'ECG, non sono risultati significativamente alterati negli adulti o nei bambini trattati con rufinamide (De Risio & Platt, Canine and feline epilepsy, 2014).

3.3 Interruzione della terapia con AED

Le due ragioni principali per prendere in considerazione l'interruzione del trattamento con un farmaco antiepilettico sono:

- la remissione delle crisi;
- gli effetti avversi pericolosi per la vita (Bhatti, et al., 2015).

Anche se in genere il trattamento dell'epilessia idiopatica prevede la somministrazione di un AED per tutta la vita dell'animale, nel cane sono state segnalate remissioni della malattia: tassi di remissione del 15-30% sono stati descritti in popolazioni di cani ospedalizzati (Bhatti, et al., 2015).

In uno studio di Packer e colleghi del 2014, il 14% dei cani è risultato in remissione con il PB. Quando una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi è stata utilizzata come criterio per misurare l'esito del trattamento terapeutico, i tassi di successo sono stati nettamente superiori, con il 64,5% dei cani che hanno raggiunto questo livello di riduzione delle crisi. Diversi fattori sono stati associati ad una maggiore probabilità, per il paziente, di ottenere la remissione della malattia, tra cui:

- il paziente è di sesso femminile;
- il paziente è sterilizzato;
- nessuna precedente esperienza di crisi a grappolo;
- un'età più avanzata all'esordio delle crisi (Packer, Shihab, Torres, & Volk, 2014).

Gli stessi quattro fattori sono stati associati a una maggiore probabilità di ottenere una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi. Le razze che aveva meno probabilità di andare in remissione o di raggiungere una riduzione ≥ 50 della frequenza delle crisi erano il Border Collie, il Pastore tedesco e lo Staffordshire Bull Terrier (Packer, Shihab, Torres, & Volk, 2014).

La decisione di ridurre gradualmente la dose di un antiepilettico deve essere presa sulla base delle condizioni dello specifico paziente, ma in generale si consiglia, come prerequisito, una libertà dalle crisi di almeno 1-2 anni (Bhatti, et al., 2015).

Nel cane esistono poche informazioni sui fattori di rischio associati a una recidiva delle crisi epilettiche, per cui il proprietario dell'animale deve essere consapevole della possibilità che le crisi si ripresentino in qualsiasi momento durante la riduzione della dose di AED o dopo la sua interruzione. Per prevenire le crisi di astinenza o l'insorgenza di *status epilepticus*, si consiglia di ridurre la dose del 20% (o meno) su base mensile (Bhatti, et al., 2015).

In caso di effetti avversi pericolosi per la vita, è necessario interrompere immediatamente la somministrazione del farmaco, mantenendo il paziente sotto osservazione per 24 ore. In questi

casi, è necessario iniziare subito un protocollo di carico con un AED alternativo, al fine di raggiungere le concentrazioni sieriche target prima che la concentrazione sierica di PB diminuisca (è possibile, ad esempio, la somministrazione di una dose di carico di KBr o di LEV). Altrimenti, se la funzione epatica è normale, anche la somministrazione di imepitoina o zonisamide alla dose iniziale raccomandata per via orale può essere un'alternativa (Bhatti, et al., 2015).

Interrompere la terapia antiepilettica rappresenta sempre una scelta rischiosa, in quanto in molti pazienti l'attività convulsivante si può ripresentare in modo drammatico, e può essere molto difficile da tenere sotto controllo. La terapia non dovrebbe essere sospesa in pazienti in cui si sospetta un'epilessia su base genetica, poiché in questi le crisi epilettiche si ripresentano (Gandini, L'epilessia del cane: un moderno approccio clinico e terapeutico, 2015).

In caso di paziente sottoposto a trattamento con PB, si può sviluppare una vera e propria dipendenza fisica dal farmaco, che può provocare delle crisi convulsive “da astinenza” quando il livello del farmaco viene ridotto eccessivamente. Affinchè sia ragionevole considerare la sospensione della terapia, il paziente deve essere libero da crisi da almeno un anno; se questa condizione è presente, è possibile procedere con una riduzione del 25% del dosaggio giornaliero del farmaco, monitorando l'attività convulsiva nei sei mesi successivi. Dopodichè, si riduce ulteriormente la dose del 25%, mantenendo dei periodi di osservazione di circa sei mesi tra le successive riduzioni. Se le crisi epilettiche si ripresentano, si raccomanda di tornare immediatamente ai livelli terapeutici iniziali (Gandini, L'epilessia del cane: un moderno approccio clinico e terapeutico, 2015).

3.4 Educazione del proprietario

L'educazione del proprietario dell'animale affetto da epilessia è uno dei punti fondamentali per il raggiungimento di una gestione del paziente epilettico che sia la migliore possibile: più il proprietario viene istruito sulla malattia, sulle sue comorbidità, sul trattamento antiepilettico e nutrizionale, più imparerà a convivere al meglio con la condizione del proprio animale domestico, e ad aiutare il Medico Veterinario nella cura del suo paziente (Volk, The pharmacoresistant patient: when things get complicated, 2018).

Al fine di promuovere la gestione migliore possibile di un cane affetto da epilessia, il Medico Veterinario deve istruire il proprietario per quanto riguarda:

- la malattia dell'animale e l'influenza che questa avrà sulla loro quotidianità (considerazioni relative, ad esempio, al fatto di lasciare il cane da solo, a cosa fare se si viaggia e si lascia il cane in un canile, comorbidità comportamentali, ...);
- la necessità di una terapia con farmaci antiepilettici, che spesso rappresenta un impegno a vita;
- l'obiettivo della terapia con AED;
- l'importanza della somministrazione regolare dei farmaci;
- il fatto che eventuali modifiche del dosaggio devono essere effettuate esclusivamente dopo aver consultato il Medico Veterinario;
- i potenziali effetti avversi associati alla terapia;
- l'importanza di tenere un diario dettagliato relativo alle crisi epilettiche;
- l'importanza di controlli regolari per monitorare le concentrazioni ematiche del farmaco antiepilettico, nonché, quando opportuni, esami del sangue e profilo biochimico del siero;
- la necessità di modulare il trattamento per ottenere un controllo ottimale delle crisi;
- la possibilità che si verifichino *status epilepticus* o crisi a grappolo e la necessità, eventualmente, di somministrare ulteriori AED a casa;
- i costi da sostenere;
- il fatto che potrebbero verificarsi interazioni farmacologiche con altri farmaci co-somministrati;
- la consapevolezza che la sospensione brusca del farmaco potrebbe essere dannosa;
- il fatto che la dieta (per esempio il contenuto di sale), la diarrea e il vomito possono influire sull'assorbimento degli AED. Si deve consigliare caldamente di mantenere costante la dieta o di apportare solo cambiamenti gradualmente, nonché di consultare il veterinario in caso di segni gastrointestinali (Bhatti, et al., 2015).

Il proprietario può anche aiutare a identificare e ridurre i fattori di stress ambientale, a mantenere le routine quotidiane e a contribuire all'adattamento, per il proprio animale, del trattamento farmacologico e del regime nutrizionale, in base allo stato di crisi del cane. Il principio della cura olistica dell'epilessia si basa sul concetto che ogni piccolo gesto contribuisce ad aumentare la soglia convulsiva e migliorare quindi la gestione della malattia (Volk, The pharmaco-resistant patient: when things get complicated, 2018).

3.5 Il paziente refrattario

Come citato in precedenza, al di là delle definizioni di *successo terapeutico* e *successo terapeutico parziale* fornite recentemente dall'IVETF, ancora oggi il concetto di successo terapeutico che raccoglie più consenso è quello che prevede una *diminuzione di almeno il 50% della frequenza delle crisi epilettiche rispetto al periodo pretrattamento dopo una terapia con uno o due farmaci a dosaggi plasmatici adeguati*. In base a questa definizione, si può quindi definire l'epilessia come "refrattaria" quando *non si ottiene una diminuzione di almeno il 50% della frequenza delle crisi epilettiche dopo una terapia con uno o due farmaci a dosaggi plasmatici adeguati* (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Un paziente affetto da Epilessia Refrattaria (ER) rappresenta una sfida per il neurologo veterinario, che può condurre all'eutanasia dell'animale per le difficoltà gestionali da parte del proprietario e per la compromissione della QoL del paziente. I lavori scientifici che parlano di epilessia del cane riportano il dato di un 20-30% di soggetti refrattari; questo dato, tuttavia, è estrapolato da lavori che hanno oltre 30 anni, e che riguardano casi trattati quando le conoscenze sull'epilessia e le possibilità diagnostiche erano molto più limitate rispetto ad oggi. Nonostante questo, andando ad approfondire nella bibliografia di articoli recenti, il dato che torna sempre fuori deriva, appunto, da lavori degli anni '80 e dei primi anni '90. È molto probabile, dunque, che la percentuale di animali con epilessia refrattaria sia sovrastimata (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Prima di definire un paziente refrattario, dovrebbe essere riconsiderato l'intero protocollo diagnostico e terapeutico, al fine di rilevare eventuali errori nella diagnosi o nella gestione terapeutica: spesso, infatti, il motivo dell'insuccesso è legato ad un uso non corretto degli AED, o ad una scarsa compliance del proprietario dovuta ad un'inadeguata comunicazione tra questo e il veterinario. Spesso il farmaco viene sostituito senza che siano stati fatti gli adeguati tentativi per valutarne l'efficacia (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

I casi di epilessia non rispondente al trattamento farmacologico dovrebbero sempre essere riferiti al neurologo specialista. In questi casi, è necessario porsi queste domande:

1. La comunicazione con il proprietario è adeguata?
2. La diagnosi è corretta?
3. I dosaggi dei farmaci sono adeguati?

Solo se la risposta a tutti e tre questi interrogativi risulta affermativa, è possibile procedere con ulteriori tentativi farmacologici per cercare di ottenere il controllo delle crisi e, in caso di

insuccesso, è legittimo parlare di epilessia refrattaria (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Attualmente si pensa che alla base della refrattarietà dell'epilessia ci siano tre meccanismi:

- L'ipotesi *farmaco-target (drug-target)*, secondo la quale nel tessuto epilettogeno vi è una ridotta sensibilità delle strutture bersaglio dei farmaci;
- L'ipotesi dei *trasportatori multifarmaco (multidrug transporter)*, per la quale nel paziente in questione vi è una clearance maggiore del normale dei farmaci antiepilettici, in virtù di una sovraespressione di proteine trasportatrici di farmaci (come la glicoproteina-P);
- Modificazioni nelle proprietà dei network neuronali (Gandini, L'epilessia del cane: un moderno approccio clinico e terapeutico, 2015).

Questi meccanismi proposti si basano soprattutto sull'ipotesi di anomalie genetiche come base fondamentale per l'ER, in ragione del fatto che è stata registrata una predominanza di ER in alcune razze, e del fatto che spesso il paziente refrattario non risponde ad alcuna terapia fin dall'inizio. Tra i fattori clinici di rischio vi sono senza dubbio la gravità e la frequenza delle crisi, le quali possono alimentare un circolo vizioso producendo nuovi foci epilettogeni, i quali a loro volta contribuiscono all'insorgenza di nuove crisi epilettiche (Gandini, L'epilessia del cane: un moderno approccio clinico e terapeutico, 2015).

In Medicina Umana, è stato dimostrato che lo stato di assenza di crisi è la migliore misura di esito terapeutico, in quanto associato al maggior miglioramento della QoL del paziente. In base alla revisione della classificazione ILAE delle epilessie resistenti ai farmaci, molti dei cani con epilessia idiopatica potrebbero essere classificati come resistenti al trattamento medico con AED (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

La risposta ai farmaci non deve essere considerata una condizione statica, ma piuttosto un processo dinamico: frequenza e gravità delle crisi, infatti, possono oscillare nel tempo, e lo "stato" di farmaco-resistenza è legato al momento della valutazione. Come nelle persone, la frequenza delle crisi può migliorare o addirittura cessare in alcuni casi. Nel Lagotto Romagnolo è stata descritta una forma di epilessia benigna infantile o giovanile, con le prime crisi che si verificano all'età di circa 6 settimane, e quasi tutti i cani colpiti entrano in remissione all'età di 10 settimane, generalmente, senza aver ricevuto alcun trattamento medico (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

In generale, in futuro, saranno necessari studi di follow-up su larga scala e a lungo termine per stabilire con maggiore precisione la prevalenza della risposta ai farmaci nella popolazione

generale di cani epilettici. Inoltre, è necessario migliorare la nostra comprensione dei potenziali fattori di rischio, come la razza, l'età, il sesso, l'eventuale sterilizzazione, la densità delle crisi, la loro gravità e durata, e il tipo di anamnesi delle crisi (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

Fattori associati alla remissione della malattia e fattori associati alla risposta agli AED

Fattori genetici

Negli ultimi anni, l'epilessia idiopatica con un background genetico accertato o sospetto è stata studiata per un certo numero di cani di razza pura, con la maggior parte degli studi incentrati sulle caratteristiche cliniche e sugli aspetti genetici. Tuttavia, la maggior parte degli studi non ha ancora identificato mutazioni genetiche causative, il che suggerisce che i gruppi di ricerca in questione non avevano le risorse o la disponibilità per identificare i geni responsabili della malattia, oppure che l'ereditarietà può essere complessa, coinvolgendo diversi geni di suscettibilità, e può riflettere interazioni ambientali aggiuntive, analogamente a quanto proposto per molte epilessie genetiche umane (Hülsmeier, et al., 2015).

Come citato precedentemente, i dati attuali mostrano che il decorso clinico, la semiologia delle crisi, le risposte al trattamento e l'ereditabilità possono differire sostanzialmente tra le razze canine e anche tra popolazioni geograficamente distinte della stessa razza. La conoscenza di queste differenze specifiche di razza (o addirittura di popolazione) è importante, in quanto questa può influenzare la scelta del regime terapeutico, la prognosi del paziente e i consigli forniti al proprietario (Hülsmeier, et al., 2015).

Se una razza di cane presenta una prevalenza superiore al 2% di epilessia, all'interno della razza, può essere considerata come geneticamente predisposta. Questo suggerisce la probabilità che i fattori di rischio genetici giochino un ruolo non solo nello sviluppo dell'epilessia, ma potenzialmente anche nella probabilità di risposta ai farmaci (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

Come citato precedentemente, il Lagotto Romagnolo può essere colpito da un'epilessia infantile o giovanile benigna. Per questa razza, è stato individuato il difetto genetico e il percorso neurochimico responsabile dello sviluppo della patologia: si tratta della mutazione del gene *Lgi2*, che è coinvolto nella fase immediatamente post-natale della potatura neuronale e nel rimodellamento sinaptico cerebrale. La sua funzione diventa meno importante con l'età dell'animale: la parte più tardiva della potatura neuronale è regolata, infatti, principalmente dal

gene *Lgi1*. Questo è probabilmente uno dei motivi per cui ad un certo punto l'epilessia regredisce (Seppälä, et al., 2011).

L'epilessia idiopatica refrattaria (RIE) è dunque una condizione multifattoriale che coinvolge fattori acquisiti e genetici. L'ipotesi di un'influenza genetica nella refrattarietà è stata suffragata da segnalazioni di alte percentuali di decorso clinico particolarmente grave e di refrattarietà in razze specifiche, come Border Collie, Australian Sheperd e Spinoni Italiani (Gagliardo, et al., 2019).

Poiché si ritiene che la risposta ai farmaci antiepilettici sia almeno in parte dovuta alla variabilità genetica, la farmacogenomica e la farmacogenetica vengono utilizzate per studiare i geni associati alla farmacologia degli AED (Alves, et al., 2011).

I meccanismi fisiopatologici esatti della refrattarietà sono ancora poco conosciuti, ma negli ultimi anni un'attenzione specifica è stata rivolta al ruolo della *ATP-binding cassette subfamily B member 1 protein* (ABCB1, precedentemente nota come proteina 1 di resistenza ai farmaci, P-glicoproteina o P-gp), codificata dal gene ABCB1 (Gagliardo, et al., 2019).

Nell'uomo, ad esempio, l'ipotesi del trasportatore di farmaci nell'epilessia farmaco-resistente è stata intensamente studiata negli ultimi anni, sulla base dell'ipotesi che la sovraespressione localizzata di alcune proteine trasportatrici, come appunto la proteina ABCB1, comprometterebbe l'efficacia degli AED, limitando la loro capacità di penetrare la BEE e raggiungere il loro sito di azione previsto. La ABCB1 è una proteina codificata dal gene *ABCB1*, chiamato anche gene di resistenza multifarmaco 1 (*MDR1*). Il gene *ABCB1* nei cani si trova sul cromosoma 14 e comprende 28 esoni (Alves, et al., 2011).

Si tratta di una proteina transmembrana ATP-dipendente, espressa fisiologicamente sul lato luminale delle cellule endoteliali della BEE, che ha una funzione fisiologica protettiva: espelle xenobiotici potenzialmente tossici, compresi gli AED (Gagliardo, et al., 2019).

La disfunzione di questa proteina neuroprotettiva può portare ad una intossicazione del SNC o alla resistenza ai farmaci. In genere, infatti, i pazienti sono resistenti a più AED, nonostante il fatto che questi farmaci abbiano meccanismi d'azione diversi. Ciò suggerisce una modalità non selettiva di farmaco-resistenza, che si adatterebbe molto bene a un ruolo centrale della P-gp, vista la sua gamma estremamente ampia di substrati (Alves, et al., 2011).

In Medicina Umana, sono stati condotti diversi studi per valutare l'associazione tra il polimorfismo ABCB1 e la resistenza agli AED, con risultati discordanti (Gagliardo, et al., 2019).

È stato segnalato che i Collie e altre razze da pastore presentano un'alterazione della proteina ABCB1, causata da una delezione di quattro coppie di basi nell'esone 4 del gene *ABCB1*. Questi cani sono più sensibili a farmaci come l'ivermectina, che causano un'intossicazione del SNC, ma questo difetto potrebbe anche portare a un migliore controllo delle crisi nei cani da pastore affetti, poiché alcuni AED potrebbero penetrare più facilmente nella BEE (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

In uno studio condotto nel 2011 su una popolazione di Border Collie, è stata riportata un'associazione tra una sostituzione di un singolo nucleotide (c.-6-180 T > G) del gene *ABCB1* e la mancata risposta al PB in quella razza. La mutazione, localizzata in una regione non codificante, si trovava nel punto in cui sono localizzati gli elementi promotori, ed è stato ipotizzato che questo polimorfismo del promotore potesse essere correlato ad una sovraespressione della glicoproteina-P nel cervello (Alves, et al., 2011).

Questa sostituzione di un singolo nucleotide, tuttavia, non è stata associata a farmacoresistenza nei cani da pastore australiano epilettici, che sono strettamente imparentati con i Border Collie (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

Successivamente, è stata dimostrata un'elevata prevalenza (24,9%) dell'allele G del gene *ABCB1* in una popolazione di Border Collie sani, per cui (supponendo un modello di ereditarietà dominante) più del 40% dei cani presentava genotipi (G/G e T/G) potenzialmente predisponenti alla refrattarietà in caso di sviluppo di IE (Mizukami, et al., 2013).

In uno studio condotto su 29 Border Collie affetti da IE e sottoposti a terapia farmacologica, Muñana e collaboratori hanno riferito che i Collie epilettici omozigoti per questa delezione *ABCB1* avevano una probabilità significativamente maggiore di avere un migliore controllo medico delle crisi rispetto ai Collie epilettici senza il gene *ABCB1* mutato (Alves, et al., 2011).

Tuttavia, i Border Collie sono generalmente noti per avere difficoltà nel controllo dell'epilessia caratterizzata da crisi a grappolo e da elevata frequenza e gravità delle crisi (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

Nel 2019, sono stati valutati per la prima volta i potenziali fattori di rischio associati alla refrattarietà in una popolazione di cani appartenenti a varie razze, integrando variabili genetiche e cliniche. I risultati dello studio hanno suggerito che la valutazione genetica dell'*ABCB1* c.6180T > G *SNV* (*single nucleotide variant*), non è di rilevanza clinica, poiché è probabile che la presenza dell'allele G del gene (sia in omozigosi che in eterozigosi) non sia di per sé causativa di refrattarietà, ma che possa avere un ruolo soltanto in un particolare background genetico.

Sono necessari ulteriori studi per chiarire il ruolo di questo gene nello sviluppo della RIE nel cane, ma è probabile che anche in questa specie possano verificarsi meccanismi epistatici che modulano la RIE (Gagliardo, et al., 2019).

Nello studio, infatti, la presenza dell'allele maggiore T in omozigosi è stata associata sia ad un aumento che ad una diminuzione dell'Odds di epilessia idiopatica refrattaria nelle razze o gruppi di animali selezionati, e questo suggerisce che se il genotipo esercita un effetto sulla refrattarietà del paziente agli AED, questo può essere comunque molto variabile, sulla base del background genetico che caratterizza le varie razze. Inoltre, tutti e quattro i Border Collie dello studio sono stati classificati come refrattari ai farmaci, ma solo due di essi mostravano l'allele G/G allo stato omozigote (Gagliardo, et al., 2019).

I diversi risultati in Medicina Umana hanno portato allo sviluppo di varie meta-analisi, la maggior parte delle quali ha riportato che non esiste un'associazione tra la refrattarietà e i polimorfismi ABCB1. Tuttavia, molti hanno mostrato un'associazione significativa in specifici sottogruppi etnici. Allo stesso modo, in questo studio si vede come il diverso background genetico di ciascuna razza potrebbe influenzare l'effetto biologico di questo *SNV* del gene ABCB1. È dunque probabile che vi sia un *linkage disequilibrium* tra il *SNV* e la mutazione che è davvero responsabile della refrattarietà agli AED, caratterizzato da una diversa forza di *linkage* nelle varie razze. In alternativa, è anche possibile che la variazione dell'introne 1 interagisca con modificatori che variano in base ai diversi background genetici (Gagliardo, et al., 2019).

In uno studio recente, cinque potenziali geni sono stati associati alla mancata risposta al PB (*KCNQ3*, *SCN2A*, *GABRA2*, *EPOXHYD* e *ABCB4*), ma non hanno raggiunto una significatività statistica. Tre di questi geni codificano per canali ionici, e sono stati segnalati come bersagli per gli AED: *KCNQ3* (canale ionico voltaggio-dipendente del potassio, importante per la ripolarizzazione post-eccitatoria della membrana), *SCN2A* (canale ionico del sodio), *GABRA2* (recettore GABA). Gli altri due geni riportati sono coinvolti nel metabolismo (*EPOXHYD*) o nel trasporto (*ABCB4*) del PB (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

Fattori clinici

Negli ultimi anni, vari studi hanno tentato di valutare quali fattori clinici relativi al fenotipo della malattia rappresentano un valore predittivo di scarsa o buona risposta agli AED (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

In uno studio epidemiologico condotto nel 1997 su Labrador Retriever epilettici, i cani che hanno smesso di avere crisi avevano ricevuto un trattamento medico per molto più tempo (dopo la prima crisi) rispetto a quei pazienti che hanno continuato ad avere attività epilettica. Ciò potrebbe significare che il momento del trattamento rispetto alla prima crisi potrebbe non essere il fattore più importante per la risposta ai farmaci. Tuttavia, disponiamo di buoni dati provenienti da studi condotti su cani, roditori e umani, che dimostrano che un fenotipo di malattia grave, come un'attività convulsiva prolungata (*status epilepticus*), alta densità di crisi (crisi a grappolo) e un'elevata frequenza generale di crisi, sono fattori di rischio per lo sviluppo di farmacoresistenza agli AED (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

Recentemente, è stato confermato che la presenza di crisi a grappolo rappresenta il fattore di rischio maggiore per la refrattarietà agli AED. Inoltre, nei cani con RIE, è stato dimostrato un progressivo aumento del numero di crisi indipendentemente dalla terapia, mentre i cani senza RIE possono ottenere un controllo delle crisi da buono a eccellente, utilizzando un singolo AED (Gagliardo, et al., 2019).

Dunque, nei cani affetti da epilessia idiopatica, crisi a grappolo o *status epilepticus* sono cattivi indicatori prognostici (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

Si ritiene che i cani giovani affetti da epilessia abbiano un esito peggiore. Ad esempio in uno studio condotto su cani Labrador Retriever, questi hanno dimostrato una migliore risposta ai farmaci quando hanno sviluppato epilessia in età avanzata. Uno studio recente non ha fatto eco a questi risultati, e ha dimostrato che l'esordio delle crisi epilettiche prima dell'età di un anno non ha avuto alcuna influenza sull'esito della malattia. È interessante notare che i ricercatori non hanno riscontrato che la presenza di crisi focali fosse un fattore di rischio per un esito peggiore, cosa che invece accade negli esseri umani affetti da epilessia (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

È stato recentemente dimostrato che se i cani non rispondono ai primi due farmaci antiepilettici è molto improbabile che rispondano al terzo (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015). Anche studi condotti su pazienti umani indicano che una risposta precoce alla terapia farmacologica è associata a una prognosi favorevole, e che i pazienti che hanno una scarsa risposta al primo AED hanno una bassa probabilità di diventare liberi da crisi con

l'assunzione di due farmaci. Questi risultati suggeriscono che la RIE rappresenta una condizione clinica che si sviluppa fin dall'inizio piuttosto che nel corso del tempo. Sono necessarie ulteriori indagini, però, per confermare questa ipotesi nel cane (Gagliardo, et al., 2019).

L'epilessia farmaco-resistente continua a rappresentare una sfida importante per la Medicina Veterinaria, e sono necessari ulteriori studi per svelare la sua fisiopatologia e determinare i fattori di rischio clinici, in modo da poter sviluppare nuove strategie di trattamento che siano personalizzate per il paziente, e massimizzare la risposta agli AED (Volk, Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights, 2015).

4. I CANNABINOIDI

Introduzione

La *Cannabis sativa*, la pianta della canapa, è stata utilizzata per le sue proprietà psicoattive per migliaia di anni (Ritter, et al., 2020).

Un momento di svolta nell'indagine scientifica sulla *Cannabis* è stato quando William Brooke O'Shaughnessy, un medico irlandese che operava in India, applicò gli insegnamenti della medicina ayurvedica alla prima ricerca moderna e sistematica sulle proprietà terapeutiche della pianta: egli notò l'effetto narcotico della forma elettuariale della *Cannabis*, e procedette poi a sperimentarla su varie specie animali, per differenziare le loro reazioni. I risultati hanno confermato per la *Cannabis* sia effetti sedativi che di stimolazione dell'appetito, oltre all'atassia statica quando somministrata in dosi più elevate (tutti effetti che si risolvevano entro poche ore). O'Shaughnessy si spinse avanti con le applicazioni terapeutiche della *Cannabis* in condizioni umane che andavano dai reumatismi al tetano, alle convulsioni da colera, alla rabbia (Russo, 2021). Ne riconobbe i benefici come agente antispasmodico con proprietà ansiolitiche e antiemetiche, pur notando effetti collaterali, come la catalessi (Brutlag, 2021).

I suoi insegnamenti si diffusero rapidamente in Europa, dove il suo lavoro pionieristico ha gettato le basi per la nostra conoscenza terapeutica della *Cannabis*, che persiste dopo quasi due secoli (Russo, 2021).

L'uso medicinale della *Cannabis* è stato dunque sostenuto fin dall'antichità, ma il serio interesse è riemerso solo nel 1964, con l'identificazione del Δ^9 -tetraidrocannabinolo (THC) come principale componente psicoattivo. Gli estratti della *Cannabis* contengono numerosi composti correlati, chiamati cannabinoidi, la maggior parte dei quali sono insolubili in acqua. I cannabinoidi più abbondanti sono il THC, il cannabidiolo e il cannabinolo. (Ritter, et al., 2020) La struttura del cannabidiolo o CBD, il principale cannabinoide non psicoattivo, è stata scoperta nel 1963. La progettazione di analoghi enantiomericamente puri o di varietà sintetiche di THC è iniziata negli anni '60, sia per la ricerca di analgesici che di recettori endogeni, presumibilmente presenti nei mammiferi, sui quali agiscono THC, CBD e altri cannabinoidi (Silver, 2021).

Nel 1988 è stato dimostrato un legame saturabile ad alta affinità di un cannabinoide triziato in membrane preparate da cervello omogeneizzato di ratto. Ciò ha portato all'identificazione di specifici recettori dei cannabinoidi nel cervello. Questi sono ora denominati recettori CB1, distinti dai recettori CB2, successivamente identificati nei tessuti periferici (Ritter, et al., 2020).

All'inizio degli anni '90, questi recettori sono stati identificati come recettori accoppiati a proteine G, influenzati dai cannabinoidi endogeni, definiti endocannabinoidi (Brutlag, 2021). La scoperta di recettori cannabinoidi specifici ha stimolato, infatti, la ricerca di mediatori endogeni, che ha portato alla purificazione della N-arachidoniletanolamide (AEA), un mediatore eicosanoide che è stato battezzato anandamide, e, pochi anni dopo, all'identificazione del 2-arachidonoilglicerolo (2-AG). Più recentemente, sono stati aggiunti all'elenco almeno altri tre candidati endocannabinoidi, con distinte selettività per i recettori CB1/CB2 (Ritter, et al., 2020).

Come risultato della ricerca sugli effetti del Δ^9 -THC sul SN, è stato dunque scoperto il “Sistema Endocannabinoide” (*Endocannabinoid System - ECS*). L'ECS “classico” comprende:

1. i principali ligandi endogeni, ovvero gli endocannabinoidi AEA e 2-AG (oltre ai quali, però, ne sono stati descritti altri);
2. i recettori cannabinoidi endogeni (CB1 e CB2);
3. gli enzimi metabolici di biosintesi e idrolisi, che catalizzano le reazioni di tutte le molecole endogene coinvolte nell'attività di segnalazione dei cannabinoidi (DAGL, FAAH, MAGL, NAPE) (Silver, 2021).

In definitiva, a parte la maggiore suscettibilità all'atassia, gli effetti della *Cannabis* nel cane sono strettamente correlati a quelli dell'uomo. Ciò è evidenziato dai risultati di uno degli studi di riferimento sulla distribuzione del recettore CB1 dei cannabinoidi nel cervello, poco dopo la scoperta del sistema endocannabinoide. In tutti i mammiferi, il legame dei ligandi cannabinoidi è risultato maggiore a livello di gangli basali, ippocampo e cervelletto; nel cane, tale legame risulta particolarmente prevalente nello strato molecolare cerebellare, il che spiega la sensibilità di questa specie all'atassia dopo l'esposizione a basse dosi di THC. Inoltre, nel cane come negli umani, la scarsità di densità recettoriale nei centri del tronco cerebrale inferiore che mediano le funzioni cardiovascolari e respiratorie spiega la relativa sicurezza della *Cannabis* anche in dosi estreme (Russo, 2021).

Un esame delle recenti revisioni della letteratura scientifica indica come principali, tra le indicazioni per la *Cannabis*, il trattamento del dolore cronico, sia neuropatico che legato al cancro, l'emesi associata alla chemioterapia, la spasticità, i disturbi del sonno e l'epilessia (soprattutto con il cannabidiolo, nel caso di quest'ultima). Tuttavia, la ricerca sull'argomento e un considerevole numero di prove aneddotiche supportano molte altre indicazioni per la *Cannabis* in condizioni autoimmuni, obesità, disturbi neurocomportamentali, condizioni neurologiche degenerative, ostetricia e ginecologia (Russo, 2021).

In Medicina Umana, dagli anni '80, i farmaci sintetici a base di THC, il dronabinol (Marinol®) e l'analogo nabilone (Cesamet®), sono stati utilizzati nel trattamento dell'inappetenza e della nausea nei pazienti in chemioterapia e affetti da AIDS. Nel 2010, il Sativex®, un rapporto 1:1 di THC:CBD, è stato approvato in molti paesi europei come spray oromucoso per il trattamento della spasticità dovuta alla sclerosi multipla. Con il 2020, il farmaco è stato approvato da più di 25 paesi in tutto il mondo, tra cui Canada, Israele, Australia, Nuova Zelanda e America Latina, ma non negli Stati Uniti. Nel 2018, Epidiolex® (cannabidiolo) è stato approvato negli Stati Uniti dalla FDA per il trattamento delle crisi associate ad alcune rare forme di epilessia umana (Brutlag, 2021).

Mentre fino a poco più di 20 anni fa, la ricerca sui cannabinoidi si concentrava su singoli composti, come il THC, il CBD o il cannabinolo (CBN), nell'ultimo decennio la ricerca sui cannabinoidi si è spostata su formulazioni a spettro completo contenenti i fitocannabinoidi più abbondanti (CBD e THC), ma anche cannabinoidi meno comuni, come il cannabinolo (CBN), il cannabigerolo (CBG) e il cannabicromene (CBC), tra gli altri. Anche i profili di terpeni e flavonoidi delle piante di *Cannabis* hanno iniziato a suscitare l'interesse dei ricercatori (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

4.1 Sistema Endocannabinoide ed Endocannabinoidoma

Introduzione

Il sistema endocannabinoide è un regolatore omeostatico fondamentale della fisiologia di moltissime specie animali. Ha un'età di centinaia di milioni di anni, e trova espressione in tutti i cordati dai tunicati in poi (mancando in alcuni cladi importanti, come quello degli insetti) (Russo, 2021). È presente, quindi, in quasi tutti gli animali, vertebrati e invertebrati, dai mammiferi ai *phyla* più primitivi, e questo dimostra la sua importanza biologica (Silver, 2021). Si ritiene che sia uno dei più grandi sistemi recettoriali conosciuti, che influenza la comunicazione sinaptica e modula diverse funzioni (Coelho, et al., 2021).

Svolge, infatti, un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi di vari sistemi di organi vitali: modula il sistema nervoso, il sistema immunitario e altri sistemi di organi, attraverso un sofisticato sistema di recettori e molecole di segnalazione chimica, al fine di alleviare il dolore

e l'infiammazione, modulare il metabolismo e la funzione neurologica, promuovere processi digestivi sani e sostenere la funzione riproduttiva e lo sviluppo embriologico (Silver, 2021). Nell'ECS, la produzione di ligandi e la *up-regulation* dei recettori sono direttamente e proporzionalmente correlate all'aumento del tono del simpatico, all'aumento dei mediatori dell'infiammazione e all'aumento delle catecolamine da stress. I ligandi legati e non legati vengono catabolizzati rapidamente, e questo garantisce una stretta regolazione delle loro concentrazioni. Questa attività catabolica intrinseca promuove anche il legame di nuovi ligandi e previene la sovrasaturazione dei recettori. L'attività di segnalazione degli endocannabinoidi è strettamente regolata a livello di sintesi, rilascio, assorbimento e degradazione (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

I ligandi endogeni

L'AEA e il 2-AG sono i principali fattori endogeni che attivano i recettori cannabinoidi, e sono stati scoperti rispettivamente nel 1992 e nel 1995 (Silver, 2021).

Studi condotti in quegli anni dimostrarono, infatti, che una breve depolarizzazione postsinaptica riduceva il rilascio di neurotrasmettitori dai terminali eccitatori delle cellule di Purkinje nel cervelletto e dai terminali inibitori dei neuroni piramidali nell'ippocampo. Questo fenomeno è stato definito "soppressione dell'eccitazione/inibizione indotta dalla depolarizzazione" (*DSE* e *DSI*, rispettivamente). Si ipotizzò che la depolarizzazione postsinaptica innescasse il rilascio di una sostanza non ancora identificata, che limitava transitoriamente il rilascio di neurotrasmettitori presinaptici. Ciò ha suggerito il concetto di segnalazione retrograda, in contrasto con la visione prevalentemente anterograda della segnalazione sinaptica. L'applicazione di un agonista (o antagonista) dei recettori CB1 ha potenziato (o impedito) la DSE e la DSI, suggerendo che queste siano mediate da un ligando cannabinoide endogeno (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

La sintesi di AEA e 2-AG avviene a livello di membrana cellulare da parte di enzimi biosintetici, e la loro sintesi avviene *ad hoc*, in seguito a stimoli specifici: nel SN, la produzione di endocannabinoidi nella membrana postsinaptica è innescata da un aumento della concentrazione intracellulare di Ca^{2+} , secondario a un segnale di depolarizzazione, a uno stimolo fisiologico o patologico. L'evidenza della trasmissione retrograda del 2-AG è maggiore rispetto a quella dell'AEA, ma questi meccanismi non sono ancora stati completamente chiariti (Silver, 2021).

Dunque, la depolarizzazione della cellula postsinaptica o l'attivazione diretta dei recettori metabotropici del glutammato aumentano i livelli di calcio intracellulare, innescando cascate di secondi messaggeri che promuovono la sintesi degli endocannabinoidi, i quali vengono sintetizzati da precursori fosfolipidici della membrana postsinaptica (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

A differenza degli altri neurotrasmettitori (come la noradrenalina o l'acetilcolina), che sono idrofili e immagazzinati in vescicole intracellulari, i ligandi endocannabinoidi sono lipofili e prodotti su richiesta a partire dall'acido arachidonico nella membrana cellulare. Dopodichè, entrambi gli endocannabinoidi prodotti nella membrana postsinaptica attraversano in modo retrogrado la fessura sinaptica fino a raggiungere la membrana presinaptica, dove si legano ai recettori CB1 o CB2 e modulano il rilascio di neurotrasmettitori presinaptici (Silver, 2021).

I recettori CB1 sono recettori accoppiati a proteine G legati a subunità $G_{i/o}\alpha$ sensibili alla tossina della pertosse. L'attivazione della subunità α innesca la dissociazione del complesso $\beta\gamma$, che riduce la produzione di adenosina monofosfato ciclico da parte della adenilato ciclasi, inibisce i canali del calcio voltaggio-dipendenti di tipo N e P/Q, stimola i canali del potassio di tipo A, attiva i canali GIRK del potassio (*G protein-coupled inwardly-rectifying potassium channels*) e inibisce il meccanismo di rilascio vescicolare. Questi meccanismi multipli riducono l'eccitabilità delle cellule presinaptiche e il Ca^{2+} , diminuendo fortemente il rilascio di neurotrasmettitori presinaptici (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

I recettori CB1 possono regolare il rilascio presinaptico di molteplici neuromodulatori come acetilcolina, dopamina e noradrenalina, e la segnalazione degli endocannabinoidi può modulare la plasticità sinaptica regionale-specifica a lungo termine, tra cui il potenziamento a lungo termine e la depressione a lungo termine (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

Il carattere transitorio, "on-demand", dell'attività degli endocannabinoidi, fa in modo che questa sia strettamente controllata, e che abbia una breve durata (Silver, 2021).

Quanto alla degradazione degli endocannabinoidi, questa avviene principalmente ad opera della FAAH (amide idrolasi degli acidi grassi) e della monoacilglicerolo lipasi (MAGL), enzimi che agiscono mettendo fine al legame di AEA e 2-AG, rispettivamente, con i recettori endocannabinoidi: la FAAH è localizzata principalmente a livello postsinaptico, e degrada preferenzialmente l'anandamide, mentre la MAGL è localizzata principalmente a livello presinaptico (vicino alla membrana presinaptica) e degrada il 2-AG. La rapida interruzione del segnale endocannabinoide garantisce che le attività biologiche che dipendono da questi segnali siano adeguatamente regolate (Silver, 2021).

La FAAH si trova nel citoplasma della cellula, nel reticolo endoplasmatico (ER), mentre la MAGL si trova nella membrana cellulare. Poiché lo spazio extracellulare che colma lo spazio sinaptico e circonda tutte le cellule è un ambiente acquoso, le molecole altamente lipofile (come gli endocannabinoidi) devono essere trasportate alla membrana cellulare e al citoplasma tramite molecole specifiche in grado di trasportare una sostanza lipofila attraverso un ambiente acquoso: l'attività di questi enzimi degradativi sopracitati dipende quindi dal trasporto dei loro substrati lipofili (AEA e 2-AG) verso la membrana cellulare, dove il 2-AG può essere degradato dalla MAGL, e nell'ambiente acquoso del citoplasma, fino all'ER, dove la FAAH può degradare l'AEA. La proteina legante gli acidi grassi (*Fatty Acid Binding Protein - FABP*) è la molecola proteica di trasporto necessaria a trasportare molecole lipofile ai loro siti di attivazione e degradazione. Il 2-AG utilizza le FABP per il suo trasporto retrogrado verso il recettore CB1 sulla membrana presinaptica (Silver, 2021).

Le FABP hanno anche un'affinità per i fitocannabinoidi altamente lipofili come il CBD e il THC, e sono responsabili del loro trasporto verso i recettori dei cannabinoidi. Questo meccanismo, in parte, spiega come CBD e THC riescano a competere per l'*uptake* dell'anandamide da parte della FABP e, così facendo, possano aumentare l'emivita sierica degli endocannabinoidi (spiega dunque la capacità del CBD/THC di potenziare la segnalazione endocannabinoidale dell'organismo) (Silver, 2021).

È stato visto che ad alti livelli micromolari, il CBD inibisce l'*uptake* e la degradazione enzimatica dell'anandamide tramite la FAAH, aumentando le concentrazioni extracellulari di anandamide e potenziandone così, indirettamente, l'attività di segnalazione (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

L'anandamide si comporta come un agonista parziale sia per i recettori CB1 che per i CB2, ma ha un'affinità maggiore per i recettori CB1: la sua attività intrinseca sui recettori CB1 è da 4 a 30 volte superiore a quella sui recettori CB2. Agisce come agonista parziale del recettore vanilloide (TRPV1) e mostra affinità di legame per GPR55, GPR119, recettori attivati dai proliferatori dei perossisomi (PPAR α , β e γ) e forse per il recettore toll-like 4 (TLR4). I suoi metaboliti secondari e terziari impartiscono effetti fisiologici attraverso i recettori EC, e attraverso altri recettori con cui si formano eteromeri (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

Il 2-AG è un agonista completo sia per i recettori CB1 che per i recettori CB2, e presenta un'affinità minore rispetto all'anandamide sia per i recettori CB1 che per i CB2 (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

Entrambi gli endocannabinoidi hanno dimostrato di agire anche nei confronti di recettori non endocannabinoidi e canali ionici: possono attivare anche altre vie indipendenti dai recettori dei cannabinoidi, come il sistema dei recettori di TRPV1 e HT51 (Silver, 2021).

Formano eteromeri con altri sistemi di recettori accoppiati a proteine G (GPCR). Funzionano come neurotrasmettitori, neuromodulatori e immunomodulatori (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

Esistono anche altre molecole endogene che esercitano effetti cannabimimetici: tra queste, la palmitoiletanolamide (PEA) e l'oleoiletanolamide (OEA) (Silver, 2021).

L'ECS è intimamente coinvolto nella regolazione della maggior parte degli aspetti della fisiologia animale. Il recettore dei cannabinoidi CB1 è il recettore a G-protein più comune nel cervello umano e in molti altri organi (Silver, 2021).

I recettori endogeni

L'identificazione della famiglia dei recettori accoppiati a proteine G e la scoperta dei recettori endocannabinoidi sono state possibili grazie all'avvento della tecnologia analitica cromatografica tra la fine degli anni Settanta e l'inizio degli anni Ottanta (Silver, 2021).

Ognuno dei due recettori dei cannabinoidi è caratterizzato da una distribuzione anatomica spaziale distinta e unica, con variazioni nelle singole specie. Sia il CB1 che il CB2 sono presenti contemporaneamente in alcuni tessuti, fornendo, a questo livello, effetti diversi ma sinergici (Silver, 2021).

In generale, il recettore CB1 è localizzato principalmente nel SNC, ed è presente in concentrazioni molto più basse nella maggior parte dei tessuti e delle cellule periferiche (ad oggi, le localizzazioni anatomiche identificate per il recettore CB1 includono cuore, vasi sanguigni, fegato, polmoni, apparato digerente, grasso e cellule spermatiche). Il recettore CB2 è presente in concentrazioni maggiori nel sistema immunitario ed emopoietico, ma in generale sono stati identificati recettori CB2 a livello di cervello, intestino, miocardio, endotelio, muscolo liscio vascolare, cellule di Kupffer, pancreas esocrino ed endocrino, ossa, organi e cellule riproduttive, e anche in vari tumori (Silver, 2021).

I recettori CB2 nel sistema immunitario possono modulare il rilascio di citochine. L'inibizione della adenilato ciclasi deriva dall'attivazione dei recettori CB2 dei linfociti da parte dei cannabinoidi. A sua volta, questo riduce le risposte cellulari e umorali nell'ambito della risposta immunitaria. I recettori CB1 e CB2 diminuiscono l'attività della adenilato ciclasi e la via del

cAMP. L'attivazione dei linfociti provoca cascate di proteine chinasi attivate da mitogeni (MAPK), modulazione dell'attività dei canali ionici, e variazione dei livelli di calcio intracellulare. Anche l'attivazione dei canali del potassio è un meccanismo di segnalazione per il recettore CB2 (Silver, 2021).

I recettori CB1 sono collegati tramite $G_{i/o}$ all'inibizione della adenilato ciclasi e dei canali del calcio voltaggio-dipendenti e all'attivazione dei canali GIRK del potassio, determinando così un'iperpolarizzazione della membrana. Questi effetti sono simili a quelli mediati dai recettori oppioidi. I recettori CB influenzano anche l'espressione genica, sia direttamente, attivando la proteina chinasi mitogena, sia indirettamente, riducendo l'attività della proteina chinasi A come conseguenza della riduzione dell'attività della adenilato ciclasi (Ritter, et al., 2020).

L'endocannabinoidoma

Il gruppo di molecole e di recettori che compongono il sistema endocannabinoide classico fanno parte di una famiglia più ampia di molecole di segnalazione e promiscuità recettoriale definita "Endocannabinoidoma". Si tratta di composti che non fanno parte specificamente del sistema endocannabinoide, ma hanno un effetto di segnalazione incrociata con l'ECS. Si è scoperto che agiscono su diversi bersagli recettoriali (GPR55, GPR18, GPR119, TRPA1, CB1, CB2, TRPV1, TRPA1, oppioidi, dopamina, serotonina (5-HT) e glicina) e bersagli non recettoriali all'interno dell'ECS. Le singole molecole dell'endocannabinoidoma, definite "composti dell'entourage" o "molecole endocannabinoidi-simili", comprendono le aciletanolamine citate di seguito (*Tabella 2*) (Silver, 2021).

Le molecole simili agli endocannabinoidi che non hanno dimostrato di legarsi ai recettori dei cannabinoidi hanno un'affinità di legame con il recettore nucleare/fattore di trascrizione attivato da proliferatori perossisomiali (PPAR α e γ). Queste molecole sono aciletanolamine di acidi grassi, come la palmitoiletanolammide (PEA) e l'oleoiletanolammide (OEA), e possono potenziare l'effetto dell'anandamide attraverso l'inibizione competitiva della FAAH, analogamente a quanto avviene con il CBD. Queste etanolamine hanno un effetto modulatore allosterico su un altro sistema recettoriale: il recettore canale vanilloide (*Transient Receptor Potential Vanilloid 1 - TRPV*). L'effetto che queste molecole hanno, all'interno dell'ECS, di potenziare gli effetti o i livelli sierici degli endocannabinoidi, è stato definito "Effetto Entourage" (Silver, 2021).

ENDOCANNABINOIDS	ENDOCANNABINOID-LIKE COMPOUNDS	PHYTOCANNABINOIDS	SYNTHETIC CANNABINOIDS
Anandamide	Palmitoiletanolamide	Delta-9-tetrahydrocannabinol	Dronabinol
2-Arachidonoylglycerol	N-docosatetraenylethanolamine	Delta-8-tetrahydrocannabinol	Nabilone
Noladin ether	Di-homo- γ -linolenylethanolamide	Cannabidiol (CBD)	Rimonabant
Virodhamine	2-Oleoylethanolamide	Cannabinol (CBN)	Methanandamide
Arachidonoyldopamine	N-oleoylethanolamine	Cannabigerol (CBG)	JWH-0133
N-arachidonoylserine	N-eicosapentaenylethanolamine	Cannabichromen (CBC)	AM-251
Homo- γ -linolenylethanolamide	N-docosahexaenylethanolamine	Cannabivarin (CBV)	ACEA/ACPA
7,10,13,16-Docosatetraenylethanolamide	Oleamide	Cannabielsoin (CBE)	WIN 55,212-2
	N-arachidonoylglycine	Cannabitrinol (CBT)	CP 55,940
	1-Arachidonoylglycerol		HU-210
	N-arachidonoyltaurine		

Tabella 2: Distinzione tra endocannabinoidi, molecole endocannabinoidi-simili, fitocannabinoidi e cannabinoidi sintetici (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021)

Si tratta di un termine originariamente coniato da Ben-Shabat e colleghi per indicare l'effetto di potenziamento dei sottoprodotti del metabolismo endocannabinoide sulla funzione endocannabinoide a livello dei recettori CB1 e CB2: il concetto originale di "Effetto Entourage" si riferiva a uno specifico gruppo di composti endogeni, strutturalmente simili agli endocannabinoidi, che potenziavano gli effetti degli agonisti dei recettori cannabinoidi endogeni a livello di recettori cannabinoidi. In seguito, l'idea dell'effetto entourage si è

notevolmente ampliata, sia per quanto riguarda i meccanismi di interazione, sia per quanto riguarda le classi di agenti chimici (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

La definizione di Effetto Entourage si estende fino ad includere l'interazione dei componenti attivi della *Cannabis sativa L.*, ossia i fitocannabinoidi, i terpeni e i flavonoidi, e il sistema endocannabinoide (Silver, 2021).

La pianta di *Cannabis* contiene una complessa miscela di cannabinoidi (Δ^9 -THC e CBD) e terpenoidi (limonene, mircene, α -pinene, linalolo, β -cariofillene, ossido di cariofillene, nerolidolo e fitolo) derivati da un precursore comune. Diversi studi hanno affermato che l'“entourage delle piante intere è un farmaco migliore dei prodotti naturali isolati da esse”, suggerendo che gli effetti clinici dell'uso della *Cannabis* possono essere dovuti a complesse interazioni tra diversi cannabinoidi vegetali. A sostegno di questa tesi, sappiamo che il CBD può potenziare gli effetti benefici associati al Δ^9 -THC (analgesia, azione antiemetica e antinfiammatoria) e ridurre gli effetti psicoattivi (alterazione della memoria di lavoro, sedazione, tachicardia e paranoia) (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

Il meccanismo di questo effetto non è chiaro, e alcuni suggeriscono che il CBD possa essere un debole antagonista dei recettori CB1. Recenti evidenze suggeriscono che il CBD possa essere un modulatore allosterico negativo del recettore CB1, agendo quindi come antagonista non competitivo dell'attività del THC e di altri agonisti CB1. Uno studio suggerisce che il CBD possa agire anche come modulatore allosterico del recettore CB2 (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

Altri rapporti riportano potenziali interazioni sinergiche di fitocannabinoidi e fitoterpenoidi, che possono includere effetti terapeutici su dolore, infiammazione, depressione, ansia, dipendenza, epilessia, cancro, infezioni fungine e batteriche (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

Altri esempi di queste molecole sono l'arachidonoil serina (AraS), che può regolare la vasocostrizione e gli effetti dei traumi cerebrali. L'arachidonoilglicina, invece, può ridurre le sensazioni di dolore. L'oleamide è un lipide che induce il sonno e l'oleoil serina può essere utile per l'osteoporosi. Uno di questi composti dell'entourage, il palmitoiletanolamide (PEA), si concentra nel cervello in caso di lesioni. Esistono centinaia di questi composti di entourage anche nel cervello, oltre ad altri tessuti (Silver, 2021).

Nel complesso, diversi studi dimostrano interazioni funzionali (ma non molecolari definite) tra i cannabinoidi vegetali, che hanno esteso il concetto iniziale di effetto entourage ben oltre il suo intento originario (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

I fitocannabinoidi

I fitocannabinoidi sono composti terpenofenolici presenti in natura nelle piante di *Cannabis* (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Sono prodotti dalla differenziazione di diversi composti comuni di origine presenti nella pianta. Inoltre, questo termine comprende i loro derivati e prodotti di biotrasformazione. Ad oggi sono stati identificati 142 fitocannabinoidi. Nella pianta fresca, questi composti esistono in forma acida, che viene decarbossilata attraverso la rimozione di un gruppo carbossilico (COOH) mediante esposizione al calore, alla luce, all'ossigeno e a condizioni alcaline e acide (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

Tra tutte le sottoclassi di fitocannabinoidi, le due più abbondanti e studiate sono il THC e il CBD. Sebbene siano strutturalmente molto simili, CBD e THC presentano meccanismi d'azione diversi: mentre il THC è un agonista parziale dei recettori CB1 e CB2 con interazione diretta, il CBD ha un'affinità inferiore per entrambi i recettori, con una modulazione allosterica negativa indiretta del CB1. L'agonismo minimo del CBD sui recettori CB potrebbe spiegare il suo effetto psicotropo trascurabile (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Recentemente sono stati intrapresi studi su diversi fitocannabinoidi, tra cui: cannabicitolo (CBL), cannabicitromevarina (CBCV), cannabicitolvarina (CBLV), cannabielsoina (CBE), cannabivarina (CBV), cannabidivarina (CBDV), cannabitriolo (CBT), cannabitriolvarina (CBTV), cannabifurano (CBF) e cannabiripsolo (CBR). Al di là delle vie biosintetiche e degradative di base che interessano questi composti, i dati su di essi per adesso sono limitati (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

I recettori dei cannabinoidi forniscono risposte variabili a seconda della concentrazione del ligando. Quasi tutti i ligandi che interagiscono con questi recettori possono produrre una risposta parzialmente agonistica, inversamente agonistica, agonistica o antagonista. Di solito, più alta è la dose somministrata, e quindi più alta è la concentrazione del ligando a livello del recettore, più si avrà una risposta inversa o antagonista. Questa variazione della risposta recettoriale e gli effetti da sovrasaturazione sono due cause di eventi avversi che i prodotti vegetali integrali, somministrati a dosaggi bassi o moderati, non sembrano impartire (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

La complessa interazione tra dose, tipo di prodotto, concentrazione del ligando, farmacocinetica, risposta recettoriale, tono dell'ECS, reattività crociata dei recettori e reattività crociata dei metaboliti è una delle ragioni per cui è importante definire in modo accurato un dosaggio generale per questi composti (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

Un esempio di risposta legata alla dose è la sedazione: il CBD è un potente sedativo, e quando viene somministrato come isolato, la soglia di sedazione è molto più bassa rispetto a quando viene somministrato insieme al THC e a diversi altri composti della *Cannabis*, che attenuano notevolmente gli effetti sedativi del CBD (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

Metabolismo dei cannabinoidi

Il metabolismo dei cannabinoidi avviene principalmente attraverso le vie idrolitiche di FAAH e MAGL. L'anandamide viene idrolizzata dalla FAAH in acido arachidonico, etanolamina, e in prostaglandine etanolammidi infiammatorie dalla COX-2, un importante enzima infiammatorio. La MAGL, e in parte anche la FAAH, idrolizzano il 2-aracidonoilglicerolo secondo lo stesso percorso metabolico dell'AEA (Amazonas, 2021).

Sia gli endocannabinoidi che i fitocannabinoidi sono metabolizzati anche dalle vie ossidative dei CYP. Queste vie producono metaboliti sia con affinità minore che con affinità maggiore per i recettori (Amazonas, 2021).

Il tono endocannabinoide

I recettori accoppiati a proteine G (GPCR) rispondono all'attivazione da parte di un agonista, come ad esempio AEA o 2-AG, con la stimolazione dell'attivazione di proteine, l'inibizione della adenilato ciclasi, l'attivazione della proteina chinasi attivata dal mitogeno (MAPK) o la regolazione dell'attività di un canale ionico (Silver, 2021).

L'attività costitutiva si verifica quando un recettore viene attivato senza una stimolazione diretta da parte di un agonista. Ciò deriva dal fatto che altri recettori sono stati stimolati dai loro agonisti endogeni, e può essere di natura autocrina (dalla stessa cellula del GPCR) o paracrina (da una cellula vicina). La somma totale di questa attività è considerata il "tono basale" di un tessuto. L'attivazione "tonica" è l'attivazione basale, specifica di un determinato tessuto, in assenza del legame con l'agonista; l'attivazione "fasica" deriva dal legame diretto dell'agonista al sito ortosterico. L'AEA è l'endocannabinoide che regola l'attivazione sinaptica basale, mentre il 2-AG è la molecola agonista dell'attivazione fasica (Silver, 2021).

Il tono endocannabinoide, da un punto di vista più ampio, risulta dal livello di AEA e 2-AG di un individuo, che dipende dalla loro sintesi, dalla loro degradazione e dalla densità spaziale dei

recettori endocannabinoidi nell'organismo. I livelli di questi endocannabinoidi mantengono l'omeostasi e regolano il dolore, il metabolismo e quasi tutti gli altri processi dell'organismo. In caso di diminuzione del tono endocannabinoide, possono insorgere problemi clinici (Silver, 2021).

Lo sviluppo del Sistema Endocannabinoide

Tra i vertebrati, i siti anatomici e la densità spaziale dei recettori per i cannabinoidi sono caratterizzati da differenze sia interspecifiche che intraspecifiche. Ad esempio, nell'uomo i recettori endocannabinoidi sono scarsi nel tronco encefalico e nel midollo allungato (regioni responsabili del controllo di funzioni autonome vitali come la respirazione e la frequenza cardiaca), e questo è il motivo per cui la *Cannabis* ha un profilo di sicurezza così alto nella specie umana. Le prove pubblicate indicano che la *Cannabis* potrebbe non avere un profilo altrettanto sicuro per specie veterinarie come il cane, a causa dell'alta densità spaziale dei recettori CB1 nel cervelletto e nel midollo allungato in questa specie (Silver, 2021).

Sono state identificate differenze nelle sequenze proteiche del recettore CB2 di uomo, ratto e cane, e le affinità di legame del ligando endogeno per il recettore CB2, nel cane, sono state misurate come circa 30 volte inferiori rispetto ai recettori CB2 di uomo e di ratto (Silver, 2021). Il numero di recettori CB1 presenti nelle strutture del rombencefalo del cane supera di gran lunga quello trovato nell'uomo: gli studi con radioligandi hanno rilevato che un gran numero di recettori dei cannabinoidi si trovano nel cervelletto, nel tronco encefalico e nel midollo allungato. L' "atassia statica", che è una reazione neurologica al THC unica nel cane, è spiegata da questa alta concentrazione di recettori CB nel cervelletto. I recettori CB1 sono stati descritti anche nelle ghiandole salivari, nei follicoli piliferi, nella pelle e nell'ippocampo del cane (Silver, 2021).

La localizzazione anatomica del recettore CB1 nel SN normale del cane è stata determinata attraverso l'uso di analisi immunostochimiche. Studi recenti condotti su questa specie hanno confermato molti risultati precedenti ottenuti con l'immunostochimica, come l'alta concentrazione di CB1 nella materia grigia e di CB2 nel sangue e nei linfonodi. Risultati inaspettati, rispetto agli studi immunostochimici precedenti, sono stati l'elevata quantità di CB2 nelle gonadi sia maschili che femminili, e i bassi livelli di espressione di CB2 nel polmone e nel fegato, rispetto ai modelli umani e murini (Silver, 2021).

4.2 Cannabinoidi e crisi epilettiche

Mentre i primi rapporti su un possibile beneficio terapeutico delle preparazioni a base di *Cannabis* risalgono a circa il 2700 a.C., è solo nell'ultimo decennio che sono state ottenute prove da studi randomizzati in aperto e controllati con placebo che dimostrano l'efficacia anticonvulsivante del CBD in pazienti umani affetti da sindromi genetiche con convulsioni refrattarie (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

In Medicina Veterinaria, negli ultimi anni si è diffuso l'uso, non ancora supportato da evidenze scientifiche, di associare il CBD alla terapia antiepilettica di cani con epilessia refrattaria ai farmaci antiepilettici tradizionali. A questo proposito è importante tenere presente, tuttavia, che è estremamente difficile dosare con accuratezza il cannabidiolo, a causa delle difficoltà nella sua preparazione e della scarsa attendibilità dei prodotti disponibili in commercio (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Ad oggi, sono molti i prodotti a base di CBD derivati dalla canapa e dalla marijuana disponibili sia per i veterinari che per i proprietari di animali domestici. La maggior parte dei prodotti a base di *Cannabis* negli Stati Uniti sono considerati integratori, e non sono regolamentati da alcuna agenzia governativa. Questa mancanza di regolamentazione lascia spazio ad ampie variazioni nella qualità, nelle concentrazioni effettive di CBD e nella potenziale presenza di contaminanti dannosi (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

L'interesse dimostrato da veterinari e proprietari di cani per l'utilizzo del CBD a scopi terapeutici è stato confermato in un sondaggio online condotto negli Stati Uniti, che ha esaminato le opinioni e le esperienze dei veterinari sui prodotti CBD per cani. Dal sondaggio è emerso che le convulsioni erano tra le tre principali condizioni per le quali i clienti richiedevano informazioni o i veterinari avviavano una conversazione su un possibile uso del CBD. Allo stesso tempo, il sondaggio ha rivelato che il 30% dei veterinari statunitensi si sentiva a disagio nel discutere l'uso del CBD con i proprietari di cani: pochi hanno riferito di consigliare i clienti riguardo al CBD (73% mai o raramente) e ancora meno hanno riferito di raccomandare o prescrivere prodotti a base di CBD. Il motivo più comune addotto per questo atteggiamento è stato il fatto di non sentirsi abbastanza informati (Kogan, Schoenfeld-Tacher, Hellyer, & Rishniw, 2018).

Data la scarsità di informazioni disponibili sui prodotti CBD, non sorprende, in effetti, che i veterinari non si sentano sufficientemente informati sull'argomento. Vista la continua evoluzione delle leggi e dei regolamenti sui prodotti a base di *Cannabis*, nonché la scarsità di studi scientifici sull'utilizzo di tali prodotti a scopi terapeutici, ottenere informazioni accurate

sui prodotti a base di *Cannabis* è di fondamentale importanza (Kogan, Schoenfeld-Tacher, Hellyer, & Rishniw, 2018).

Cannabis e crisi epilettiche

Il sistema endocannabinoide, in particolare i recettori CB1 localizzati nel cervello e i cannabinoidi endogeni, svolge un ruolo nella modulazione dell'attività neuronale, compreso l'inizio, la propagazione e la diffusione delle crisi epilettiche (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021). Esso interagisce intimamente con i recettori neuronali, migliorando la regolazione delle crisi epilettiche e attenuando gli effetti secondari delle crisi epilettiche, quali iperemia cerebrale, alterazioni cognitive, ipertensione sistemica transitoria, ipertermia, affaticamento, indolenzimento muscolare, ecc. (Copas, Amazonas, & Brandon, 2021).

Approfondimenti sul ruolo dell'ECS hanno dimostrato, infatti, che questo viene attivato dalle crisi epilettiche, e che la *up-regulation* dei recettori CB1 nel cervello può avere effetti antiepilettici. Nel 1971, Charles Hockman ha riportato che l'esposizione a basse dosi di THC in ratti, gatti e primati può determinare un aumento delle scariche epilettiformi e dell'attività elettrica che precede le crisi e l'attività epilettiforme. Solo due anni dopo, Juhn Atsushi Wada riferì che il THC aveva un effetto protettivo nei gatti esposti a stimolazione elettrica corticale sperimentale, che a sua volta portava a una diminuzione delle crisi. L'équipe di Wada continuò la ricerca, e nel 1975 dimostrò che questi stessi effetti protettivi si manifestavano nei ratti e nei primati (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Per tutta la seconda metà del XX secolo sono stati pubblicati numerosi report scientifici (anche nel cane) che sostenevano sia l'uso della *Cannabis* come trattamento per le crisi epilettiche sia la possibilità che la *Cannabis* e i suoi componenti scatenassero o precipitassero le crisi. I report contrastanti possono essere attribuiti, almeno in parte, alla mancanza di studi scientifici randomizzati e controllati con placebo, e alle variabili confondenti (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Più recentemente, un numero crescente di studi randomizzati e controllati con placebo sono stati condotti utilizzando animali da compagnia per valutare sia il potenziale terapeutico sia i limiti dell'uso della *Cannabis* nel trattamento dell'epilessia. È importante tenere presente che le sindromi convulsive in Medicina Veterinaria non sono state approfondite tanto quanto in Medicina Umana, il che pone alcune limitazioni nell'interpretazione della letteratura scientifica (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Cannabidiolo (CBD) e crisi epilettiche

Il CBD è il cannabinoide più abbondante della pianta di *Cannabis*, ed è ritenuto superiore al THC per il controllo delle crisi epilettiche, data la sua mancanza di effetti psicoattivi, la sicurezza e la relativa efficacia dimostrata nel controllo delle crisi (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

I proprietari di animali domestici spesso optano per i prodotti a base di *Cannabis* per i loro animali perché sono naturali e generalmente percepiti come un'opzione di trattamento del dolore efficace. Pertanto, gli integratori di *Cannabis* potrebbero essere preferiti ai farmaci convenzionali. Sebbene il CBD sia promettente come terapia aggiuntiva per diverse patologie, i dati sulla sua efficacia e sicurezza a lungo termine sono limitati (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Il CBD utilizzato negli integratori per cani e gatti deriva dalla canapa (*Cannabis sativa*), che deve contenere livelli di THC inferiori allo 0,3% nell'intera pianta. Il CBD come integratore può essere somministrato sia in forma completa o ad ampio spettro, sia come isolato, che può essere estratto usando solventi a base di petrolio, etanolo o CO₂ supercritica. Lo spettro completo si riferisce a una pianta di canapa minimamente lavorata dopo la decarbossilazione e la distillazione, che ha un contenuto di CBD del 10-25% e contiene più di 100 fitocannabinoidi, insieme a terpeni, flavonoidi, acidi grassi e altri fitocomposti. Quando viene ulteriormente distillato per rimuovere il THC e concentrare il CBD al 25-80%, l'estratto viene definito ad ampio spettro. Infine, il CBD isolato contiene la molecola di CBD pura a una concentrazione >95% (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Poiché la canapa e i suoi derivati non hanno definizioni chiare come additivo alimentare da parte dell'AAFCO (*Association of American Feed Control Officials*) e il CBD non è considerato GRAS (*generally recognized as safe*) dalla FDA, attualmente può essere venduto come integratore nella maggior parte degli Stati, a condizione che non oltrepassi i confini statali e che non vengano fornite indicazioni di efficacia medica (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Modelli di convulsioni ed epilessia

Gli studi preclinici dimostrano che il CBD è efficace nell'attenuare la frequenza e la gravità delle crisi in modelli di topo e ratto con crisi indotte sperimentalmente (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Diversi modelli animali dimostrano l'efficacia dei cannabinoidi nella prevenzione delle crisi e nella riduzione della mortalità nell'epilessia, ed evidenziano cambiamenti dinamici del sistema endocannabinoide in seguito a crisi epilettiche croniche, con componenti regolatorie omeostatiche sia acute che croniche: le crisi indotte dall'acido kainico (KA) hanno aumentato i livelli di anandamide nel topo 20 minuti dopo l'iniezione, e le crisi indotte dalla pilocarpina hanno aumentato i livelli di 2-AG 15 minuti dopo l'inizio della crisi. Pertanto, l'attività epilettiforme innesca un rilascio neuroprotettivo e on-demand di endocannabinoidi (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

I modelli animali dimostrano anche che l'attivazione dei recettori CB1 riduce la gravità delle crisi: i topi con delezione condizionale dei recettori CB1 nei principali neuroni eccitatori del prosencefalo (ma non negli interneuroni) hanno manifestato crisi epilettiche più gravi indotte dal KA rispetto ai controlli *wild-type* (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

Il rilascio di endocannabinoidi, inoltre, previene la neurotossicità indotta dalle crisi. Il blocco dell'enzima catabolico degli endocannabinoidi FAAH ha aumentato i livelli di anandamide e ha protetto dalle crisi ippocampali indotte da KA e dai successivi disturbi dell'equilibrio e della coordinazione. L'inibizione sia della FAAH che del trasportatore della ricaptazione dell'anandamide nell'ippocampo di ratto ha prevenuto gli insulti eccitotossici indotti dall'AMPA *in vitro*, e la compromissione del comportamento e della memoria *in vivo* (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

Il CBD e il suo omologo cannabidivarina (CBDV) sono risultati anticonvulsivanti all'80,5% (33/41) e inefficaci al 19,5% (8/41) nel ridurre le crisi in topi e ratti. In particolare, nessuno studio ha mostrato un effetto pro-convulsivo per il CBD o il CBDV. Il CBDV ha potenziato gli effetti del fenobarbital, dell'etossimide e del valproato in due modelli di crisi epilettiche (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

L'effetto anticonvulsivante del CBD è stato dimostrato in vari modelli di crisi acute, compresi i modelli di screening tradizionali (cioè nel test con crisi epilettiche indotte da elettroshock massimale e nelle crisi indotte da PTZ). Una valutazione del CBD nel progetto di screening della terapia dell'epilessia del *National Institute of Neurological disorders and stroke (NINDS)* ha confermato questi risultati, e ha inoltre dimostrato gli effetti del CBD in un modello di crisi acuta in topi con scarsa reattività a vari AED, e in un modello murino cronico con induzione elettrica ripetuta di crisi (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Nel complesso, i test sperimentali hanno confermato effetti antiepilettici rilevanti a dosi ben tollerate in caso di crisi epilettiche focali e generalizzate. I dati sperimentali e clinici hanno motivato gli scienziati a valutare l'efficacia del CBD in vari modelli di epilessia. In questo

modo, studi su topi di laboratorio hanno rivelato un effetto rilevante in modelli di Sindrome di Dravet. Inoltre, l'attività in caso di crisi non convulsive è stata suggerita da risultati ottenuti su topi con epilessia da assenza di Strasburgo (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Sperimentazioni sull'uomo

Nel 2010, Jones e collaboratori hanno dimostrato che 100 mg/kg di CBD nell'uomo sono in grado di esercitare effetti anticonvulsivanti, e di diminuire l'incidenza delle crisi epilettiche: nello studio, infatti, l'attività epilettiforme *in vitro* e la gravità di questa *in vivo* sono state entrambe ridotte (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Nel 2018 Theile e GW pharmaceuticals hanno pubblicato il primo studio in doppio cieco, randomizzato e controllato con placebo, che ha analizzato l'effetto del CBD puro (isolato) nelle sindromi convulsive nell'uomo. Lo studio ha dimostrato che un isolato di CBD somministrato al dosaggio di 20 mg/kg/die, come trattamento aggiuntivo ai tradizionali AED, era efficace nel ridurre la frequenza delle crisi ed era ben tollerato dalla maggior parte dei partecipanti (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

In Medicina Umana, sono stati condotti studi randomizzati e controllati con placebo su pazienti affetti da tre diverse encefalopatie epilettiche e dello sviluppo, tutte caratterizzate da crisi difficili da trattare e da un alto tasso di resistenza ai farmaci:

- nei pazienti con Sindrome di Dravet, il CBD ha portato a una riduzione del 39% della frequenza delle crisi convulsive;
- nei pazienti con Sindrome di Lennox-Gastaut, la somministrazione di CBD ha determinato una riduzione significativa delle crisi di caduta;
- infine, sono stati presentati i primi dati per la sclerosi tuberosa, che descrivono una riduzione significativa delle crisi focali e generalizzate in seguito alla somministrazione di CBD (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

I *case reports* e gli studi in aperto forniscono una prima prova di basso livello che il CBD potrebbe essere efficace anche in altre sindromi epilettiche. Nel complesso, i dati clinici provenienti da pazienti umani supportano un effetto antiepilettico rilevante con efficacia contro vari tipi di crisi (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Nel 2018, la FDA ha approvato Epidiolex®, un prodotto commerciale con estratto di CBD puro al 99%, per il trattamento di rare forme di epilessia pediatrica. Nello stesso anno, la Drug Enforcement Agency statunitense ha inserito Epidiolex® nella Tabella V del *CSA (Controlled*

Substances Act), facilitandone la commercializzazione. L'interesse per l'uso del CBD per il trattamento dell'epilessia nell'uomo ha aperto l'opportunità di finanziare e sostenere ulteriori studi sugli animali, anche se l'estrapolazione dei dati tra le specie deve essere fatta con cautela (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Uno studio più recente di Szaflarski e colleghi (2019) sull'Epidiolex® nell'uomo ha rilevato che concentrazioni plasmatiche di CBD più elevate erano correlate a risposte migliori; ogni aumento di 100 mg/ml della concentrazione plasmatica di CBD era associato a una riduzione della frequenza delle crisi. La dose massima dello studio, per la valutazione dell'efficacia del CBD, era di 50 mg/kg/die. Questi dati lasciano aperta la possibilità che, per aumentare il numero di *responder* al trattamento (definito come una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi), sia necessario studiare ulteriormente dosi superiori a 2,5 mg/kg di CBD per via orale ogni 12 ore. Ad oggi, sono in corso altri studi su prodotti a dominanza di CBD, a base di CBD isolato e prodotti con proporzione CBD:THC pari a 1:1 (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Epilessia canina refrattaria ai farmaci

L'efficacia del CBD nel ridurre gli episodi epilettici nei cani affetti da IE è ancora incerta, e ad oggi ci sono più segnalazioni cliniche che studi clinici controllati (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Nel 2019, Mogi & Fukuyama hanno pubblicato un *case report* in cui il CBD è stato somministrato a tre cani con crisi epilettiche per otto settimane ciascuno, a dosi diverse di 0,51, 1,25 e 5 mg/kg/die. Il proprietario che ha somministrato la dose più bassa a un cane di grossa taglia ha riscontrato un aumento della durata del sonno, una diminuzione dell'abbaio e delle crisi epilettiche. Il cane di piccola taglia alla dose intermedia non ha avuto cambiamenti, mentre il cane di piccola taglia alla dose più alta ha avuto un netto miglioramento, mostrando minore aggressività durante il trattamento e un solo episodio convulsivo durante le otto settimane (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Due importanti studi clinici controllati hanno esplorato l'effetto del CBD nei cani con IE (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Nel 2019 McGrath e colleghi e la Colorado State University (CSU) hanno pubblicato il primo studio pilota randomizzato, in doppio cieco e controllato con placebo, al fine di valutare l'efficacia e la sicurezza del CBD come trattamento aggiuntivo in pazienti canini affetti da epilessia. Tutti i pazienti inclusi nello studio erano epilettici, con crisi refrattarie alle terapie antiepilettiche convenzionali (McGrath, Bartner, Rao, Packer, & Gustafson, 2019).

Tra gli altri, i criteri di inclusione comprendevano:

- un livello di confidenza II per la diagnosi di epilessia idiopatica;
- almeno due crisi epilettiche al mese per un minimo di 16 settimane;
- trattamento con almeno un AED convenzionale;
- concentrazioni di PB o KBr nell'intervallo terapeutico e/o somministrazione di ZNS o LEV a dosi raccomandate (McGrath, Bartner, Rao, Packer, & Gustafson, 2019).

La maggior parte dei cani ha ricevuto una politerapia con una combinazione di almeno due AED, secondo un protocollo di trattamento che doveva essere continuato senza aggiustamenti della dose per tutta la durata dello studio. Ventisei cani con epilessia idiopatica refrattaria ai farmaci sono stati arruolati con successo nello studio, e sono stati assegnati in modo casuale a un gruppo che riceveva olio infuso di CBD con somministrazione orale due volte al giorno di 2,5 mg/kg di CBD (n =12), e un gruppo placebo che riceveva lo stesso olio senza CBD (n = 14). Il numero di abbandoni è stato elevato: solo 17 dei 26 cani hanno completato lo studio (9 del gruppo CBD e 8 del gruppo placebo) (McGrath, Bartner, Rao, Packer, & Gustafson, 2019). Il ritiro è stato correlato ad aggiustamenti degli AED, a difficoltà dei proprietari nel presentarsi agli appuntamenti previsti, ad eutanasia dovuta a *status epilepticus*, e ad atassia propriocettiva generale come effetto avverso in due cani del gruppo trattato con CBD. Complessivamente, si sono ritirati dallo studio sei cani del gruppo placebo e tre cani del gruppo CBD (McGrath, Bartner, Rao, Packer, & Gustafson, 2019).

I dati sulle crisi delle 16 settimane precedenti l'inizio dello studio sono stati considerati come dati di base per il confronto con la fase di studio. Lo studio ha utilizzato un prodotto a base di olio di canapa con CBD prodotto da *Applied Basic Science Corp*. L'olio è stato somministrato ai cani a una dose di 2,5 mg/kg (cannabinoidi totali) per via orale ogni 12 ore, per un periodo di 12 settimane (McGrath, Bartner, Rao, Packer, & Gustafson, 2019).

I ricercatori hanno riscontrato che i cani del gruppo CBD hanno avuto una riduzione mediana della frequenza delle crisi del 33%. Questo risultato, sebbene statisticamente significativo, non soddisfa la definizione di *responder* al trattamento con CBD, che era definita come una diminuzione del 50% della frequenza delle crisi. Non c'era alcuna differenza statistica tra i *responder* dei gruppi CBD e placebo, secondo le conclusioni dello studio (McGrath, Bartner, Rao, Packer, & Gustafson, 2019).

Anche se la diminuzione del 33% della frequenza delle crisi non soddisfa la definizione di *responder*, va notato che questo risultato non è stato significativo soltanto da un punto di vista statistico, ma anche dal punto di vista clinico, non solo per i cani che hanno sperimentato una diminuzione nella frequenza delle crisi, ma anche per i proprietari. Le concentrazioni

plasmatiche di CBD sono state analizzate ripetutamente 4, 8 e 12 settimane dopo l'inizio dello studio. È interessante notare che è stata confermata una correlazione tra la variazione percentuale della frequenza delle crisi e i livelli plasmatici di CBD: maggiore era la concentrazione plasmatica, maggiore era la riduzione della frequenza delle crisi (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Alcune limitazioni dello studio sono state la ridotta dimensione del campione di cani che hanno completato la sperimentazione e il fatto che i dati avrebbero potuto essere analizzati come misure ripetute nel tempo per rilevare i cambiamenti individuali (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Gli autori hanno concluso che sono necessari studi di follow-up per valutare l'efficacia del CBD in popolazioni più ampie di pazienti canini con IE come base per conclusioni solide. Inoltre, hanno discusso riguardo la possibile necessità di dosi più elevate per ottenere effetti terapeutici rilevanti. In questo contesto, è importante considerare che in generale l'uso clinico degli AED si basa su una titolazione individuale a una dose efficace, se necessario, fino alla dose massima tollerata. Ciò è in contrasto con i protocolli a dose fissa spesso applicati negli studi clinici, compreso lo studio incentrato sull'uso del CBD nell'epilessia idiopatica canina (McGrath, Bartner, Rao, Packer, & Gustafson, 2019).

Più recentemente, sono stati pubblicati i risultati di un altro studio clinico randomizzato e in cieco, condotto su 14 cani con epilessia idiopatica (livello di confidenza II IVETF) o presunta idiopatica (livello I). Lo studio è stato progettato su un disegno cross-over con cani che ricevevano placebo o estratto di canapa ricco di CBD/CBDA in una preparazione di olio di sesamo. Il trattamento veniva cambiato dopo tre mesi (Garcia, Kube, Carrera-Justiz, Tittle, & Wakshlag, 2022).

Durante l'esposizione al CBD/CBDA, la frequenza delle crisi e il numero di giorni con attività convulsiva erano significativamente più bassi rispetto al periodo placebo. Il numero dei soggetti che hanno riportato una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi è stato di 6/14 nella fase di trattamento con CBD/CBDA, mentre non è stata rilevata alcuna riduzione durante la fase placebo. Ad eccezione di lievi aumenti della fosfatasi alcalina, non sono stati osservati cambiamenti nell'emocromo e nelle analisi condotte sul siero. Inoltre, i risultati hanno escluso un impatto rilevante sulle concentrazioni sieriche di PB, ZNS e KBr (Garcia, Kube, Carrera-Justiz, Tittle, & Wakshlag, 2022).

In linea con le precedenti segnalazioni, gli eventi avversi sono stati di lieve entità, con sonnolenza e atassia osservate rispettivamente in tre e quattro cani (Garcia, Kube, Carrera-Justiz, Tittle, & Wakshlag, 2022).

Potrebbe essere interessante, in futuro, mettere a punto studi per valutare l'impatto del CBD sulle comorbidità comportamentali e sulla disfunzione cognitiva nei cani con epilessia. I dati preclinici suggeriscono che il CBD può esercitare effetti ansiolitici e antidepressivi, e attenuare la disfunzione cognitiva nei roditori di laboratorio. Tuttavia, esistono prove sperimentali che dimostrano che gli effetti dipendono da vari fattori, primo fra tutti la durata del trattamento: quest'ultima, infatti, può addirittura determinare un'inversione degli effetti, con conseguente effetto ansiogeno causato dall'esposizione cronica al CBD nei ratti (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Inoltre, un recente studio controllato condotto su pazienti umani con disturbi d'ansia non ha confermato l'efficacia del CBD come terapia aggiuntiva. Sono necessarie, dunque, ulteriori ricerche precliniche e cliniche per determinare il potenziale del CBD come opzione terapeutica per le comorbidità psichiatriche e le disfunzioni cognitive associate all'epilessia (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Il CBD a dosi elevate esercita effetti neuroprotettivi che possono contribuire a trattare o ad alleviare le conseguenze deleterie dell'epilessia cronica (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Un'indagine condotta su 297 proprietari di animali domestici con cani epilettici ha mostrato che quasi la metà di queste persone utilizzava diversi integratori per ridurre le crisi o controllare gli effetti collaterali di altri farmaci, e quasi il 40% di questi integratori conteneva CBD. Il CBD è promettente come terapia aggiuntiva per i cani epilettici, e si prevede che il suo utilizzo aumenti man mano che verranno condotti ulteriori studi su dosaggio, efficacia e sicurezza a lungo termine di questo composto (Corsato Alvarenga, Panickar, Hess, & McGrath, 2023).

Tuttavia ad oggi, sulla base delle conoscenze attuali in Medicina Veterinaria, non è possibile fornire raccomandazioni chiare quanto all'uso del CBD nel trattamento dell'epilessia canina: sono necessari studi controllati e randomizzati, con campioni di ampie dimensioni, per determinare l'intervallo di concentrazioni plasmatiche terapeutiche di questo prodotto, sviluppare regimi di dosaggio basati sull'evidenza, determinare l'efficacia del CBD nell'epilessia refrattaria ai farmaci antiepilettici tradizionali, ed esplorare le potenziali relazioni tra gli effetti del trattamento e l'eziologia e il tipo di epilessia, ma anche tra gli effetti del trattamento e la combinazione di farmaci cui è sottoposto il paziente (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Meccanismo d'azione del CBD

Fino ad ora, gli esatti meccanismi di controllo delle crisi epilettiche da parte del CBD non sono stati chiariti né nei pazienti veterinari né nell'uomo (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022). Si pensa che le proprietà antiepilettiche del CBD non siano dovute solo all'interazione diretta con l'ECS, ma anche all'associazione con altri recettori paralleli e vie di segnalazione che si intersecano con l'ECS (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Lo stato attuale delle conoscenze depone contro una rilevanza funzionale dei recettori endocannabinoidi CB1 e CB2 per gli effetti anticonvulsivanti del CBD (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

In un articolo di revisione del 2020 che analizza i meccanismi proposti per l'azione anticonvulsivante del CBD, gli autori descrivono la promiscuità recettoriale del CBD, che si traduce in una modulazione funzionale dell'eccitabilità neuronale (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

La ricerca sperimentale si è concentrata su tre possibili bersagli, che potrebbero essere rilevanti per gli effetti antiepilettici del CBD. Le concentrazioni di calcio intracellulare hanno un impatto importante sul rilascio di neurotrasmettitori dalle vescicole presinaptiche, e possono dunque influenzare l'eccitabilità in misura rilevante. Sulla base di questo, è stato ipotizzato che il CBD possa limitare l'eccitabilità neuronale tramite la riduzione delle concentrazioni di calcio intracellulare presinaptico, che a sua volta impedisce un eccessivo rilascio di neurotrasmettitori (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Infatti, due dei bersagli suggeriti per il CBD sembrano essere coinvolti in una diminuzione del calcio intracellulare:

- il primo è il recettore orfano accoppiato a proteine G-55 (GPR55), che può mediare un aumento delle concentrazioni di calcio intracellulare e modulare i modelli di espressione genica. Il CBD sembra agire come antagonista del GPR55, e la prova dell'interazione tra di essi come meccanismo per gli effetti antiepilettici del CBD è stata fornita da esperimenti che hanno dimostrato che la delezione genetica limita gli effetti anticonvulsivanti del CBD in un modello di crisi acuta. Inoltre, il CBD non ha esercitato ulteriori effetti su neuroni isolati che erano stati pre-esposti a un altro antagonista GPR55 (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022);
- il secondo candidato bersaglio è il recettore vanilloide TRPV1, che media l'afflusso di sodio e calcio e può quindi potenziare l'attività sinaptica. Il CBD può agire come agonista del TRPV1, tanto da innescare una rapida desensibilizzazione recettoriale, con conseguente limitazione e *down-regulation* della segnalazione e dell'attività mediata

dal TRPV1. Recentemente, infatti, è stato riportato che l'effetto anticonvulsivante del CBD in un modello di crisi acuta è limitato nei topi TRPV1 *knock-out*. D'altra parte, un recente studio in un modello murino genetico della Sindrome di Dravet (che è una delle principali indicazioni per il CBD), ha sostenuto invece l'assenza di un'influenza rilevante nella modulazione farmacologica o genetica del TRPV1, sollevando dei dubbi sul ruolo del TRPV1 come bersaglio rilevante per il CBD come farmaco antiepilettico (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022);

- il terzo meccanismo proposto è l'inibizione della ricaptazione dell'adenosina, sulla base dei risultati di alcuni studi che suggeriscono che la riduzione dell'adenosina extracellulare può contribuire allo sviluppo dell'epilessia, e che l'adenosina può agire come anticonvulsivante endogeno, contribuendo alla cessazione delle crisi epilettiche. È stato proposto che questo effetto dell'adenosina sia mediato da un impatto sui flussi di calcio e di potassio, che da un lato possono influenzare il rilascio di neurotrasmettitori presinaptici e dall'altro contribuire all'iperpolarizzazione postsinaptica, con conseguente riduzione dell'attivazione dei recettori glutammatergici NMDA. Il CBD può aumentare

le concentrazioni extracellulari di adenosina grazie all'inibizione della ricaptazione cellulare della purina. Pertanto, è stato suggerito che l'inibizione del trasporto dell'adenosina e il relativo potenziamento della segnalazione dell'adenosina possano contribuire all'effetto antiepilettico del CBD

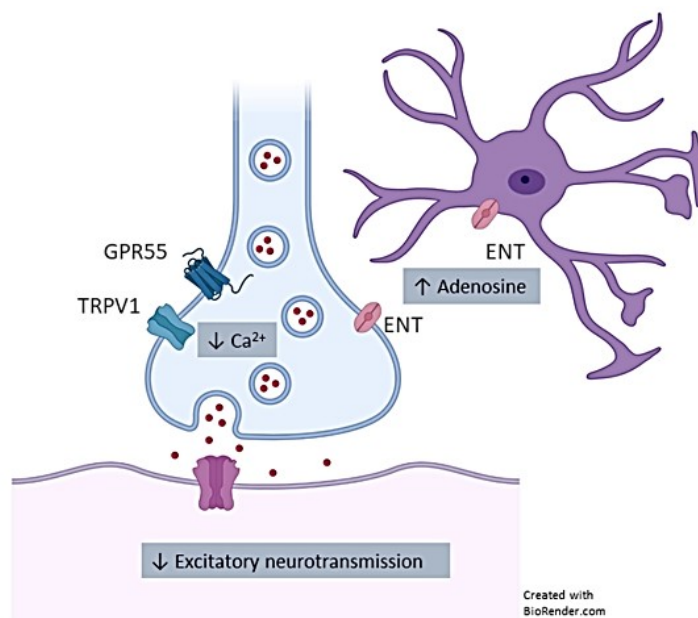


Figura 8: Meccanismi proposti per gli effetti anticonvulsivanti del CBD (ENT = Equilibrative Nucleoside Transporter) (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022)

(Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

È anche possibile che le proprietà antiepilettiche e neuromodulanti del CBD si esplicino attraverso la regolazione del calcio intracellulare tramite l'attivazione dei canali del calcio di tipo T. Il CBD potrebbe anche inibire il rilascio presinaptico di glutammato. Altri meccanismi

d'azione attualmente in fase di studio includono molecole di trasporto, enzimi e altri canali ionici (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Sono necessarie ulteriori ricerche per determinare l'esatto meccanismo d'azione del CBD (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Farmacocinetica del CBD nel cane

La maggior parte dei prodotti a base di canapa destinati al cane viene attualmente somministrata per via orale, poiché risulta pratico per il proprietario. Tuttavia, è necessario approfondire la ricerca di vie di somministrazione alternative, per ottenere effetti terapeutici positivi aggirando l'effetto di primo passaggio epatico, che risulta decisamente marcato. La biodisponibilità orale del CBD risulta bassa sia nell'uomo che nel cane, con valori che vanno dal 6% a <19%, rispettivamente. Nell'uomo, è stata segnalata la somministrazione di CBD per via rettale, transdermica, intranasale, transmucosale (ad esempio sublinguale) e per inalazione (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

L'assorbimento del CBD può essere influenzato anche da aspetti legati al prodotto specifico e alla formulazione farmaceutica, all'integrità del tessuto gastrointestinale e al volume somministrato (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Per migliorare la biodisponibilità orale, e vista la loro natura altamente lipofila, i cannabinoidi vengono spesso somministrati in formulazioni a base di olio (come perle di olio all'interno di microcapsule da somministrare PO, olio infuso di CBD PO, o crema transdermica infusa di CBD). La formulazione di olio infuso di CBD, da somministrare per via orale, è stata associata al profilo farmacocinetico più favorevole (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Il fatto che l'animale abbia mangiato oppure no, al momento della somministrazione di CBD, può essere rilevante: nel ratto, la co-somministrazione di lipidi ha dimostrato di aumentare le concentrazioni plasmatiche di THC e CBD, rispetto a formulazioni prive di lipidi, e nell'uomo la somministrazione di formulazioni a base di CBD/THC dopo un pasto ricco di grassi ha determinato una biodisponibilità del CBD notevolmente più alta rispetto a condizioni di digiuno (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

In un altro studio, condotto sul cane, una formulazione ad alto contenuto di THC ha dimostrato una biodisponibilità più bassa quando somministrata dopo il pasto rispetto a condizioni di digiuno. In conclusione, se i proprietari scelgono di somministrare prodotti a base di CBD/THC ai loro cani, il veterinario dovrebbe raccomandare la somministrazione di questi prodotti in

modo coerente rispetto al pasto dell'animale (ovvero, sempre a digiuno o sempre in corrispondenza del pasto), in modo da ridurre al minimo potenziali cambiamenti nell'esposizione ai cannabinoidi nella terapia cronica, minimizzando la possibile inefficacia o tossicità dovuta a una diminuzione o ad un aumento dell'esposizione al prodotto (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Effetti collaterali

Il CBD è generalmente ben tollerato con pochi effetti collaterali, come dimostrato da studi condotti sull'uomo e sul cane. Gli effetti collaterali più comuni riportati nei cani cui è stato somministrato CBD sono stati letargia e aumento della fosfatasi alcalina (non associato ad insufficienza epatica). Ad oggi, il significato funzionale dell'innalzamento dell'ALP è sconosciuto, anche se potrebbe essere legato al metabolismo epatico dei cannabinoidi (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Uno studio sperimentale randomizzato, in cieco, controllato con placebo, ha analizzato la sicurezza e la tollerabilità, in 20 cani Beagle sani, di dosi crescenti di tre formulazioni di olio di *Cannabis*: una formulazione contenente prevalentemente CBD, una seconda formulazione contenente prevalentemente THC, e l'ultima caratterizzata dalla presenza sia di CBD che di THC, in un rapporto 1,5:5 (Vaughn, Kulpa, & Paulionis, 2020).

L'aumento della dose della formulazione di olio a predominanza di CBD si è dimostrato sicuro quanto il placebo e più sicuro dell'aumento della dose degli oli contenenti THC. Gli oli placebo sono stati erogati fino a 10 volumi crescenti, l'olio CBD fino alla decima dose, l'olio THC fino alla decima dose e l'olio CBD/THC fino alla quinta dose. Dopo la somministrazione di dieci dosi crescenti fino alla decima dose (circa 62 mg/kg) sono stati segnalati eventi avversi: la maggior parte di questi è stata considerata lieve, e comprendeva segni gastrointestinali (nausea, emesi, diarrea), costituzionali (apatia, iperestesia) o neurologici (tremore muscolare, atassia). Le alterazioni respiratorie, dermatologiche e oculari erano rare. L'analisi del sangue ha rivelato un aumento della fosfatasi alcalina (Vaughn, Kulpa, & Paulionis, 2020).

Gli stessi autori hanno condotto, successivamente, uno studio randomizzato, in cieco, controllato con placebo, su 20 Beagle adulti sani, al fine di determinare la sicurezza e la farmacocinetica di varie dosi di CBD rispetto al placebo dopo somministrazione orale ripetuta (Vaughn, Paulionis, & Kulpa, 2021).

La somministrazione ripetuta di CBD per la durata dello studio (28 giorni) è stata ben tollerata dai cani, e non sono state rilevate alterazioni clinicamente importanti. Gli effetti avversi sono stati lievi. Rispetto alla somministrazione del placebo, la somministrazione di CBD a 12 mg/kg/die ha provocato più eventi avversi gastrointestinali (principalmente ipersalivazione) e un'attività sierica della fosfatasi alcalina significativamente più elevata. È stato dunque confermato l'aumento dell'ALP nel siero, ma non è stato rilevato alcun altro aumento concomitante dei marcatori epatici (Vaughn, Paulionis, & Kulpa, 2021).

Nel 2019, Deabold e collaboratori hanno riscontrato che una dose di 2 mg/kg di una miscela 50:50 di CBD e CBDA, somministrata due volte al giorno per 12 settimane in cani adulti sani non ha indotto un aumento degli enzimi epatici al di fuori dei normali intervalli di riferimento. I parametri ematologici e biochimici sono rimasti nell'intervallo di riferimento, e gli effetti avversi registrati sono stati soltanto lievi segni gastrointestinali. Non sono state rilevate anomalie o cambiamenti nel comportamento (Deabold, Schwark, Wolf, & Wakshlag, 2019).

Gli studi a più lungo termine presentati all'FDA per l'approvazione di Epidiolex® nel cane (della durata di 39 e 56 settimane) hanno mostrato innalzamenti della ALP e solo lievi innalzamenti della ALT a dosi di CBD superiori a 10 mg/kg. I ricercatori hanno anche notato un'ipertrofia epatocellulare che si è risolta dopo la sospensione del prodotto a base di CBD (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

In un altro studio condotto su Beagle sani (13), che si proponeva di determinare la farmacocinetica e la sicurezza di varie dosi orali di un estratto vegetale di *Cannabis* contenente un rapporto 1:20 di THC:CBD, segni neurologici (iperestesia o deficit propriocettivi) sono stati osservati in cinque dei sei cani nel gruppo ad alto dosaggio, ma solo occasionalmente o raramente nei gruppi a medio e basso dosaggio, rispettivamente. Altri eventi avversi osservati nel gruppo ad alto dosaggio includevano ptialismo (1/6 cani), incontinenza urinaria (1/6 cani) e piccole quantità di vomito (3/6 cani). I valori ematici e biochimici sono rimasti all'interno dei range di riferimento (Chicoine, et al., 2020).

Un *case report* ha documentato una inaspettata reazione, da parte di un Labrador Retriever (4 anni, maschio castrato) alla somministrazione di un prodotto a base di olio di CBD *per os*: entro cinque giorni dalla somministrazione del prodotto l'animale presentava desquamazione dei cuscinetti e ulcerazione progressiva cutanea e della mucosa. I risultati istopatologici, in combinazione con i segni cutanei, erano coerenti con la sindrome di Stevens-Johnson nei pazienti umani (Simpson, Bradley, & Schissler, 2020).

Tutte le lesioni si sono completamente risolte dopo l'interruzione dell'olio di canapa e un ciclo di 12 giorni di cefalexina e prednisone. Data la mancanza di cause alternative, inclusi altri farmaci, la reazione è stata considerata, con molta probabilità, un evento avverso correlato alla somministrazione dell'olio, anche se, come sottolineato dagli autori, ciò non consente di trarre conclusioni su un possibile rischio associato all'esposizione al CBD, dato che la preparazione dell'olio conteneva vari componenti, tra cui altri cannabinoidi, terpenoidi e olio di cocco come vettore. Ad ogni modo, a conoscenza degli autori, questo è stato il primo report di sospetta reazione avversa cutanea a un prodotto a base di olio di canapa contenente CBD (Simpson, Bradley, & Schissler, 2020).

Nelle persone, gli effetti collaterali della somministrazione di CBD includono un aumento transitorio degli enzimi epatici, sonnolenza, atassia e diminuzione dell'appetito. Le crisi epilettiche di ritorno, che si apprezzano con la sospensione improvvisa dei prodotti a base di THC, non sono state associate all'uso o alla sospensione improvvisa del CBD (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Dosaggio

Le dosi utilizzate negli studi clinici nel cane sono per lo più estrapolate da esperimenti preclinici con animali da laboratorio o dalla pratica clinica in pazienti umani o animali. Alcuni autori, tuttavia, hanno condotto in precedenza studi pilota per valutare la sicurezza di diverse dosi, vie di somministrazione e formulazioni. Secondo Hartsel e colleghi (2019), le dosi di fitocannabinoidi utilizzate negli studi clinici sembrano essere da 5 a 40 volte superiori a quelle indicate dai proprietari o dai veterinari come efficaci nel trattamento dei cani. Risposte bifasiche caratterizzate da effetti diversi, spesso antagonisti, sono state riportate con l'uso di micro e macrodosi di singoli fitocannabinoidi in studi clinici e preclinici. Quando CBD e THC vengono somministrati insieme, sono stati segnalati anche eventi avversi sinergici e potenzialmente tossici (Coelho, et al., 2021).

Le differenze individuali nell'assorbimento, nel metabolismo e nella distribuzione e le peculiarità legate ai diversi prodotti testati possono contribuire alla variazione dei livelli sierici osservati nei cani sottoposti agli stessi protocolli di trattamento con fitocannabinoidi. Inoltre, può esserci una variazione della sensibilità legata al tono endocannabinoide di ciascun paziente (Coelho, et al., 2021).

La dose ideale dovrebbe essere determinata individualmente come la dose più piccola che dimostra azione terapeutica, con il minor numero di effetti collaterali. I medici devono seguire attentamente il paziente per individuare la dose di fitocannabinoidi migliore per soddisfare le esigenze dell'individuo e per identificare i possibili effetti collaterali, compresa l'interazione con i farmaci concomitanti (Coelho, et al., 2021).

Le dosi massime che non hanno dimostrato tossicità acuta nei cani dopo una singola somministrazione sono state circa 60 mg/kg di CBD somministrato per via orale in una formulazione di olio a predominanza di CBD, 19 mg/kg di THC in una formulazione di olio a predominanza di THC e 8 mg/kg di CBD in concomitanza con 6 mg/kg di THC in un olio CBD:THC 1,5:1. McGrath e colleghi (2018) hanno indicato che l'uso di 20 mg/kg/die di CBD isolato per 6 settimane era sicuro nei cani. Sono necessari altri studi che valutino diverse dosi a lungo termine (Coelho, et al., 2021).

Interazioni farmacologiche tra CBD e AED tradizionali

Con l'aumento della disponibilità e della popolarità dei prodotti a base di CBD derivati dalla canapa e dalla marijuana, la preoccupazione per la sicurezza e il potenziale di interazioni farmacologiche è sempre presente, soprattutto nei pazienti con patologie neurologiche che spesso assumono più farmaci. Negli animali da compagnia, le interazioni con altri farmaci in generale non sono ancora state adeguatamente valutate (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021). Negli studi sull'uomo, sono state notate interazioni farmacodinamiche tra CBD e clobazam, valproato e levetiracetam, e sono state riportate interazioni farmacocinetiche per brivaracetam, clobazam, eslicarbazepina, lacosamide, gabapentin, oxcarbazepina, fenobarbital, bromuro di potassio, pregabalin, rufinamide, sirolimus/everolimus, stiripentolo, tiagabina, topiramato e zonisamide. Queste interazioni non influiscono però sull'efficienza terapeutica dei vari farmaci (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Sempre nell'uomo, la co-somministrazione di CBD con clobazam ha evidenziato un aumento medio dei livelli sierici di clobazam del 60%, e un aumento del suo metabolita N-desmetil-clobazam del 500%, in media, con conseguente sonnolenza e sedazione. Questi effetti si sono attenuati una volta diminuita la dose di clobazam. Il clobazam non è prescritto o somministrato di routine a pazienti veterinari, ma questo effetto dovrebbe essere considerato nei pazienti a cui vengono prescritte benzodiazepine come agenti primari o aggiuntivi per il controllo delle crisi (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Nello studio del 2019, McGrath e collaboratori non hanno riscontrato cambiamenti significativi nei livelli sierici di bromuro di potassio o di fenobarbital nei cani in seguito al trattamento con CBD, il che depone a sfavore di qualsiasi interazione farmacocinetica rilevante (McGrath, Bartner, Rao, Packer, & Gustafson, 2019).

Analogamente, Doran e colleghi (2022) hanno riscontrato un'assenza di interazioni farmacocinetiche significative tra CBD e fenobarbital. Gli autori hanno dunque concluso che l'aggiustamento della dose di CBD, in caso di co-somministrazione cronica di fenobarbital, non sembra essere indicato. Inoltre, sulla base della somministrazione di una singola dose di CBD, non sembra indicato un aggiustamento della dose di PB (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Nell'uomo, il CBD è un potente induttore degli isoenzimi CYP. Gli enzimi CYP metabolizzano sia i cannabinoidi che gli AED. Pertanto, l'induzione della via enzimatica da parte del CBD può aumentare il metabolismo degli AED, determinando cambiamenti nei livelli ematici di questi farmaci. Fino ad ora, nessuna ricerca veterinaria pubblicata ha dimostrato una variazione dei livelli di PB quando questo viene co-somministrato con il CBD. Sono necessari ulteriori studi sulle interazioni possibili con questo farmaco e con altri AED. Farmaci induttori del CYP, come la fenitoina e la carbamazepina, somministrati insieme al CBD possono determinare un aumento della clearance di quest'ultimo (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Sono possibili anche altre potenziali interazioni farmacologiche, dimostrate in letteratura umana ma non ancora esplorate in Medicina Veterinaria, tra cui la co-somministrazione di ketoconazolo, rifampicina e BZD. L'esperienza clinica suggerisce che il dosaggio dipende dai fluidi e dal paziente specifico (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Poiché le evidenze sono attualmente limitate per diversi AED, il veterinario dovrebbe monitorare attentamente i parametri clinici e di laboratorio quando introduce o modifica il dosaggio di CBD, qualunque sia il farmaco antiepilettico tradizionale somministrato al paziente (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Si raccomanda un aggiustamento del dosaggio per i pazienti veterinari con compromissione epatica da moderata a grave, come per qualsiasi farmaco metabolizzato dal fegato (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

In un abstract presentato al meeting annuale dell'*American Epilepsy Society* del 2018, un gruppo israeliano guidato dal Dr. Shimrit Uliel-Sibony ha presentato dati che mostrano una tolleranza al CBD in alcuni pazienti umani (~32,6%) nel corso del tempo, con tolleranza evidente dopo 7 mesi. Questo fenomeno non è ancora stato descritto nei pazienti veterinari (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Δ^9 -Tetraidrocannabinolo (THC)

Il THC è il principale cannabinoide ad effetto tossico presente nella *Cannabis*. Questo effetto, che rende la *Cannabis* (in particolare la marijuana) popolare per l'uso ricreativo negli esseri umani, la rende una scelta meno attraente per il controllo delle crisi epilettiche (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Per quanto riguarda il THC, che agisce come agonista parziale dei recettori CB1 e interagisce con altri recettori, sono stati descritti vari effetti, con diversi livelli di evidenza. Sebbene alcune di queste indicazioni possano essere interessanti anche per i pazienti veterinari, occorre considerare che l'uso veterinario del Δ^9 -THC è limitato per legge in diversi paesi. Ancora più importante, nel contesto della gestione terapeutica dell'epilessia, è sottolineare che i dati sperimentali e clinici provenienti da pazienti umani non supportano effetti terapeutici coerenti e affidabili del Δ^9 -THC sullo sviluppo delle crisi epilettiche (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Alcuni studi, infatti, hanno dimostrato che il THC può aggravare le crisi epilettiche negli esseri umani. Inoltre, è dimostrato che la sospensione improvvisa di prodotti a base di THC può avere un effetto di ritorno delle crisi nei pazienti epilettici (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

In diversi modelli di crisi epilettiche, l'esposizione prolungata al Δ^9 -THC (ma non al CBD) porta alla tolleranza all'attività antiepilettica dei cannabinoidi (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

L'astinenza di ratti a cui è stato somministrato cronicamente Δ^9 -THC provoca crisi di rimbalzo e risposte ansiose elevate in diversi studi preclinici sugli animali. Le scimmie cui è stato somministrato precedentemente Δ^9 -THC per via endovenosa dimostrano sintomi di aggressività, iperirritabilità e anoressia, oltre a un comportamento alterato. I risultati di studi sull'uomo hanno dimostrato sintomi di ansia, aggressività, disforia, irritabilità, anoressia, disturbi del sonno e sudorazione durante l'astinenza dall'uso cronico di Δ^9 -THC, che vengono risolti dalla risomministrazione di Δ^9 -THC. L'astinenza dall'uso di *Cannabis* può scatenare crisi di rimbalzo in diversi studi preclinici su animali e sull'uomo, anche se altri studi non mostrano alcun effetto proconvulsivo dell'astinenza da *Cannabis* (Rosenberg, Tsien, Whalley, & Devinsky, 2015).

Lo studio del 2020 condotto da Vaughn e colleghi ha dimostrato che una formulazione di olio a predominanza di CBD è più sicura e più tollerata, nel cane, rispetto alle formulazioni oleose contenenti concentrazioni più elevate di THC. In 20 Beagle sani cui sono state somministrate dosi crescenti di tre formulazioni di olio di *Cannabis*, contenenti prevalentemente CBD, THC o CBD e THC (1,5:1), eventi avversi moderati e gravi/significativi dal punto di vista medico si

sono manifestati come sintomi generali (letargia, ipotermia) o neurologici (atassia), e si sono verificati principalmente nei due gruppi che hanno ricevuto oli contenenti THC (CBD/olio di THC o olio di THC) (Vaughn, Kulpa, & Paulionis, 2020).

Sulla base dello stato attuale delle conoscenze e degli effetti contraddittori, pro-convulsivanti o anticonvulsivanti, descritti per questo cannabinoide, l'uso clinico del Δ^9 -THC nei pazienti con epilessia non è raccomandato (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

In Medicina Umana, studi che analizzano le conseguenze del consumo ricorrente di THC a scopo ricreativo durante l'adolescenza hanno rivelato che il Δ^9 -THC può determinare effetti dannosi di lunga durata sullo sviluppo cerebrale, con conseguenze sulla cognizione e sul rischio di disturbi psichiatrici. Sebbene non si possa escludere la possibilità che esistano differenze di specie nella sensibilità del cervello in via di sviluppo agli effetti del Δ^9 -THC, risultati sperimentali e clinici ottenuti da modelli murini e in pazienti umani suggeriscono che l'esposizione al Δ^9 -THC dovrebbe essere evitata soprattutto nei cani giovani (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Considerando questi aspetti, si raccomanda di controllare attentamente il contenuto di Δ^9 -THC nei preparati di CBD derivati dalla *Cannabis*. La rilevanza di questa raccomandazione è ulteriormente supportata da casi, in Medicina Umana, che riportano un peggioramento delle crisi epilettiche, atassia e alterazioni comportamentali in pazienti pediatriche che hanno ricevuto estratti di *Cannabis* arricchiti di CBD con un contenuto di Δ^9 -THC di circa il 3-4%. In Medicina Veterinaria, l'ingestione accidentale di Δ^9 -THC può essere causa di intossicazione nel cane, i cui sintomi comprendono alterazioni comportamentali con letargia, vomito, diarrea, bradicardia, ipotermia, tremore muscolare e atassia (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

In uno studio pubblicato da Whalley e colleghi nel 2018, i ricercatori hanno cercato di indurre attività convulsiva in modelli di ratto e di cane. Hanno preferito i topi di sesso femminile a quelli di sesso maschile, poiché in uno studio precedente era stato riportato che questi ultimi avevano una maggiore frequenza di convulsioni indotte dal THC. Lo studio ha utilizzato anche 20 Beagle maschi e 20 femmine allevati appositamente per il trattamento allo stato stazionario di 52 settimane (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

I cani hanno ricevuto PO dosi fino a 27 mg/kg di THC con 25 mg/kg di CBD. Questo studio a lungo termine e ad alte dosi non ha prodotto convulsioni nel modello canino. I segni clinici osservati nel gruppo di cani in trattamento comprendevano: ptialismo, ipoattività, atassia, tremore, respirazione addominale, tachipnea, decubito laterale, reflusso al momento della somministrazione, vomito, feci molli o liquide e disidratazione (Williamson, Jarboe, & Weaver,

2021). È interessante notare che i cani sembrano avere una minore sensibilità agli effetti pro-convulsivanti del THC rispetto ai ratti (Potschka, Bhatti, Tipold, & McGrath, 2022).

Altri cannabinoidi

L'acido tetraidrocannabinolico (THCA) e l'acido cannabidiolico (CBDA) hanno dimostrato, in studi preliminari, di esercitare un certo effetto anticonvulsivo, e sono stati utilizzati per le loro proprietà antiepilettiche in alcune parti del mondo. Questi cannabinoidi acidi non hanno effetti intossicanti, tuttavia le loro proprietà antiepilettiche non sono state studiate quanto quelle del CBD o del THC. Occorre prestare attenzione quando si maneggia il THCA, poiché l'esposizione al calore o a condizioni aride, anche se accidentale, può decarbossilare la molecola, convertendola in THC. Anche il CBDA può convertirsi in CBD in queste stesse condizioni, ma gli effetti negativi secondari a questa conversione sono minori (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

La cannabivarina (CBV) è un altro composto che non causa tossicità, presente in piccole quantità nella *Cannabis*. È stato dimostrato che esercita effetti antiepilettici in modelli di crisi indotti sperimentalmente. Come per il CBD, si ritiene che il suo meccanismo d'azione si basi su un'interazione diretta con l'ECS. La sua interazione con recettori canale TRP (*Transient Receptor Potential Channels*) e l'interazione con la sintesi dell'endocannabinoide 2AG non è stata ancora pienamente compresa, né si sa se o come queste attività contribuiscano all'effetto antiepilettico (Williamson, Jarboe, & Weaver, 2021).

Conclusioni

Data la somiglianza di base del sistema endocannabinoide tra le specie, è possibile che i benefici ampiamente riportati negli esseri umani trattati con farmaci a base di canapa possano essere riscontrati anche nel cane. Gli studi pubblicati fino ad ora indicano che l'uso di basse dosi di isolati di CBD o di formulazioni ricche di CBD può essere sicuro ed efficace nel trattamento dell'epilessia. Nella maggior parte degli studi, i cani hanno richiesto dosaggi compresi tra 1 e 2 mg/kg di CBD per dose, somministrati per via orale, ogni 12 ore (Coelho, et al., 2021).

L'uso di formulazioni con alti livelli di THC comporta un rischio maggiore di intossicazione ed effetti indesiderati. La qualità del prodotto, attestata da analisi, dovrebbe essere attentamente

considerata. Per formulare raccomandazioni specifiche sulle terapie a base di canapa nel cane (dosaggio, sicurezza a lungo termine ed efficacia in diverse patologie), sono necessari più studi rigorosi su larga scala e in doppio cieco (Coelho, et al., 2021).

5. SUPPORTO DIETETICO

5.1 Dieta e crisi epilettiche

Introduzione

In Medicina Umana, la storia dell'utilizzo di regimi dietetici nella gestione dell'epilessia ha inizio nel 500 a.C. Sulla base di numerose evidenze scientifiche che dimostrano che la nutrizione può svolgere un ruolo importante anche nel trattamento dell'epilessia idiopatica nel cane, nell'ultimo decennio si è sviluppato un crescente interesse per questo tema anche in Medicina Veterinaria (Verdoodt, et al., 2022).

Report recenti hanno indicato, infatti, l'importanza della nutrizione specializzata, come la dieta chetogenica, la dieta ipoallergenica e l'integrazione di acidi grassi, come strategie di trattamento nuove o alternative per l'epilessia canina (Volk, The pharmaco-resistant patient: when things get complicated, 2018).

Gli obiettivi terapeutici della nutrizione in caso di IE sono:

- garantire il sostentamento per adeguate funzioni cerebrali;
- arrestare o rallentare la progressione della malattia;
- ridurre gli effetti collaterali legati alla somministrazione degli AED e contrastare le comorbidità comportamentali (Verdoodt, et al., 2022).

L'anamnesi alimentare e una migliore comprensione dell'impatto delle diete sull'IE devono quindi essere prese in considerazione nella pratica quotidiana dei medici, idealmente in consultazione con un nutrizionista: la scelta di una dieta appropriata, infatti, deve essere fatta con cautela, in quanto alcuni componenti nutrizionali potrebbero avere un ruolo nello sviluppo delle crisi epilettiche, e potrebbero alterare la farmacocinetica dei farmaci antiepilettici (Verdoodt, et al., 2022).

Metabolismo energetico nel paziente epilettico

Il trasporto del glucosio

Normalmente, il glucosio rappresenta la fonte energetica primaria del cervello, il quale ne richiede, dunque, un rifornimento continuo. La tecnica più comune per quantificare il tasso metabolico cerebrale del glucosio è la tomografia a emissione di positroni (PET) con il fluoro-2-deossiglucosio (FDG), analogo radioattivo del glucosio: come il glucosio, l'FDG viene assorbito dal cervello attraverso i trasportatori del glucosio e viene fosforilato dall'esochinasi.

Successivamente, a causa della mancanza di un idrossile, l'FDG-6-fosfato viene in gran parte intrappolato, e non viene ulteriormente metabolizzato dalla glicolisi (Han, et al., 2021).

Si ritiene che il livello di radiazioni emesse dall'FDG e dai suoi metaboliti indichi il tasso di glicolisi, poiché l'esochinasi è l'enzima che limita il tasso di glicolisi. Pertanto, i bassi segnali osservati durante PET con FDG sono interpretati come un basso utilizzo del glucosio e/o un "ipometabolismo", di solito connessi ad anomalie morfologiche nelle aree cerebrali epilettogene (Han, et al., 2021).

In genere, nel periodo interictale, i segnali FDG-PET delle aree cerebrali epilettogene sono più bassi rispetto alle controparti sane, anche se non vi sono danni in queste aree. Questo suggerisce la probabilità che nel paziente epilettico si verifichino alterazioni del metabolismo del glucosio cerebrale. Nel modello di epilessia del lobo temporale nel ratto con pilocarpina e litio, la FDG-PET ha mostrato aree limbiche ipometaboliche nel periodo cronico epilettico (Han, et al., 2021). Anche altri modelli di epilessia nei roditori hanno mostrato bassi segnali derivati dall'FDG nelle aree associate al comportamento convulsivo. In Medicina Umana, la FDG-PET è stata utilizzata persino per localizzare i *foci* epilettogeni (al fine di valutare se la rimozione chirurgica di queste aree era fattibile), così come in alcune razze di cane (Han, et al., 2021).

All'interno del ciclo di Krebs, i carboni derivati dal glucosio forniscono gli intermedi del ciclo, che sono anche i precursori per la biosintesi di lipidi, aminoacidi e neurotrasmettitori, fondamentali per il ricambio delle proteine e dei lipidi che rientrano nei componenti strutturali del cervello e che contribuiscono alla riparazione dei danni dopo le crisi epilettiche (o altri eventi potenzialmente dannosi) (Han, et al., 2021).

In diversi modelli di epilessia cronica nei roditori è stata riscontrata una carenza di intermedi glucosio-derivati e di metaboliti del ciclo di Krebs. È probabile che ciò si traduca in un deficit nella produzione di ATP attraverso la fosforilazione ossidativa, e in una ridotta capacità di turnover degli aminoacidi e dei lipidi, compresa la conversione glutammato-glutammina (Han, et al., 2021).

Inoltre, nelle persone affette da epilessia, sono stati descritti un alterato metabolismo ossidativo del glucosio, disfunzioni mitocondriali e mutazioni all'interno dei costituenti mitocondriali, che possono anche aggiungersi agli squilibri energetici che contribuiscono alle crisi epilettiche. Le alterazioni funzionali e strutturali della catena di trasporto degli elettroni descritte nelle persone epilettiche e nei modelli di epilessia nei roditori sono tipicamente accompagnate da stress ossidativo (Han, et al., 2021).

Inoltre, lo stress ossidativo può causare una riduzione dell'attività degli enzimi del ciclo di Krebs, poiché molti di questi enzimi sono particolarmente sensibili all'ossidazione a causa della loro struttura (Han, et al., 2021).

Nel complesso, i dati disponibili evidenziano che il metabolismo energetico cerebrale è compromesso nei *foci* epilettogeni. Viene suggerita, infatti:

- compromissione della glicolisi a partire dal glucosio plasmatico;
- diminuzione dell'attività del ciclo di Krebs con ridotto ingresso di carboni derivati dal glucosio, che almeno in parte sembra essere dovuto alla diminuzione dell'attività della PDH;
- diminuzione della produzione dei precursori biosintetici di aminoacidi e lipidi, che può influire sull'integrità strutturale del tessuto cerebrale e sui suoi processi di riparazione (Han, et al., 2021).

L'alterazione del metabolismo energetico locale può quindi essere associata alla genesi e alla propagazione delle crisi epilettiche, ed essere causa di farmaco-resistenza. La mancanza di energia dovuta a un metabolismo del glucosio alterato e ridotto può portare a cambiamenti nel potenziale della membrana cellulare, alla creazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e a cambiamenti nell'attività della sinapsi e del trasportatore del glutammato, con conseguente abbassamento della soglia epilettogena (Verdoodt, et al., 2022).

Questi cambiamenti potrebbero anche spiegare le comorbidità associate alla malattia, come l'ansia e i deficit cognitivi (Han, et al., 2021).

Carenza di energia e crisi epilettiche

I segnali più bassi osservati con gli analoghi del glucosio nelle aree cerebrali epilettogene indicano che il trasporto di glucosio e la fosforilazione del glucosio derivato dal plasma da parte dell'esochinasi sono ridotti. Tuttavia, le aree con attività epilettica richiedono una grande quantità di energia, poiché vi è un'elevata attività elettrica, che può essere registrata come "picchi interictali", ossia un'attività neuronale extra-elevata tra le crisi. Pertanto, in base al ridotto utilizzo di glucosio plasmatico, è probabile che si verifichi un deficit energetico (Han, et al., 2021).

La maggior parte dell'energia nel cervello è necessaria per mantenere l'equilibrio degli ioni e dei neurotrasmettitori durante la segnalazione sinaptica e anche negli stati di non segnalazione del cervello, coinvolgendo in larga misura la pompa sodio-potassio e i trasportatori del glutammato, che sono energia-dipendenti. Ciò è fondamentale per mantenere stabili i potenziali

di membrana neuronali e controllare l'attività sinaptica. Pertanto, è probabile che i deficit energetici riducano l'attività della pompa sodio-potassio e/o di altri importanti trasportatori omeostatici, come i trasportatori del glutammato, che possono contribuire all'ipereccitazione neuronale e alla conseguente genesi di crisi epilettiche (Han, et al., 2021).

Inoltre, molti disordini metabolici genetici sono associati a crisi epilettiche, come la carenza del principale trasportatore del glucosio 1 (GLUT1), il trasportatore responsabile della captazione del glucosio nel cervello (Han, et al., 2021).

Nel complesso, come sottolineato da una recente revisione, l'ipometabolismo del glucosio riscontrato nelle aree cerebrali epilettogene fornisce la base per l'uso di fonti energetiche ausiliarie che forniscano energia al cervello per mantenere la normale segnalazione neuronale e prevenire la genesi di crisi epilettiche. Idealmente, queste fonti energetiche dovrebbero entrare direttamente nel ciclo di Krebs e bypassare le reazioni enzimatiche della PDH che sembrano essere compromesse. Pertanto, i corpi chetonici o gli acidi grassi a catena media (MCFA) rappresentano buone opzioni, dato che il loro metabolismo è indipendente dall'attività della PDH, e visto che possono essere integrati attraverso la dieta (Han, et al., 2021).

Ad esempio, gli acidi ottanoico e decanoico sono MCFA che possono derivare dagli MCT (*Medium Chain Triglycerides*), i quali sono esteri del glicerolo contenenti MCFA con una catena di lunghezza compresa tra sette e dodici carboni (Han, et al., 2021).

Molte altre considerazioni dietetiche possono essere importanti quando si tratta di pazienti con epilessia. Queste includono la composizione corporea, la distribuzione dei macronutrienti nella

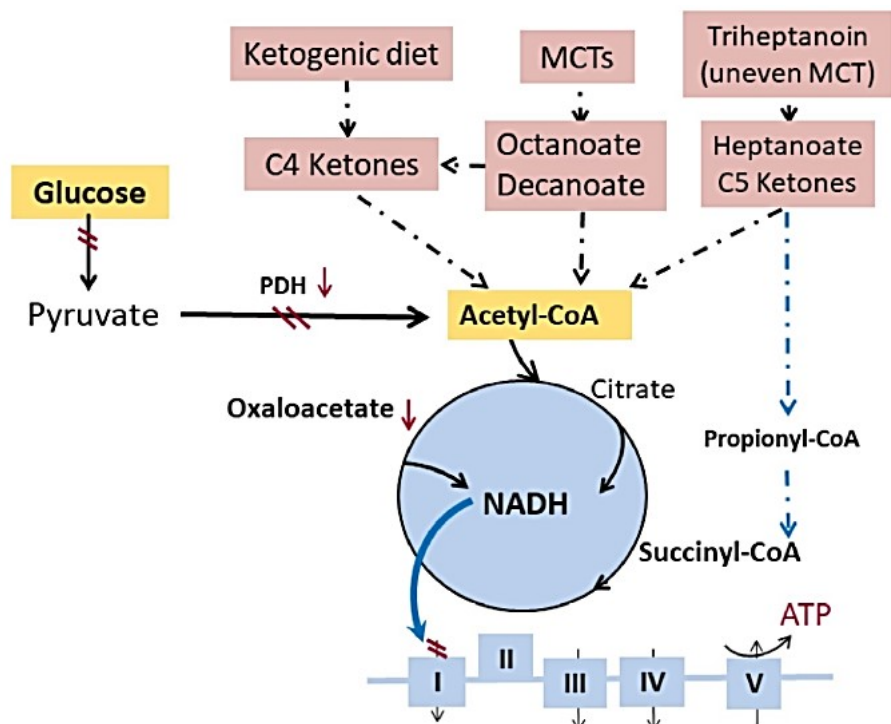


Figura 9: Fonti energetiche ausiliarie e alternative e fonti di carbonio per il cervello (Han, et al., 2021)

dieta (la proporzione di calorie da proteine, grassi e carboidrati), l'integrazione di acidi grassi omega-3, la quantità di cloruro nella dieta e il possibile ruolo delle allergie alimentari (Tynes & Landsberg, 2021).

Diete chetogeniche e diete arricchite di trigliceridi a catena media

L'uso di manipolazioni dietetiche, come le diete chetogeniche (KD), per prevenire le convulsioni negli esseri umani con epilessia, è stato introdotto per la prima volta negli anni '20, con l'obiettivo principale di emulare i cambiamenti biochimici associati al digiuno (Pilla, et al., 2020).

In quegli anni, infatti, la KD era spesso utilizzata in Medicina Umana come trattamento per l'epilessia resistente ai farmaci, ma con la scoperta di nuove opzioni terapeutiche è diventata meno popolare. Da allora, nonostante lo sviluppo di una serie di nuovi AED, la percentuale di pazienti resistenti ai farmaci non è migliorata in modo significativo, tanto che ad oggi c'è nuovamente un crescente interesse per le KD (Verdoodt, et al., 2022).

C'è stato un flusso consistente di letteratura scientifica che conferma gli effetti antiepilettici posseduti da diversi metodi dietetici chetogenici e, di conseguenza, un progressivo sviluppo di diverse ipotesi che ne spiegano il meccanismo d'azione terapeutico (Pilla, et al., 2020).

Sono state create diverse diete chetogeniche ad uso clinico, in particolare per i bambini affetti da epilessia (Verdoodt, et al., 2022).

Le diete chetogeniche hanno dimostrato la loro efficacia nel ridurre la frequenza delle crisi in persone con epilessia e in modelli animali di epilessia. I corpi chetonici (acetone, acetoacetato e beta-idrossibutirrato) sono in grado di sostenere il 60% del fabbisogno energetico del cervello, e hanno dimostrato di essere aumentati nel cervello dei pazienti che consumano una KD. Il cambiamento del metabolismo cerebrale è una delle spiegazioni per cui la KD può migliorare il controllo delle crisi (Volk, The pharmaco-resistant patient: when things get complicated, 2018).

La KD classica è caratterizzata da un alto contenuto di grassi, un basso contenuto di proteine e un basso contenuto di carboidrati, tipicamente con rapporti di 2:1 tra grassi e proteine, e 4:1 tra grassi e carboidrati. Questa dieta nell'uomo provoca chetosi (Verdoodt, et al., 2022).

Infatti, in questo caso i livelli di glucosio nel sangue rimangono nell'intervallo inferiore di riferimento, e il fegato utilizza gli aminoacidi e i grassi per produrre acido acetoacetico e acido

β -idrossibutirrico. In tali condizioni, il cervello dei roditori e dell'uomo utilizza questi corpi chetonici come combustibile, riducendo l'utilizzo di glucosio a questo scopo (Han, et al., 2021). La dieta chetogenica originale è stata utilizzata per molti anni con successo nei bambini con epilessia resistente ai farmaci, consentendo persino la riduzione o la cessazione degli AED in alcuni pazienti. La dieta è efficace anche nei pazienti adulti, ma la compliance alla KD tradizionale è scarsa a causa dell'elevato contenuto di grassi e di carboidrati (Volk, *The pharmacoresistant patient: when things get complicated*, 2018).

La KD umana originale può indurre la chetosi nelle persone, ma non altrettanto facilmente nei cani (Volk, *The pharmacoresistant patient: when things get complicated*, 2018). Nel cane, infatti, è stato dimostrato che è difficile raggiungere uno stato chetogenico, probabilmente a causa di un uso periferico più efficiente dei corpi chetonici (Verdoodt, et al., 2022).

Una KD tradizionale ad alto contenuto di grassi e basso contenuto di carboidrati/proteine non è riuscita a migliorare il controllo delle crisi nei cani. I suoi effetti nel cane sono quindi discutibili. Una KD più promettente è quella basata sui trigliceridi a catena media (MCTD - *Medium Chain Triglyceride Diet*), che ha migliorato il controllo delle crisi nella maggior parte dei casi. Gli MCT hanno un'elevata resa chetogenica che può migliorare il metabolismo cerebrale. Inoltre, l'acido valproico, un AED, è un MCT, e si pensa che i suoi metaboliti e altri MCT possano avere un effetto antiepilettico simile (Volk, *The pharmacoresistant patient: when things get complicated*, 2018).

Questo tipo di dieta è stata introdotta per consentire ai pazienti di consumare quantità maggiori di carboidrati e proteine. Nella sua versione originale, il 50-65% dell'apporto energetico è costituito da MCT, ma un'altra versione utilizza solo il 30% di MCT (Han, et al., 2021).

I trigliceridi a catena media hanno da sei a dodici carboni (Verdoodt, et al., 2022).

Gli MCT aggiunti rilasciano MCFA (acidi grassi a catena media), soprattutto acido ottanoico e decanoico, che nel fegato possono essere rapidamente trasformati in corpi chetonici (Han, et al., 2021).

L'acido ottanoico (ovvero l'acido caprilico, caratterizzato da 8 carboni) e l'acido decanoico (ovvero l'acido caprico, con 10 carboni) sono gli MCFA più importanti per il metabolismo e la funzione cerebrale, in particolare come fonte di corpi chetonici e come responsabili del miglioramento della funzione mitocondriale del cervello (Verdoodt, et al., 2022).

Soprattutto gli MCT arricchiti in ottanoato sono noti per il loro effetto di aumento della produzione di corpi chetonici (Han, et al., 2021).

Rispetto agli LCFA (gli acidi grassi a catena lunga), gli MCFA hanno un rendimento chetogenico più elevato, possono attraversare facilmente la barriera emato-encefalica (BBB) e

sono efficacemente metabolizzati negli astrociti cerebrali (Verdoodt, et al., 2022). È stato dimostrato, ad esempio, che l'acido decanoico passa facilmente la barriera ematoencefalica, e che il 60-80% della sua concentrazione sierica arriva al cervello (Volk, *The pharmaco-resistant patient: when things get complicated*, 2018).

Inoltre, gli MCFA vengono metabolizzati efficacemente nel fegato e inducono la produzione di corpi chetonici senza la necessità di un'elevata restrizione di carboidrati. Questo è vantaggioso perché i carboidrati negli alimenti per animali domestici sono importanti per le loro proprietà tecnologiche nella produzione di crocchette secche e come fonte di energia (Verdoodt, et al., 2022). Uno degli effetti collaterali di una KD classica, la pancreatite, non è stata riportata nella MCTD (Verdoodt, et al., 2022).

Un'altra versione della dieta chetogenica originale è la dieta Atkins modificata, che consente di ridurre le grandi quantità di grassi. Attualmente, le versioni delle diete chetogeniche utilizzano diversi rapporti tra grassi e carboidrati/proteine, come ad esempio 3:1 e 2:1. Due recenti meta-analisi di numerosi studi clinici prospettici hanno riportato un'efficacia del 50-65% circa di queste versioni di diete chetogeniche originali e modificate nel trattamento di varie epilessie dell'adulto e dell'infanzia. Nei bambini con alcuni tipi di epilessia, la dieta chetogenica a base di MCT sembra avere un'efficacia simile a quella della dieta chetogenica classica per quanto riguarda il controllo delle crisi (Han, et al., 2021).

Il principio di una KD e di una MCTD è quello di spostare parzialmente l'approvvigionamento energetico del cervello dal glucosio (la normale fonte di energia del cervello) ai corpi chetonici, dato che, come citato in precedenza, il metabolismo del glucosio risulta alterato nel cervello epilettico. Di conseguenza, l'energia ricevuta dai corpi chetonici allevia la carenza energetica del cervello, ripristinando circa il 60% del fabbisogno energetico (Verdoodt, et al., 2022).

Dopo l'idrolisi degli MCT nel tratto gastrointestinale da parte della lipasi, gli MCFA liberi possono diffondersi direttamente nella vena porta e poi principalmente nei mitocondri del fegato, oltre che nei tessuti extraepatici. L'ottanoato e, in misura minore, il decanoato, vengono convertiti dal fegato in corpi chetonici C4. Nel cervello, gli MCFA sono metabolizzati principalmente dagli astrociti. Gli MCFA si diffondono nel cervello, e, analogamente ai corpi chetonici, possono entrare nel ciclo di Krebs senza richiedere l'attività della PDH. Nel complesso, diversi studi indicano che gli MCT e gli MCFA forniscono carburante ausiliario e possono alterare il metabolismo energetico cerebrale (Han, et al., 2021).

Nei neuroni e nelle cellule gliali, un aumento dei corpi chetonici è stato associato a un aumento dei mitocondri e della produzione di ATP, con il mantenimento del potenziale di membrana a

riposo, riduzione della produzione di ROS e modifica dei livelli di neurotrasmettitori (Verdoodt, et al., 2022).

Infatti, oltre a fornire corpi chetonici C4 come combustibile, si ritiene che le diete chetogeniche promuovano la biogenesi mitocondriale, attivino fattori di trascrizione protettivi come il recettore- γ 2 attivato dal proliferatore dei perossisomi (PPAR γ 2) e abbiano effetti antiossidanti e antinfiammatori che, insieme, sembrano limitare la genesi delle convulsioni (Han, et al., 2021).

I cambiamenti dei neurotrasmettitori osservati con una KD consistono in una diminuzione del glutammato e un aumento del GABA e del neuropeptide Y (un anticonvulsivante endogeno), a sostegno dell'effetto antiepilettico della dieta. In particolare, i corpi chetonici beta-idrossibutirrato e acetoacetato competono con gli ioni cloruro nel sito di regolazione allosterica del trasportatore vescicolare del glutammato, e inibiscono quindi il rilascio di quest'ultimo, con conseguente diminuzione del rilascio presinaptico del neurotrasmettitore eccitatorio (Verdoodt, et al., 2022).

D'altra parte, il metabolismo dei corpi chetonici porta ad una maggiore produzione di ossalacetato, che viene dirottato nel ciclo di Krebs per fornire energia cellulare. Ciò riduce la quantità di ossalacetato disponibile per la conversione del glutammato in aspartato, aumentando così la conversione del glutammato in GABA. Inoltre, l'acido decanoico può anche inibire direttamente i recettori AMPA glutammatergici e la via di segnalazione del mTORC1 (*mechanistic target of rapamycin complex 1*) (Verdoodt, et al., 2022).

Effetti anticonvulsivanti degli MCT

Gli acidi ottanoico e decanoico e i loro MCT hanno mostrato attività anticonvulsivanti in modelli di crisi acute nel ratto (Han, et al., 2021).

È interessante notare che nei modelli sperimentali di crisi epilettiche in cui è stato dimostrato l'effetto diretto di riduzione delle crisi dell'acido decanoico, alte concentrazioni di acetone o beta-idrossibutirrato non hanno avuto alcun effetto. Ciò potrebbe suggerire che l'effetto sul recettore AMPA sia il principale meccanismo d'azione di una dieta MCT. Un altro interessante potenziale meccanismo d'azione per l'acido decanoico potrebbe essere il fatto che questo regola la proliferazione mitocondriale e quindi protegge dalla disfunzione mitocondriale, che può essere osservata in caso di intensa attività convulsiva (Volk, *The pharmaco-resistant patient: when things get complicated*, 2018).

È importante tenere presente che gli studi sui roditori hanno utilizzato animali sani e "normali", senza deficit energetici cerebrali noti, e che l'entità degli effetti era piccola se paragonata a quella degli AED (Han, et al., 2021).

Non esistono studi su modelli di epilessia cronica nei roditori, che, ad oggi, risultano necessari. A differenza delle formulazioni di acido ottanoico o decanoico, per lo più pure, impiegate in molti studi pubblicati sui roditori, per le persone e i cani si utilizzano MCT che contengono miscele di ottanoato e decanoato (Han, et al., 2021).

Quanto agli studi condotti sull'uomo, nel 2013 un *case report* ha descritto un paziente adulto con epilessia resistente ai farmaci che ha sperimentato una significativa riduzione giornaliera delle crisi (96% rispetto al basale) dopo l'introduzione dell'olio MCT. Questo miglioramento si è verificato parallelamente alla titolazione dell'olio MCT per un periodo di un mese. Il paziente aveva una lunga storia di epilessia parziale resistente ai farmaci: la prima crisi sperimentata dall'uomo risaliva ai suoi cinque anni, ed egli riferiva crisi giornaliere in una media di sei al giorno, nonostante un dosaggio adeguato di levetiracetam, lamotrigina e fenitoina. Il suo regime di farmaci antiepilettici è stato spesso modificato per ottenere un migliore controllo delle crisi; l'aggiunta di tiagabina ha determinato una modesta riduzione delle sue crisi a una media di 3-4 crisi al giorno per un periodo di due mesi (Azzam & Azar, 2013).

È stato dunque introdotto l'olio MCT al 100% in forma liquida, al dosaggio di un cucchiaino due volte al giorno, da aumentare di un cucchiaino due volte al giorno ogni settimana, se tollerato. Un mese dopo, dopo aver raggiunto un dosaggio di quattro cucchiaini due volte al giorno, il paziente ha riportato una marcata riduzione delle sue crisi: queste sono diminuite a una media di una crisi ogni quattro giorni. Un ulteriore tentativo di aumentare l'olio MCT a cinque cucchiaini due volte al giorno è fallito a causa dell'eccessiva flatulenza e diarrea. Dopo sei mesi, il paziente ha continuato a segnalare una consistente riduzione delle sue crisi epilettiche, ad eccezione di 10 giorni durante i quali aveva esaurito l'olio MCT (il che rappresenta una prova a sostegno di una relazione diretta di causa-effetto tra l'assunzione dell'olio e la riduzione della frequenza delle crisi, piuttosto che un effetto placebo) (Azzam & Azar, 2013).

Uno studio recente ha valutato la fattibilità, la sicurezza e la tollerabilità del trattamento aggiuntivo dei trigliceridi dell'eptanoato (trieptanoina) rispetto ai trigliceridi dell'ottanoato e del decanoato (MCT) in 34 adulti con epilessia refrattaria al trattamento. L'ottanoato e il decanoato, come citato in precedenza, possono essere forniti tramite MCT, e l'eptanoato può essere fornito dalla trieptanoina. Tutti e tre possono produrre direttamente acetil-CoA (Borges, Kaul,

Germaine, Kwan, & O'Brien, Randomized trial of add-on triheptanoin vs medium chain triglycerides in adults with refractory epilepsy, 2019).

Dopo un periodo di riferimento prospettico di 8 settimane, i pazienti sono stati randomizzati, in doppio cieco, affinché ricevessero trieptanoina o MCT. Le dosi sono state titolate nell'arco di tre settimane fino a un massimo di 100 ml/die, da distribuire in tre pasti, mescolati al cibo. Seguiva un periodo di mantenimento di 12 settimane, prima della riduzione graduale (Borges, Kaul, Germaine, Kwan, & O'Brien, Randomized trial of add-on triheptanoin vs medium chain triglycerides in adults with refractory epilepsy, 2019).

I risultati hanno mostrato che entrambi i trattamenti erano tollerati in questa popolazione. Sebbene lo studio non fosse potenziato per determinare l'efficacia, 5 partecipanti su 11 (45%) hanno mostrato una riduzione >50% della frequenza delle crisi durante il trattamento con MCT. Solo un partecipante su dieci ha mostrato meno convulsioni durante il trattamento con trieptanoina. Tutti questi partecipanti che hanno mostrato una riduzione della frequenza delle crisi avevano crisi focali. In ciascun braccio di trattamento una persona ha mostrato il raddoppio delle crisi. I principali effetti collaterali sono stati diarrea e dolore addominale. Le variazioni del peso corporeo non sono state di rilevanza clinica (Borges, Kaul, Germaine, Kwan, & O'Brien, Randomized trial of add-on triheptanoin vs medium chain triglycerides in adults with refractory epilepsy, 2019).

Si sono verificati rari effetti collaterali sul SNC e nessun SAE (*serious adverse event*) ritenuto correlato al trattamento. Gli effetti gastrointestinali potrebbero essere limitati introducendo lentamente i pazienti ai trattamenti, ed emulsionando i trattamenti puri con gli alimenti. Anche ridurre le dimensioni delle porzioni durante i pasti e i grassi a catena lunga potrebbe migliorare la tolleranza al trattamento. Due dei partecipanti hanno mostrato un raddoppio della frequenza delle crisi e altri due sono stati ricoverati in ospedale a causa di gravi crisi. Questi eventi sono stati attentamente studiati ed è stato decretato che non era possibile determinare un rapporto di causalità con il trattamento (Borges, Kaul, Germaine, Kwan, & O'Brien, Randomized trial of add-on triheptanoin vs medium chain triglycerides in adults with refractory epilepsy, 2019).

Il fatto che la maggior parte dei pazienti, che erano già in sovrappeso o obesi, avesse guadagnato più di 2 kg di peso durante 12 settimane è motivo di preoccupazione. Se si vuole che questi trattamenti abbiano un utilizzo diffuso nella pratica clinica, è necessario sviluppare strategie per evitare l'aumento di peso. D'altra parte, l'aumento di peso nei pazienti appena trattati è un effetto collaterale di diversi farmaci comunemente usati (Borges, Kaul, Germaine, Kwan, & O'Brien, Randomized trial of add-on triheptanoin vs medium chain triglycerides in adults with refractory epilepsy, 2019).

I pazienti che avevano completato lo studio sopracitato sono stati invitati, successivamente, a prendere parte ad uno studio di estensione in aperto a lungo termine con l'obiettivo di valutare efficacia, sicurezza e tollerabilità del trattamento aggiuntivo a lungo termine (48 settimane) con trieptanoina. Obiettivo secondario era quello di valutare le dosi tollerate e i cambiamenti nella frequenza delle crisi (Borges, et al., Open-label long-term treatment of add-on triheptanoin in adults with drug-resistant epilepsy, 2020).

Ai partecipanti è stato consigliato di mescolare la trieptanoina con il cibo e di ridurre l'apporto energetico dei cibi normali (ma nessun tipo specifico di macronutrienti) al fine di evitare problemi gastrointestinali e un eccesso di apporto energetico. La maggior parte dei partecipanti (otto su dieci) non ha terminato lo studio; d'altra parte, i 10 partecipanti sono stati in grado di consumare 0,49 -1,1 ml/kg di trieptanoina al giorno per una durata di 27-513 giorni (253 giorni di media \pm 146) e nessuno si è ritirato dallo studio per problemi di tollerabilità o sicurezza (Borges, et al., Open-label long-term treatment of add-on triheptanoin in adults with drug-resistant epilepsy, 2020).

Non si sono verificati effetti avversi gravi ritenuti causalmente correlati al trattamento. I principali effetti collaterali sono stati diarrea e gonfiore. Fatta eccezione per una persona che ha guadagnato più del 10% del proprio peso corporeo, le variazioni del peso corporeo non sono state clinicamente significative. Durante il trattamento a dose piena, due partecipanti hanno sperimentato una riduzione $>90\%$ e tre partecipanti una riduzione $>50\%$ della SF (50% dei partecipanti allo studio). Tutti questi pazienti hanno sperimentato crisi focali, per lo più con perdita di coscienza (Borges, et al., Open-label long-term treatment of add-on triheptanoin in adults with drug-resistant epilepsy, 2020).

L'efficacia osservata in cinque pazienti su dieci valutati, tutti con crisi focali, fa sperare che la terapia metabolica con trieptanoina possa essere un approccio utile per controllare le crisi nei pazienti con epilessia focale resistente ai farmaci. Tuttavia, il basso tasso di ritenzione con il trattamento aggiuntivo a lungo termine (2 adulti su 10) è potenzialmente preoccupante, sebbene ci siano stati pochi effetti collaterali. Potrebbero essere necessarie formulazioni migliorate e dosaggi più bassi per migliorare la compliance a lungo termine (Borges, et al., Open-label long-term treatment of add-on triheptanoin in adults with drug-resistant epilepsy, 2020).

Un'altra opzione può essere quella di combinare gli MCT con una dieta a basso indice glicemico, che mira a mantenere livelli di glucosio nel sangue da bassi a normali. Una dieta di questo tipo incoraggia anche l'assunzione di alimenti con carboidrati complessi, ed evita quantità elevate di zuccheri semplici e carboidrati raffinati (Han, et al., 2021).

Nel complesso, questi studi clinici sull'uomo che hanno testato la tollerabilità degli MCT erano piccoli, e non progettati per testarne l'efficacia. Inoltre, la tollerabilità è stata un problema per un terzo dei pazienti. Tuttavia, esiste la possibilità che, quando gli MCT sono tollerati, possano essere un potenziale coadiuvante per la gestione dell'epilessia nelle persone. L'assenza di effetti collaterali tossici e neurocognitivi incoraggia ulteriori ricerche sugli MCT (Han, et al., 2021). Sulla base degli studi disponibili, non è ancora chiaro quale sia la formulazione di MCT ideale per prevenire la genesi di crisi epilettiche, anche se gli MCT contenenti acido decanoico sembrano essere più efficaci nei modelli di roditori *in vitro* e *in vivo*. Sarà necessario, in futuro, individuare la dose più efficace, il rapporto ideale tra acidi ottanoico e decanoico e i tipi di epilessia che rispondono meglio. È inoltre importante trovare formulazioni di MCT che siano maggiormente tollerate dall'uomo, rispetto agli oli e alle emulsioni (le polveri oppure gli MCT all'interno ad esempio di barrette o frullati potrebbero essere un'opzione) (Han, et al., 2021).

In totale sono stati pubblicati otto studi sull'uso degli MCT nei cani con IE, quattro dei quali hanno esaminato specificamente l'effetto della MCTD (MCT: 9-12% dell'energia metabolizzabile) sulla SF nei cani con IE (Verdoodt, et al., 2022).

Lo studio di Law e colleghi condotto nel 2015 ha confrontato una dieta MCTD con una dieta placebo standardizzata in cani con epilessia idiopatica sottoposti a terapia cronica con AED. Si trattava di uno studio prospettico, randomizzato, controllato con placebo e in doppio cieco della durata di 6 mesi, durante i quali i cani sono stati alimentati con dieta MCTD o placebo per 3 mesi, seguiti da un successivo cambio di dieta per altri 3 mesi. Il placebo sperimentale e le formule di prova erano crocchette estruse a secco; entrambe le formule avevano la stessa composizione di ingredienti. L'unica eccezione compositiva è stata l'aggiunta di zero MCT alla formula del placebo (e lo strutto è stato utilizzato come sostituto del grasso per garantire che le formule fossero isoenergetiche), mentre la formula del test conteneva 5,5 % MCT. Il contenuto di MCT era circa il 10% delle calorie totali della formula. L'analisi prossimale di entrambe le formule ha indicato che erano di composizione simile, ad eccezione degli MCT, in quanto la dieta placebo era priva di acidi grassi C12, C10 e C8 (Law, et al., 2015).

La frequenza delle crisi, i dati clinici e di laboratorio sono stati raccolti e valutati per ventuno cani che hanno completato lo studio. La frequenza delle crisi era significativamente inferiore quando i cani venivano alimentati con MCTD; tre cani hanno raggiunto la libertà dalle crisi, altri sette cani hanno avuto una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi, cinque cani hanno avuto una riduzione complessiva $<50\%$ delle crisi e sei cani non hanno mostrato alcuna

risposta. Anche la frequenza dei giorni di crisi era significativamente inferiore quando i cani venivano alimentati con MCTD rispetto alla dieta placebo (Law, et al., 2015).

Il consumo di MCTD ha anche determinato un aumento significativo delle concentrazioni ematiche di beta-idrossibutirrato rispetto alla dieta placebo. Non ci sono stati cambiamenti significativi, tra i gruppi, nelle concentrazioni sieriche di glucosio, fenobarbital, bromuro di potassio e nel peso (Law, et al., 2015).

Lo studio retrospettivo condotto da Masino e colleghi nel 2019 ha descritto i casi di due cani adulti maschi castrati con convulsioni documentate, che hanno ricevuto diete casalinghe per ridurre la SF. Uno dei due cani era di razza, mentre l'altro era un meticcio, e i due animali avevano diversi stili di vita e disturbi convulsivi con caratteristiche diverse (Masino, et al., 2019).

Le due diete includevano una dieta chetogenica ad alto contenuto di grassi e una dieta "integrale" parziale. Le diete differivano nel rapporto dei macronutrienti, ma entrambi i cani hanno manifestato meno convulsioni ed effetti collaterali durante il consumo di queste diete modificate rispetto alla sola terapia con AED. Inoltre, hanno ottenuto la completa scomparsa delle crisi per periodi prolungati, e hanno notevolmente ridotto o eliminato la/e dose/i giornaliera/e dei farmaci. Il contenuto di carboidrati è stato ridotto o controllato, e in un caso si è rivelato essenziale per il controllo delle crisi (l'ingestione di carboidrati pare che annullasse i benefici della dieta e facesse precipitare la crisi) (Masino, et al., 2019).

I risultati dello studio hanno sottolineato il potenziale della terapia basata sulla dieta come opzione terapeutica per le convulsioni nel cane. In questo contesto va sottolineato, naturalmente, che la transizione dietetica dovrebbe essere graduale e monitorata attentamente (Masino, et al., 2019).

Nel 2020, Molina e collaboratori hanno condotto uno studio clinico prospettico, in aperto e senza controllo con placebo, con l'obiettivo di testare sul campo l'efficacia e la tollerabilità di una dieta disponibile in commercio arricchita con il 6,5% di olio di MCT in cani (n=21) con almeno una diagnosi di IE di livello I, senza crisi a grappolo. Lo studio, della durata di 12 settimane, è stato condotto in dieci studi veterinari in vari paesi europei (Francia, Italia, Polonia, Portogallo, Spagna e Svizzera). I cani dovevano aver avuto almeno tre crisi epilettiche nei tre mesi precedenti l'inclusione nello studio, ed essere stati trattati con almeno un farmaco antiepilettico per un minimo di un anno (Molina, et al., 2020).

Ai proprietari è stato chiesto di cambiare la dieta gradualmente per un periodo di sette giorni, in modo che entro il giorno 7 i cani mangiassero il 100% della quantità raccomandata della dieta in studio, e nient'altro. La quantità di cibo somministrato è stata inizialmente consigliata

seguendo le istruzioni dell'etichetta del prodotto, con quantità giornaliere determinate in base al fabbisogno energetico metabolico calcolato secondo l'equazione energetica raccomandata dalla FEDIAF (Federazione Europea dell'Industria degli Alimenti per Animali da Compagnia) di $110 \text{ kcal} \times \text{peso corporeo}$, e ogni medico ha avuto la libertà di regolare la porzione giornaliera raccomandata in base alle condizioni domestiche, all'attività fisica e alle condizioni di salute dell'animale (Molina, et al., 2020).

La qualità della vita (QoL), l'atassia, la sedazione, la frequenza e la gravità delle crisi di ciascun cane sono state registrate dai proprietari durante tutto lo studio. La frequenza media delle crisi al mese, calcolata in media sull'intera durata dello studio, è risultata diminuita significativamente (del 32%) rispetto alla frequenza mensile delle crisi registrata nel mese immediatamente precedente alla somministrazione della dieta, e il tasso di giorni di crisi al mese è diminuito del 42%. La QoL è stata riportata da molto buona a eccellente in 20 dei 21 cani prima dell'inizio della dieta, ed è rimasta invariata durante lo studio (Molina, et al., 2020). Gli autori hanno dimostrato, con questo studio, che l'uso di una dieta arricchita con MCT come aggiunta al trattamento con farmaci antiepilettici può avere alcune proprietà antiepilettiche per i cani con diagnosi di IE (Molina, et al., 2020).

Nel 2020, Berk e colleghi hanno completato uno studio crossover multicentrico, prospettico, randomizzato, controllato con placebo e in doppio cieco della durata di 6 mesi, con l'obiettivo di valutare l'efficacia anticonvulsivante a breve termine e la tollerabilità di un olio MCT (disponibile in commercio, contenente C10 e C8), somministrato come integratore alimentare aggiuntivo a una dieta a base variabile in cani con IE trattati cronicamente con AED standard (Berk, et al., 2020).

Sono stati inclusi ventotto cani con diagnosi di livello II (IVETF) di IE, che avevano riportato tre o più crisi epilettiche nei tre mesi precedenti. La quantità media di olio calcolata sulla base del 9% del fabbisogno di ME (energia metabolica) era di 7,03 mL di olio MCT o 7,01 mL di olio di controllo, suddivisa in due porzioni al giorno aggiunte alla dieta di base. La quantità di olio è stata calcolata in base al fabbisogno energetico metabolico dei pazienti derivato dal peso corporeo metabolico. L'olio di MCT o olio di controllo sono stati integrati alla dieta dei cani per 3 mesi, seguiti da altri 3 mesi di somministrazione di olio di controllo o MCT, rispettivamente (Berk, et al., 2020).

La frequenza delle crisi e la frequenza dei giorni di crisi al mese sono risultate significativamente inferiori quando i cani sono stati alimentati con MCT rispetto al controllo: due cani hanno raggiunto la libertà dalle crisi, altri tre cani hanno avuto una riduzione $\geq 50\%$ e

dodici cani hanno avuto una riduzione <50% della frequenza delle crisi; undici cani non hanno mostrato cambiamenti nella frequenza delle crisi (Berk, et al., 2020).

Quando i cani consumavano MCT, le concentrazioni di BHB nel sangue preprandiale e postprandiale erano entrambe significativamente elevate rispetto al controllo. È stato notato anche un miglioramento nel profilo degli effetti avversi degli AED (Berk, et al., 2020).

La popolazione canina dello studio sopracitato è stata sottoposta a indagini al fine di esplorare gli effetti metabolomici alla base di un'integrazione orale di olio MCT: i cambiamenti metabolici e dei neurotrasmettitori periferici indotti dall'integrazione alimentare dell'olio MCT sono stati caratterizzati nelle urine e nel siero, grazie a metodi fisico-chimici, e sono stati inseriti in un contesto fisiologico (Berk, et al., 2022).

La principale scoperta dello studio è stata che i soggetti che dal punto di vista della SF si erano classificati come *responder* alla somministrazione di MCT, avevano una risposta metabolica diversa all'olio MCT rispetto a quei cani che avevano dimostrato miglioramenti nulli o inferiori nella frequenza delle crisi: in sintesi, il consumo di MCT ha influenzato in modo significativo il metabolismo degli aminoacidi (alanina sierica/BCAA e alanina/valina erano diminuiti rispetto all'olio di controllo) e il metabolismo dei grassi (Berk, et al., 2022).

Mentre la quantità sierica di acidi grassi totali appariva simile durante l'integrazione con MCT e olio di controllo, le quantità relative dei singoli acidi grassi differivano: il consumo di MCT ha portato ad un aumento delle concentrazioni relative di PUFA e AA (acido arachidonico) rispetto all'olio di controllo. Le concentrazioni sieriche di BHB erano significativamente più alte con MCT rispetto all'olio di controllo e al basale. Il siero dei soggetti *responder* era significativamente diverso da quello dei non *responder* non solo per concentrazioni relative più elevate di AA e acidi grassi $\Omega 6$, ma anche per concentrazioni significativamente ridotte di piruvato e TAG (Berk, et al., 2022).

Concentrazioni urinarie significativamente ridotte di istamina, glutammato e serotonina sono state trovate durante la fase MCT nei soggetti *responder*. L'analisi dei neurotrasmettitori urinari ha mostrato che sia i *responder* all'olio di MCT che i non *responder* hanno mostrato un aumento della concentrazione di GABA e un aumento del rapporto GABA/glutammato rispetto alla fase di controllo. È interessante notare che una riduzione più significativa del glutammato è stata rilevata negli MCT-R rispetto agli MCT-NR (Berk, et al., 2022).

Nel complesso, le differenze rilevate nei metaboliti sierici e nei neurotrasmettitori urinari potrebbero essere correlate tra loro tramite il metabolismo degli astrociti. Una funzione critica degli astrociti è la regolazione dell'omeostasi dei neurotrasmettitori: i neurotrasmettitori rilasciati a livello sinaptico, come il glutammato, il GABA e la glicina, vengono assorbiti dagli

astrociti, metabolizzati e rilasciati come precursori ai neuroni. Dunque queste cellule assorbono GABA e glutammato dalle sinapsi e, a loro volta, forniscono ai neuroni glutammina, un substrato essenziale per la sintesi, nuovamente, di glutammato e GABA nei neuroni. È stato ipotizzato che l'insufficiente sintesi di glutammina da parte degli astrociti sia strettamente collegata a condizioni patologiche del SNC, dato che alcuni studi hanno dimostrato che l'inibizione della sintesi di glutammina può determinare crisi epilettiche (Berk, et al., 2022).

Recentemente è stato dimostrato che gli astrociti sono il principale compartimento cellulare del metabolismo degli acidi grassi a catena media (MCFA), e questo stimola la sintesi della glutammina da parte degli astrociti. L'aumentato apporto di glutammina determinato dal metabolismo degli MCFA C8 e C10 da parte degli astrociti può portare a un'elevata sintesi neuronale di GABA, e quindi aiutare a mantenere il tono inibitorio del cervello, garantendo così un ulteriore meccanismo anticonvulsivante all'integrazione di olio MCT (Berk, et al., 2022).

Inoltre, gli MCFA possono modulare il metabolismo degli astrociti attraverso l'attivazione di sistemi navetta che forniscono carburante ai neuroni vicini sotto forma di lattato e corpi chetonici. Gli autori ipotizzano che gli astrociti possano avere un ruolo di collegamento tra l'omeostasi dei neurotrasmettitori e l'omeostasi energetica in caso di integrazione di MCT, anche se sono necessarie ulteriori ricerche per esplorare questo legame (Berk, et al., 2022).

Dato che il GABA si forma attraverso la transaminazione dell' α -chetoglutarato in glutammato, che poi subisce la decarbossilazione da parte della decarbossilasi dell'acido glutammico (GAD) per formare GABA, l'aumento osservato di GABA e la diminuzione del glutammato potrebbero dunque essere coerenti con gli studi precedenti (Berk, et al., 2022).

In sintesi, in base ai risultati di questo studio, è stato ipotizzato che gli effetti anticonvulsivanti dell'integrazione di MCT siano determinati da:

- compensazione della carenza energetica;
- influenza sull'equilibrio GABA/glutammato attraverso il metabolismo degli astrociti;
- riduzione dello stress ossidativo attraverso l'aumento dell'ATP e gli effetti neuroprotettivi sul cervello grazie all'influenza degli MCT sulle vie metaboliche (Berk, et al., 2022).

Gli autori ipotizzano che gli MCT possano migliorare le proprietà GABAgeriche indotte da farmaci antiepilettici, e quindi portare ad una ulteriore riduzione della frequenza delle crisi (Berk, et al., 2022).

Le perturbazioni metaboliche nelle urine e nel siero riflettono la risposta all'integrazione alimentare con MCT e quindi aiutano a comprendere i potenziali meccanismi fisiologici. Nel

complesso, lo studio fornisce ulteriori prove sugli effetti derivati dall'integrazione di MCT sul metabolismo lipidico ed energetico nei cani con IE. Inoltre, evidenzia che i primi biomarcatori candidati (BHB, % di AA, % di $\Omega 6$ FA, piruvato, TAG; rapporto BHB/TAG) sono di potenziale utilizzo in ambito clinico per il monitoraggio del trattamento individuale e l'adattamento personalizzato degli interventi terapeutici nutrizionali (Berk, et al., 2022).

Nel complesso, tutti i cani degli studi sopracitati erano in trattamento con AED, e non sono state apportate modifiche al trattamento medico durante la sperimentazione dietetica. La libertà dalle convulsioni è stata raggiunta nel 7-14% dei cani, l'11-43% dei cani ha avuto una riduzione di almeno il 50%, il 24-43% dei cani ha avuto una riduzione inferiore al 50% e nel 14-39% dei casi non è stata osservata alcuna riduzione della SF (Berk et al., 2020; Law et al., 2015; Molina et al., 2020) (Verdoodt, et al., 2022).

A differenza dell'integrazione di MCT a qualsiasi dieta basale, una dieta completa che includa MCT sembra avere una risposta migliore. Circa la metà dei cani ha mostrato una riduzione della SF di almeno il 50% in una MCTD completa (Law et al., 2015; Molina et al., 2020), a differenza di solo il 18% dei cani che hanno dimostrato una riduzione di almeno il 50% con l'aggiunta di MCT come supplemento (Berk et al., 2020) (Verdoodt, et al., 2022).

L'interazione tra i nutrienti potrebbe svolgere un ruolo in queste differenze: ad esempio, il contenuto proteico potrebbe interferire con il trasporto degli MCT al fegato attraverso l'albumina, ed è importante tenere presente che un'elevata quantità di grassi nella dieta richiede un aumento degli antiossidanti. L'ampia gamma di diete di base incluse nella sperimentazione con l'integrazione di MCT (cibo secco, cibo cotto in casa, cibo crudo e combinazioni di queste con o senza cibo umido) rende impossibile trarre conclusioni sulle interazioni tra i nutrienti in questa popolazione (Verdoodt, et al., 2022).

L'uso di integratori di MCT può tuttavia essere una valida alternativa per i cani che hanno esigenze dietetiche aggiuntive per altre patologie come l'obesità, le malattie renali o l'urolitiasi (Verdoodt, et al., 2022).

Altri effetti anticonvulsivanti proposti per gli MCFA

Oltre a fornire fonti energetiche aggiuntive, gli MCFA e i corpi chetonici hanno anche altre azioni non metaboliche che possono contribuire ai loro effetti anticonvulsivanti. Come visto da alcuni studi sopracitati, il metabolismo dei corpi chetonici nel cervello può determinare un aumento della sintesi del principale neurotrasmettitore inibitorio, il GABA, che può contribuire

agli effetti antiepilettici riducendo l'ipereccitabilità dei neuroni. Inoltre, diversi gruppi hanno riportato un miglioramento della funzione mitocondriale cerebrale e della difesa antiossidante in risposta a diete chetogeniche, MCT, MCFA e corpi chetonici *in vivo* e *in vitro* (Han, et al., 2021).

Nei topi alimentati con il 35E% di tridecanoia, è stata riscontrata una maggiore attività respiratoria legata alla produzione di ATP nei mitocondri isolati dalle formazioni dell'ippocampo, che dovrebbe aumentare le riserve energetiche del cervello. Inoltre, una migliore capacità di ridurre il ferro ferrico nel sangue coincideva con un'aumentata espressione dell'mRNA dell'eme ossigenasi 1 (Hmox1) e di FoxO1 nel cervello. FoxO1 è un fattore di trascrizione noto per la *up-regulation* di Hmox1, il quale è un importante enzima antiossidante di fase II noto per fornire una difesa redox omeostatica nelle cellule gliali (Han, et al., 2021).

Nei cani anziani, la somministrazione di 2 g di MCT/kg di peso corporeo ha dimostrato anche di aumentare la funzione mitocondriale, in particolare ha migliorato la respirazione guidata dallo Stato III e dal Complesso I nella corteccia parietale e ha ridotto i marcatori di stress ossidativo nei mitocondri (Han, et al., 2021).

Un altro potenziale effetto antiepilettico è stato dimostrato in ratti a cui sono state somministrate elevate quantità orali di MCFA: i livelli di triptofano sono risultati bassi nel sangue, ma alti nel tessuto cerebrale. Nel cervello, il triptofano può essere metabolizzato in NAD^+ , il che può influire sul metabolismo energetico (Han, et al., 2021).

In vitro, a concentrazioni molto basse (4,5 $\mu\text{mol/L}$), l'acido decanoico può attivare il recettore infiammatorio GPR84. Questo recettore normalmente è espresso a bassi livelli, ma viene indotto dal forte attivatore immunitario lipopolisaccaride, e la sua espressione si trova soprattutto nei monociti, nei neutrofili e anche nella microglia del cervello. Tuttavia, il ruolo di questo recettore proinfiammatorio per quanto riguarda gli effetti anticonvulsivanti o di altro tipo non è ancora chiaro (Han, et al., 2021).

Quantità più elevate di acido decanoico (come 50 $\mu\text{mol/L}$) e anche altri acidi grassi a catena più lunga, come l'acido miristico e linoleico, possono attivare il fattore di trascrizione $\text{PPAR}\gamma 2$, che può promuovere la biogenesi mitocondriale e ha effetti antiossidanti (Han, et al., 2021).

Negli astrociti derivati da cellule staminali pluripotenti indotte umane, l'acido decanoico a 250 $\mu\text{mol/L}$ ha dimostrato di aumentare le quantità di glutatione, confermando i suoi effetti antiossidanti. Inoltre, ad alte concentrazioni, l'acido decanoico può agire come antagonista non competitivo dei recettori AMPA, con conseguente inibizione diretta della neurotrasmissione eccitatoria (Han, et al., 2021).

Sebbene siano state raggiunte alte concentrazioni plasmatiche di acido decanoico (di 50-400 $\mu\text{mol/L}$) nelle persone che assumono MCT con la dieta, è dubbio che questi livelli possano essere raggiunti nel liquido extracellulare del cervello e all'interno delle cellule. Va inoltre considerato che gli MCFA sono per lo più legati all'albumina nel sangue, e all'interno delle cellule sono probabilmente legati ad altre proteine. Pertanto, le concentrazioni attive libere dovrebbero presumibilmente essere basse (Han, et al., 2021).

D'altra parte, è incoraggiante che diversi laboratori abbiano descritto effetti protettivi simili sui mitocondri e azioni antiossidanti dell'acido decanoico *in vivo* e *in vitro*, ed è dimostrato che i meccanismi di difesa antiossidanti possono svolgere un ruolo nell'attività anticonvulsivante. Sono necessari ulteriori studi per comprendere appieno i meccanismi d'azione anticonvulsivanti e protettivi degli MCFA (Han, et al., 2021).

Altri potenziali effetti benefici degli MCT

Le diete a base di MCT sembrano avere benefici che vanno oltre l'epilessia, migliorando potenzialmente le funzioni del SNC e il metabolismo generale. In roditori, cani, scimmie e persone è stato riportato l'ipometabolismo cerebrale del glucosio associato all'età, il quale può contribuire al declino cognitivo dipendente dall'età, al deterioramento cognitivo e alla malattia di Alzheimer (Han, et al., 2021).

Alcune evidenze suggeriscono che gli MCT misti migliorano la cognizione in roditori, cani e persone con lievi compromissioni cognitive e condizioni simili alla malattia di Alzheimer: sono stati riportati effetti neuroprotettivi in modelli di roditori della malattia di Alzheimer e del morbo di Parkinson (Han, et al., 2021).

Come approfondito più avanti, vi sono indicazioni, inoltre, sul fatto che l'integrazione di MCT possa avere effetti ansiolitici, e diversi studi hanno indicato che gli MCT possono essere utili anche in caso di sindrome metabolica, diabete e obesità (Han, et al., 2021).

Conclusioni

In sintesi, ci sono ora nuove prove, in tutte le specie, dell'efficacia degli MCT per la gestione dell'epilessia. È probabile che gli effetti diretti e indiretti, nonché metabolici e antiossidanti degli MCFA, insieme a quelli dei corpi chetonici C4, siano alla base dei meccanismi anticonvulsivanti degli MCT, ma sono necessari ulteriori studi per confermare questi meccanismi (Han, et al., 2021).

Sulla base degli studi disponibili, non è ancora chiaro quali formulazioni di MCT siano ideali per prevenire la genesi di crisi epilettiche nell'uomo e nel cane. L'acido decanoico e gli MCT contenenti questo MCFA sembrano svolgere un ruolo importante, e sono risultati più efficaci nei modelli di roditori *in vitro* e *in vivo*. Visti i problemi di tollerabilità rilevati nell'uomo, sarà importante, in futuro, sviluppare formulazioni di MCT con una maggiore tollerabilità (gli MCT aggiunti alla dieta sono sicuri e tollerati se emulsionati negli alimenti e dosati lentamente). Fino a ora, nei roditori, nel cane e nell'uomo non sono stati osservati effetti collaterali sul SNC e sul sistema cardiovascolare, né teratogenicità (Han, et al., 2021).

Poiché gli MCT hanno pochi effetti collaterali gravi, il loro utilizzo può essere gestito facilmente tramite consultazioni telefoniche o via Skype, al contrario di molti farmaci antiepilettici, che richiedono una supervisione più stretta e talvolta il monitoraggio dei farmaci (Han, et al., 2021).

Per il momento, sono necessari altri studi clinici più ampi per scoprire se gli effetti osservati nei piccoli studi condotti fino a ora possono essere replicati in coorti più ampie. Sarà importante determinare le composizioni e le dosi ideali di MCT, nonché i tipi di epilessia che rispondono meglio nell'uomo (negli adulti e nei bambini) e nel cane (Han, et al., 2021).

Il ruolo del microbioma gastrointestinale (GIM)

Negli ultimi decenni, l'effetto della nutrizione attraverso l'asse microbiota-intestino-cervello (MGBA) ha guadagnato molta attenzione: la MGBA fornisce infatti una via di comunicazione bidirezionale tra il tratto gastrointestinale, il Sistema Nervoso Enterico (SNE) e il Sistema Nervoso Centrale (SNC) attraverso i nervi afferenti vagali e spinali, il sistema immunitario, l'asse corticale ipotalamo-ipofisi-surrene e i metaboliti batterici. Di fondamentale importanza all'interno di questo asse è il microbioma gastrointestinale (GIM), ovvero l'insieme dei genomi di tutti i microrganismi, il quale è fortemente influenzato dall'alimentazione (Verdoodt, et al., 2022).

Il microbioma regola il SNC attraverso metaboliti, neurotrasmettitori e fattori infiammatori, e il SNC, a sua volta, regola il microbioma intestinale attraverso il nervo vago o l'asse ormonale. Negli ultimi anni, la disbiosi (lo squilibrio nella composizione del microbiota GI) è stata segnalata in molte malattie del SNC, come il morbo di Parkinson, la sclerosi multipla e la malattia di Alzheimer (Peng, et al., 2018).

Gli studi dimostrano un ruolo importante del GIM anche nella patogenesi e nella gestione dell'epilessia: sia gli studi sull'uomo che quelli sul cane hanno dimostrato una diversa composizione del microbiota gastrointestinale nei pazienti epilettici rispetto ai controlli sani, a sostegno di un potenziale ruolo della disbiosi nell'epilettogenesi (Verdoodt, et al., 2022).

Uno studio del 2017 ha riportato il primo caso, in Medicina Umana, che ha utilizzato il trapianto di microbiota fecale (*Fecal Microbiota Transplantation* – FMT) come trattamento dell'epilessia a lungo termine in un paziente di 22 anni, con una storia di epilessia di 17 anni, e con malattia di Crohn (CD). Il trapianto ha mostrato una risposta positiva di oltre 20 mesi senza crisi, senza l'uso di farmaci antiepilettici (He, et al., 2017).

Con uno studio del 2018, Braakman e colleghi hanno fornito una revisione retrospettiva della cartella clinica di sei pazienti umani con epilessia resistente ai farmaci che hanno raggiunto la libertà temporanea dalle crisi durante un trattamento antibiotico (cinque di loro hanno raggiunto la libertà dalle crisi, mentre il sesto ha mostrato una significativa diminuzione della SF). Gli antibiotici utilizzati sono stati piperacillina/tazobactam, cirpofloxacina e clindamicina, azitromicina, claritromicina, amoxicillina/acido clavulanico. Il trattamento farmacologico antiepilettico cui erano sottoposti tutti e sei i pazienti, e la dieta chetogenica cui era sottoposto solo uno di loro, non sono stati alterati durante il trattamento antibiotico. Una volta sospeso il trattamento antibiotico, l'effetto sulla frequenza delle crisi è diminuito entro due settimane in tutti e sei i pazienti (Braakman & van Ingen, 2018).

Lo studio condotto su questi sei pazienti suggerisce, come minimo, che la frequenza delle crisi sia stata influenzata dall'uso di antibiotici. Gli autori hanno ipotizzato che, attraverso l'alterazione del microbiota intestinale, i trattamenti antibiotici possano avere un effetto a breve termine sulle interazioni intestino-cervello e, in ultima analisi, sulla frequenza delle crisi epilettiche. L'impatto osservato degli antibiotici di questo studio sulla SF suggerisce dunque un possibile ruolo del microbiota intestinale nell'epilessia e nelle sue manifestazioni (Braakman & van Ingen, 2018).

Uno studio recente condotto sull'uomo ha indagato il ruolo della disbiosi nel meccanismo dell'epilessia farmaco-resistente: i 91 individui affetti da epilessia che sono stati arruolati nello studio sono stati divisi tra resistenti ai farmaci e sensibili ai farmaci, ed è stato individuato un gruppo di controllo costituito da 65 individui provenienti dalle stesse famiglie dei pazienti, con le stesse abitudini alimentari (al fine di ridurre l'impatto della dieta sulla flora intestinale). Sono stati esclusi i soggetti che avevano utilizzato antibiotici o probiotici nei tre mesi precedenti, o che avevano una storia nota di malattia cronica. Sono stati raccolti campioni fecali da ognuno

dei partecipanti, ed è stata analizzata la composizione del microbioma mediante sequenziamento completo del DNA ribosomiale batterico 16s (rDNA) (Peng, et al., 2018).

I risultati dello studio hanno mostrato che i pazienti con epilessia resistente ai farmaci presentavano una composizione alterata del microbioma intestinale, caratterizzata da un'abbondanza significativamente maggiore di batteri rari e da una diminuzione dei normali batteri commensali. Il microbiota intestinale nei pazienti con epilessia farmaco-sensibile era simile a quello dei controlli sani. Sulla base di questi risultati, gli autori hanno suggerito che la disbiosi intestinale potrebbe essere coinvolta nella patogenesi dell'epilessia resistente ai farmaci, e che il ripristino della comunità microbica intestinale caratteristica di un individuo sano potrebbe rappresentare una nuova strategia terapeutica, utile nella gestione della malattia (Peng, et al., 2018).

È stato condotto recentemente un altro studio, sui ratti (preclinico), con l'obiettivo di indagare il ruolo della disbiosi nell'epilessia: per indurre la disbiosi, i ratti sono stati sottoposti a stress di contenzione cronica (due sessioni di 2 ore al giorno, per 2 settimane), e il contenuto cecale di donatori stressati è stato trapiantato tramite sonda gastrica ai riceventi, in cui il microbiota commensale era stato impoverito tramite terapia antibiotica. Dopo il trapianto di microbiota, tutti gli animali sono stati sottoposti a *kindling* a livello di nuclei basolaterali dell'amigdala (Medel-Matus, Shin, Dorfman, Sankar, & Mazarati, 2018).

Il trapianto di microbiota intestinale da ratti cronicamente stressati a ratti *naive* ha accelerato l'insorgenza delle crisi indotte da *kindling* in questi animali, e ne ha aumentato la durata. Il trapianto di microbiota dagli animali *naive* agli animali stressati, al contrario, ha contrastato gli effetti pro-epilettici dello stress. I risultati dello studio hanno dimostrato un'associazione tra le alterazioni nel microbioma intestinale (in particolare quelle associate allo stress cronico) e l'aumentata suscettibilità all'epilessia (Medel-Matus, Shin, Dorfman, Sankar, & Mazarati, 2018).

Inoltre, uno studio condotto su due modelli murini ha dimostrato che cambiamenti del GIM in risposta a una dieta chetogenica sono necessari e sufficienti per aumentare la soglia delle crisi, e che batteri specifici associati alla KD mediano e conferiscono gli effetti antiepilettici a questo tipo di dieta: la protezione dalle convulsioni può essere ripristinata trapiantando il GIM da topi trattati con KD a topi con GIM impoverito in seguito a trattamento antibiotico ad alte dosi, e mediante trattamento con GIM specifici mediati da KD, cioè *Akkermansia* e *Parabacteroides*, in topi privi di batteri. La protezione dalle crisi nei topi che ricevevano una KD era mediata dal GIM attraverso cambiamenti nel rapporto GABA/glutammato nell'ippocampo (Olson, et al., 2018).

Analogamente, uno studio recente condotto su 12 bambini con epilessia resistente ai farmaci ha indagato la composizione del microbiota intestinale e la sua associazione con acidi grassi fecali a corta catena (SCFA) prima e dopo il trattamento con una dieta chetogenica. Sono stati individuati 12 controlli sani, rappresentati dai fratelli dei pazienti epilettici (un fratello per paziente). I campioni fecali dei pazienti con epilessia resistente ai farmaci sono stati analizzati prima del trattamento con KD e dopo sei mesi di trattamento con KD. I bambini con epilessia resistente ai farmaci erano associati a microbiota intestinale alterato e ad un livello più elevato di varietà di questo, rispetto ai controlli (Gong, et al., 2021).

Dopo sei mesi di trattamento con KD, uno dei pazienti era completamente libero da crisi e tre pazienti avevano registrato una riduzione del 90-99% della frequenza delle crisi. Quattro pazienti hanno avuto una riduzione del 50-90% della frequenza delle crisi e quattro pazienti una riduzione inferiore al 50%. Infine, otto dei pazienti hanno raggiunto un miglioramento della funzione cognitiva (Gong, et al., 2021).

Una maggiore diversità microbica alfa e un aumento significativo di *Actinobacteria* a livello di phylum ed *Enterococcus*, *Anaerostipes*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* e *Blautia* a livello di genere sono stati osservati nei bambini con epilessia resistente ai farmaci. L'abbondanza degli otto generi associati all'epilessia si è invertita dopo sei mesi di trattamento con KD, con diminuzione di *Bifidobacterium*, *Akkermansia*, *Enterococcaceae* e *Actinomyces*, e aumento di *Subdoligranulum*, *Dialister*, *Alloprevotella*. In particolare, sono stati identificati alcuni *taxa* che erano maggiormente prevalenti nei pazienti con una risposta inadeguata alla KD rispetto a quelli che dimostravano una risposta adeguata (Gong, et al., 2021).

Prima di iniziare la KD, i pazienti con epilessia con diverse risposte alle crisi avevano livelli di SCFA simili. Il contenuto di SCFA nelle feci dopo 6 mesi di trattamento con KD è aumentato, ed è risultato altamente correlato ai batteri intestinali. Prove crescenti hanno dimostrato che gli SCFA esercitano molteplici effetti benefici sui mammiferi, come la regolazione immunitaria e il consumo di energia, e SCFA selezionati possono anche aiutare a modulare la maturazione e la funzione della microglia nel cervello. Gli SCFA potrebbero essere, dunque, direttamente o indirettamente coinvolti nella comunicazione attraverso l'asse microbioma-intestino-cervello a causa delle loro proprietà neuroattive e dei loro effetti su altre vie di segnalazione intestino-cervello (Gong, et al., 2021).

Questi risultati implicano i potenziali benefici degli SCFA derivati da batteri GI coinvolti nell'effetto anticonvulsivante mediato da KD. Dopo il trattamento con KD, i pazienti con un buon esito avevano un profilo di produzione di butirrato significativamente più alto rispetto a quelli con esito scarso. Gli autori hanno ipotizzato che i pazienti con epilessia resistente ai

farmaci abbiano una produzione di butirrato inferiore, e che questo profilo anomalo venga corretto durante il trattamento con KD (Gong, et al., 2021).

I risultati dello studio suggeriscono che la disbiosi del microbioma potrebbe essere coinvolta nella patogenesi dell'epilessia resistente ai farmaci nei bambini, che può essere alleviata in larga misura da una KD. Il microbiota intestinale e il metabolismo microbico potrebbero contribuire all'effetto antiepilettico della KD (Gong, et al., 2021).

Tuttavia, i cambiamenti nella composizione del GIM osservati negli animali e nei pazienti umani con epilessia alimentati con KD e MCTD sono diversi nei vari studi. Le cause delle differenze tra questi studi potrebbero essere multifattoriali, con differenze di specie, età del gruppo di riferimento, tipo e rapporto delle diete e durata dello studio. Oltre ai cambiamenti nella varietà microbica, è importante considerare l'alterazione delle loro funzioni, che manca nella maggior parte degli studi (Verdoodt, et al., 2022).

In uno studio condotto sui cani, le specie di *Bacteroidaceae* del genere 5-7N15 erano più abbondanti nei cani alimentati con MCTD. Queste sono state precedentemente associate alla riduzione del comportamento aggressivo nei cani, e svolgono un ruolo simile a quello di *Akkermansia* negli esseri umani (genere associato al successo del trattamento con KD negli esseri umani e nei topi). All'interno della popolazione oggetto di studio, *Parabacteroides*, un altro genere associato al successo del trattamento KD nei topi, è stato trovato solo in due cani: in uno durante la fase placebo e MCTD, e in un altro solo durante la MCTD. È interessante notare che entrambi i cani erano negativi per *Parabacteroides* prima del processo (Pilla, et al., 2020).

La KD modula un cambiamento funzionale nel GIM che aumenta la produzione di SCFA. Molti batteri del *core* del GIM del cane possono produrre SCFA dalla fermentazione di polisaccaridi vegetali, che possono circolare nel cervello. In particolare, il butirrato, uno degli SCFA, induce un effetto antinfiammatorio attraverso molteplici vie, tra cui la *down-regulation* dei mediatori proinfiammatori, che potrebbe contribuire al buon esito del controllo delle crisi. Inoltre, i metaboliti sierici dei fosfolipidi, cioè fosfatidilcolina e acilcarnitina, sono risultati alterati nei cani con IE sottoposti a MCTD, con aumento delle frazioni C17:0, con conseguente potenziale aumento della produzione del trigliceride antiepilettico trieptanoina (Verdoodt, et al., 2022).

In conclusione, è possibile che l'effetto antiepilettico della KD e della MCTD si realizzi anche attraverso la MGBA (Verdoodt, et al., 2022). Sono necessari ulteriori studi, tuttavia, per comprendere i precisi meccanismi neurologici alla base degli effetti antiepilettici della KD e del microbiota associato a questa (Olson, et al., 2018).

Chiarire la risposta dell'intestino del cane al consumo di MCT migliorerà la nostra comprensione dei potenziali meccanismi che conferiscono effetti antiepilettici e di modulazione del comportamento a questo tipo di dieta (Pilla, et al., 2020).

Diete di eliminazione e diete senza glutine

Una reazione avversa al cibo (*adverse reaction to food* - ARF) è descritta come una reazione immunologica (allergia alimentare) o non immunologica (intolleranza alimentare) di un individuo a un componente dietetico altrimenti innocuo. La diagnosi e il trattamento della ARF nel cane consistono in una rigorosa dieta di eliminazione e in una sfida alimentare (ad esempio una dieta che non contiene allergeni per l'individuo in questione, seguita da un test di provocazione orale). Pertanto, viene utilizzata una fonte proteica nuova o idrolizzata (Verdoodt, et al., 2022).

Una ARF è caratterizzata principalmente da segni clinici gastrointestinali o dermatologici, ma in letteratura è descritta un'associazione con altri organi, tra cui il SNC nel cane. Tuttavia, non esistono studi originali a sostegno di questa affermazione (Verdoodt, et al., 2022).

L'allergia alimentare è stata proposta come causa sospetta di disturbi convulsivi negli animali da compagnia e nell'uomo; tuttavia, l'ipotesi attualmente manca di un forte supporto scientifico. L'ipotesi si basa principalmente su informazioni osservative soggettive aneddotiche e incontrollate, provenienti da report clinici e serie di casi. Tuttavia, studi epidemiologici nell'uomo hanno indicato un'associazione tra epilessia e malattia allergica (Larsen, Owens, & Fascetti, 2014).

In Medicina Umana, un tipo specifico di dieta di eliminazione, la dieta senza glutine, ha ricevuto maggiore attenzione come opzione di gestione per le malattie neurologiche (Durazzo, et al., 2022).

Attualmente esiste un grande divario tra le prove scientifiche relative al ruolo del glutine nei cani con IE e le informazioni aneddotiche disponibili su Internet (Verdoodt, et al., 2022).

Esistono prove aneddotiche che una dieta ipoallergenica potrebbe migliorare il controllo delle crisi nei cani con ipersensibilità gastrointestinale (Volk, *The pharmacoresistant patient: when things get complicated*, 2018).

Per quanto riguarda la discinesia parossistica nei Border Terrier e nei Maltesi, gli studi suggeriscono che una dieta priva di glutine può ridurre la frequenza e/o la gravità degli episodi. Entrambi i tipi di episodi parossistici possono essere difficili da distinguere; questo potrebbe

portare a una diagnosi errata di IE, e di conseguenza contribuire alla convinzione che il glutine riduca le crisi epilettiche (Verdoodt, et al., 2022).

Si ipotizza che i processi infiammatori periferici che seguono una ARF siano correlati alla fisiopatologia dell'IE, e che possano agire attraverso vie di segnalazione del sistema immunitario tramite la MGBA. Questo processo inizia con l'attivazione delle cellule presentanti l'antigene che porta alla secrezione di citochine proinfiammatorie da parte dei linfociti T-helper 2 e dei mastociti nell'intestino, con conseguente aumento della permeabilità intestinale. L'aumento della permeabilità intestinale porta all'invasione di citochine, metaboliti tossici, batteri e piccole molecole dal lume intestinale alla circolazione sanguigna, con conseguente infiammazione sistemica. Queste citochine attive aumentano la permeabilità della BBB, determinando una suscettibilità temporanea o a lungo termine alle crisi epilettiche (Verdoodt, et al., 2022).

Tutto ciò potrebbe essere aggravato dal peptidoglicano della parete cellulare dei batteri fuoriusciti, che entra nel cervello e provoca un'infiammazione cronica. Inoltre, l'eccitabilità neuronale potrebbe essere alterata a causa della stimolazione microgliale e dell'aumento delle citochine proinfiammatorie nel cervello, con conseguente predisposizione alle crisi epilettiche. Lo scopo di una dieta di eliminazione è quello di eliminare le possibilità che si inneschino questi meccanismi. Esiste una crescente evidenza del ruolo dell'infiammazione nell'epilettogenesi. Tuttavia, il ruolo del GIM in questo tipo di dieta è probabilmente trascurabile (Verdoodt, et al., 2022).

Nei bambini, le allergie alimentari sono state messe in relazione con l'epilessia in uno studio caso-controllo scandinavo e in uno studio basato sulla popolazione statunitense. Esiste una serie retrospettiva di casi (n = 8) che studia la gestione dell'IE con una dieta di eliminazione nei cani: durante la dieta di eliminazione, la frequenza delle crisi è diminuita in 7/8 cani ed è cessata completamente in sei cani, mentre un cane non ha mostrato miglioramenti nella frequenza delle crisi. Solo quattro cani sono stati sottoposti a una dieta diversa e l'attività convulsiva è ricomparsa, il che conferma la presenza di una ARF (Verdoodt, et al., 2022).

Uno studio dietetico di 12 settimane condotto su 34 bambini con allergie alimentari ed epilessia resistente ai farmaci ha evidenziato che dopo otto settimane di dieta di eliminazione, il 50% ha raggiunto la libertà dalle crisi, e un altro 35% ha registrato una riduzione di almeno il 50% della frequenza delle crisi. Questi risultati sono rimasti invariati dopo 4 settimane di follow-up (Gorjipour, et al., 2019).

In conclusione, sebbene negli esseri umani siano state segnalate associazioni tra epilessia e allergia alimentare, i potenziali meccanismi rimangono sfuggenti. Devono essere condotti studi

per confermare un legame tra epilessia e malattia allergica negli animali da compagnia e per caratterizzare eventuali relazioni causali (Larsen, Owens, & Fascetti, 2014).

In Medicina Veterinaria, sono disponibili solo due studi di livello IV, il che indica che sono necessari altri studi per sostenere la dieta di eliminazione come parte della gestione dell'IE canina. Inoltre, la relazione tra sensibilità al glutine e IE è ancora dubbia (Verdoodt, et al., 2022).

Nutraceutici e integratori alimentari

L'evidenza clinica dell'utilità dei nutraceutici nell'IE canina è ancora scarsa. Il termine "nutraceutico" è stato definito nel 1989 come "alimento (o parte di un alimento) che fornisce benefici medici o per la salute, compresa la prevenzione e/o il trattamento di una malattia" (Verdoodt, et al., 2022).

Nel 2018 è stato condotto da Berk e colleghi uno studio con questionario online indirizzato ai proprietari di cani con IE, reclutati tramite i social media, con l'obiettivo di raccogliere informazioni circa la somministrazione di integratori alimentari a questi animali. Poiché l'"integratore alimentare" non gode di una definizione normativa o legale generale in Medicina Veterinaria, ai fini dello studio, questo è stato definito come "*un prodotto commestibile aggiunto alla dieta principale di un cane su base regolare o irregolare, che ha lo scopo di fornire un ulteriore supporto alla salute*" (Berk, Packer, Law, & Volk, Investigating owner use of dietary supplements in dogs with idiopathic epilepsy, 2018).

Ai proprietari è stato chiesto di riportare i dettagli dell'integrazione alimentare che stavano utilizzando o che avevano precedentemente utilizzato, e quali sono stati i motivi che li hanno portati a iniziare o a interrompere l'integrazione (Berk, Packer, Law, & Volk, Investigating owner use of dietary supplements in dogs with idiopathic epilepsy, 2018).

Quasi la metà dei 297 proprietari dei cani oggetto dello studio ha dichiarato di aver iniziato a somministrare integratori alimentari al proprio cane dopo la diagnosi di epilessia: i tre più utilizzati erano gli oli di cocco o derivati dal cocco (77,3%), gli oli di pesce o gli oli derivati dal pesce (66,9%) e il cardo mariano (42,7%); altri integratori di uso frequente sono stati l'olio di *Cannabis* (42%), prodotti a base di vitamina B12 (24,8%), rimedi omeopatici (20,4%), glucosamina e/o condroitina (19,1%), taurina (17,2%) ed erbe essiccate (15,9%) (Berk, Packer, Law, & Volk, Investigating owner use of dietary supplements in dogs with idiopathic epilepsy, 2018).

Mentre meno di un quinto dei proprietari ha consultato il proprio veterinario sull'utilizzo di integratori alimentari, la fonte più comune di consigli per l'uso di questi erano i gruppi di supporto online per i proprietari o le informazioni reperite online. I motivi principali addotti dai proprietari per la somministrazione di integratori di questo tipo ai loro animali sono stati:

- riduzione della frequenza delle crisi (88,2%);
- protezione dell'animale dai potenziali effetti collaterali dei farmaci antiepilettici (62,5%);
- riduzione della gravità delle crisi (61,8%) (Berk, Packer, Law, & Volk, Investigating owner use of dietary supplements in dogs with idiopathic epilepsy, 2018).

Altri obiettivi indicati sono stati migliorare la fase di recupero post-ictale, la riduzione degli effetti collaterali degli AED e la riduzione delle comorbilità dell'epilessia (come problemi cognitivi o comportamentali). Dal questionario è emerso anche che un terzo di tutti i proprietari raccomanderebbe ad altri proprietari di utilizzare integratori alimentari nella gestione dell'epilessia del proprio cane (Berk, Packer, Law, & Volk, Investigating owner use of dietary supplements in dogs with idiopathic epilepsy, 2018).

Nonostante i dati sopra riportati, come è stato citato in precedenza, solo l'olio di cocco o gli oli derivati dal cocco (contenenti MCT), l'olio di pesce o gli oli derivati dal pesce (contenenti acidi grassi omega-3) e il CBD sono stati studiati scientificamente (Verdoodt, et al., 2022).

La taurina ha dimostrato proprietà anticonvulsivanti incoerenti e talvolta deboli nei roditori, nei gatti e nei cani con convulsioni indotte sperimentalmente, e nei pazienti umani con convulsioni. Il meccanismo che regola questi effetti non è ancora stato chiarito, ma potrebbe essere correlato alla soppressione della tossicosi indotta dal glutammato, agli effetti citoprotettivi tramite attenuazione della morte delle cellule astanti e al supporto dello sviluppo neurale all'interno della zona subventricolare (anche nei cervelli adulti) (Larsen, Owens, & Fascetti, 2014).

Gli autori di una serie di casi di 5 gatti con epilessia hanno riferito che la somministrazione orale due volte al giorno di 500 mg di taurina, associata ad una quantità sconosciuta di piridossina, ha portato a un miglioramento delle crisi epilettiche o alla scomparsa di queste, e al miglioramento dell'attività dell'elettroencefalogramma senza l'uso concomitante di AED. In un altro *case report*, l'uso di taurina (300 mg, SC ogni 12 h per 2 giorni, seguiti da 100 mg PO ogni 24 h) è stato associato a un miglioramento ripetibile sia della frequenza delle crisi sia dell'attività dell'elettroencefalogramma in un gatto epilettico. Le concentrazioni di taurina nel plasma e nel sangue intero non sono state valutate in nessuno di questi report (Larsen, Owens, & Fascetti, 2014).

Non ci sono segnalazioni sull'utilizzo di taurina nel trattamento dell'epilessia nel cane. Nello studio condotto da van Gelder e collaboratori (1980) tuttavia, la taurina è stata uno dei numerosi amminoacidi con proporzioni alterate nel liquido cerebrospinale di cani di razza epilettici, rispetto alle proporzioni nel liquido cerebrospinale dei fratelli senza crisi. Sono necessari ampi studi clinici per valutare ulteriormente l'efficacia della taurina come potenziale opzione terapeutica (Larsen, Owens, & Fascetti, 2014).

Acidi grassi Omega-3

Gli acidi grassi omega-3 sono acidi grassi polinsaturi (*polyunsaturated fatty acids* - PUFA) essenziali, a catena lunga, noti per il loro ruolo importante nel mantenimento della salute negli animali e nell'uomo (Verdoodt, et al., 2022).

Il termine "omega-3" o "-3" si riferisce alla presenza di un doppio legame al terzo carbonio dalla terminazione metilica della molecola. L'uomo e gli altri mammiferi non sono in grado di sintetizzare gli acidi grassi -3 perché mancano degli enzimi delta-12 e delta-15 desaturasi, che rimuovono gli atomi di idrogeno e creano doppi legami, necessari per creare acidi grassi polinsaturi (DeGiorgio & Taha, Omega-3 fatty acids (ω -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials, 2016).

I tre principali acidi grassi omega-3 sono l'acido linolenico (ALA), presente nelle noci, nei semi di lino, nell'olio di soia e di canola, e i suoi derivati, l'acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosaesaenoico (DHA), tipicamente presenti nel pesce e negli oli derivati del pesce (Verdoodt, et al., 2022).

I lipidi costituiscono il 60% della massa secca del cervello e la metà di essi sono PUFA. I PUFA omega-3 sono trasportati dall'intestino al fegato prima di raggiungere il cervello. L'acido docosaesaenoico è il PUFA omega-3 più importante per il cervello, in quanto componente strutturale delle membrane neuronali, in grado di influenzare la segnalazione cellulare e modulare la sintesi della fosfatidilserina. Tuttavia, la conversione nel fegato da ALA a DHA è limitata a meno del 10% nei mammiferi (Verdoodt, et al., 2022).

Il DHA si accumula nelle membrane lipidiche e sinaptiche della corteccia e della retina, rappresentando fino al 35% del contenuto delle membrane sinaptiche. È fondamentale per la maturazione, lo sviluppo e l'invecchiamento del cervello, regola la neurogenesi delle cellule staminali in neuroni e promuove la crescita e la differenziazione cellulare (DeGiorgio & Taha,

Omega-3 fatty acids (ω -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials, 2016).

Pertanto, le fonti vegetali di acidi grassi omega-3 contenenti ALA sono considerate meno efficaci per il supporto neurologico rispetto all'olio di pesce contenente EPA e DHA. I PUFA omega-3, in particolare il DHA, sono anti-eccitatori, antinfiammatori, e hanno effetti neuroprotettivi (Verdoodt, et al., 2022).

La riduzione dell'eccitabilità dipende fortemente dai canali ionici del sodio e del calcio, che possono essere modulati da EPA e DHA: studi *in vitro* condotti con ALA, EPA e DHA suggeriscono, infatti, diverse modalità di azione, come la stabilizzazione delle membrane neuronali mediante inibizione dei canali del Na^+ e del Ca^{2+} voltaggio-dipendenti, con aumento della soglia di attivazione del potenziale d'azione e riduzione complessiva dell'eccitabilità neuronale (DeGiorgio & Taha, Omega-3 fatty acids (ω -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials, 2016).

Determinano, dunque, un aumento della soglia epilettogena. Il DHA può aumentare la soglia epilettogena attivando anche alcuni tipi di recettori attivati dai proliferatori dei perossisomi (PPAR), che rappresentano un potenziale bersaglio dei farmaci antiepilettici. Il DHA e l'EPA sono entrambi importanti nell'inibizione della sintesi della ciclossigenasi-2 e nella riduzione della prostaglandina E2 proinfiammatoria. Infine, DHA ed EPA possono aumentare l'espressione della proteina di disaccoppiamento mitocondriale, con conseguente riduzione della produzione di ROS (Verdoodt, et al., 2022).

Negli studi sui ratti, l'olio di pesce contenente EPA e DHA è stato segnalato come in grado di aumentare la soglia delle convulsioni nella maggior parte degli studi quando somministrato per un periodo di almeno tre mesi. L'effetto ritardato dell'olio di pesce alimentare può essere dovuto al ritardo nella formazione di EPA e DHA non esterificati o dei loro metaboliti bioattivi (come NPD1) nel cervello (DeGiorgio & Taha, Omega-3 fatty acids (ω -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials, 2016).

In Medicina Umana, gli effetti dell'olio di pesce somministrato ad alte dosi sono stati approfonditi in due studi randomizzati sull'epilessia resistente ai farmaci, con risultati negativi. Nel 2015 DeGiorgio e colleghi hanno condotto uno studio incrociato controllato randomizzato di fase II per indagare l'effetto della somministrazione di olio di pesce a basso dosaggio e ad alto dosaggio in partecipanti con epilessia resistente ai farmaci, e valutare se questo è in grado di ridurre le crisi epilettiche o di migliorare la salute cardiovascolare, e quale dosaggio risulta più efficace (DeGiorgio, et al., 2015).

L'olio di pesce a basso dosaggio (3 capsule/die, 1080 mg di acido eicosapentaenoico + acido docosaesaenoico) è stato associato a una riduzione del 33,6% nella frequenza delle crisi rispetto al placebo, ed è risultato associato anche ad una lieve ma significativa riduzione della pressione sanguigna. L'olio di pesce ad alte dosi, invece, non si è dimostrato diverso dal placebo nel ridurre le convulsioni o nel migliorare i fattori di rischio cardiaco (DeGiorgio, et al., 2015).

I risultati di questo studio indicano che nell'utilizzo di acidi grassi omega-3 per la riduzione della SF in pazienti epilettici, dosi adeguate sono effettivamente cruciali (Verdoodt, et al., 2022).

In Medicina Veterinaria, tuttavia, nell'ambito della gestione del paziente epilettico resistente ai farmaci, l'integrazione alimentare con acidi grassi Omega-3 ha dato risultati inconcludenti (Volk, The pharmaco-resistant patient: when things get complicated, 2018).

Soltanto due studi hanno testato gli effetti anticonvulsivanti degli acidi grassi omega-3 nel cane. Scorza e colleghi (2009) hanno riportato una riduzione dell'incidenza delle crisi epilettiche da tre al mese a una ogni tre mesi in un cane cui sono stati somministrati 2 g/die di acidi grassi omega-3 per almeno 18 mesi. Al contrario, in uno studio randomizzato di controllo in doppio cieco che ha coinvolto 15 cani, Matthews e colleghi (2012) non hanno riscontrato alcun effetto benefico dall'integrazione di EPA (40 mg/kg) e DHA (25 mg/kg) per 12 settimane, tranne che in un Pastore Tedesco che ha registrato una riduzione di 10 volte della frequenza delle crisi durante la fase di integrazione con olio di pesce (DeGiorgio & Taha, Omega-3 fatty acids (ω -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials, 2016).

Come citato precedentemente, i modelli di ratto suggeriscono che è necessaria una durata minima di tre mesi per aumentare la soglia epilettogena, dunque è possibile che la durata del trattamento sia stata troppo breve nello studio condotto sui cani, e che potrebbe essersi verificato l'effetto di *carry-over* tra la fase di supplementazione e quella placebo, dal momento che non è stato incluso un periodo di wash-out, e che l'integrazione di PUFA è stata sempre utilizzata per prima (Verdoodt, et al., 2022).

Sono stati descritti ulteriori benefici per la salute, come la riduzione della pressione sanguigna, la riduzione del rischio di morte improvvisa in pazienti umani affetti da epilessia, e un'interazione sinergica con gli AED, con conseguente possibile riduzione della dose di farmaci (carbamazepina, valproato e levetiracetam) (Verdoodt, et al., 2022).

Gli animali con disturbi da iperlipidemia, in particolare quelli che comportano elevate concentrazioni di lipoproteine a bassissima densità, possono trarre beneficio dall'integrazione alimentare con PUFA omega-3 e dai loro potenziali effetti ipolipemizzanti. C'è una scarsità di

dati sull'uso dell'integrazione alimentare con olio di pesce per l'iperlipidemia nei pazienti epilettici, ma le informazioni sono promettenti (Larsen, Owens, & Fascetti, 2014).

Nel complesso, i dati sui modelli canini sono incompleti e sono necessarie ulteriori prove. Possiamo concludere che l'efficacia di EPA e DHA sulle crisi epilettiche è specifica per ogni specie e dipende dalla dose e dalla durata dell'esposizione. L'efficacia maggiore è stata identificata nei modelli di topo e di ratto, con poche evidenze nei modelli canini. Le prove dimostrano che la somministrazione acuta di acidi grassi omega-3 richiede dosi elevate per ottenere un'efficacia acuta. La somministrazione cronica per tre o più mesi è più efficace dell'esposizione a breve termine (un mese) (DeGiorgio & Taha, Omega-3 fatty acids (ω -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials, 2016).

La ricerca futura dovrebbe quindi concentrarsi su studi più ampi, controllati con placebo, di maggiore durata, con caratteristiche di base ben definite della SF, diete complete con un maggiore contenuto di EPA+DHA, e la definizione di dosi per i cani con IE, tenendo presenti le possibili interazioni con i farmaci antiepilettici (Verdoodt, et al., 2022).

Effetti della dieta sui farmaci antiepilettici

È noto da tempo che il contenuto di sale nella dieta può influenzare la concentrazione sierica di bromuro, causando, potenzialmente, un minore controllo delle crisi (Volk, The pharmaco-resistant patient: when things get complicated, 2018).

Nel 2018 è stata stabilita una formula per descrivere questa relazione, utilizzando il contenuto di cloruro nella dieta e la concentrazione di bromuro nel siero di 23 cani di proprietà:

$$y = -0,2x + 87$$

y : concentrazione sierica di bromuro per dose ($\mu\text{g/mL}$ per mg/kg/die)

x : assunzione di cloruro con la dieta per peso corporeo (mg/kg/die)

Questa formula fornisce una buona linea guida nella pratica clinica per ottimizzare i dosaggi di bromuro. Tuttavia, il contenuto di cloruro spesso non è indicato sulle etichette dei prodotti perché non è obbligatorio per legge nel Regolamento (CE) 767/2009 dell'UE, il che complica l'uso pratico della suddetta formula (Verdoodt, et al., 2022).

Inoltre, come citato in precedenza, esistono dati a sostegno di un'interazione tra la dieta e le concentrazioni di PB: nello studio di Maguire e colleghi, 27 Beagle sani alimentati con una dieta a restrizione proteica o a restrizione proteica e di grassi hanno dimostrato un'emivita biologica del PB significativamente più bassa e un aumento significativamente maggiore

dell'attività della fosfatasi alcalina nel siero rispetto a una dieta di mantenimento. Inoltre, i cani alimentati con una dieta povera di grassi e proteine presentavano un tasso di clearance del PB significativamente più elevato (Maguire, et al., 2000).

Si presume che questi effetti siano il risultato di un'alterazione del metabolismo epatico (Verdoodt, et al., 2022).

Inoltre, l'eliminazione del PB potrebbe essere influenzata da una dieta a scopo urolitico, poiché è stato dimostrato che l'escrezione urinaria di una dose singola di PB (3 mg/kg) può essere diminuita o aumentata dall'acidificazione urinaria con cloruro di ammonio o dall'alcalinizzazione con citrato di potassio, rispettivamente (Fukunaga, et al., 2008).

Ciò sottolinea l'importanza di rivalutare i dosaggi dei farmaci a ogni cambio di dieta, sia per i cani che assumono KBr, sia quelli che assumono PB (Verdoodt, et al., 2022).

5.2 Dieta e comorbidità comportamentali

È stato riscontrato che i cani epilettici resistenti ai farmaci presentano maggiori cambiamenti comportamentali sfavorevoli rispetto a quelli che rispondono ai farmaci, dato che è stato riscontrato anche nei modelli di epilessia nei roditori. Pertanto, trovare trattamenti appropriati per ridurre gli effetti delle comorbidità comportamentali (se presenti), nei cani con epilessia, insieme alla frequenza delle crisi, dovrebbe essere un ulteriore obiettivo del trattamento della malattia (Volk, *The pharmaco-resistant patient: when things get complicated*, 2018).

Fattori associati alla dieta e allo stile di vita del cane possono avere un impatto non soltanto sull'attività convulsiva dell'animale, ma anche sul comportamento. Le modifiche comportamentali indotte dalla dieta nel cane sono documentate nella letteratura scientifica, oltre che in note aneddotiche (Packer, et al., 2016).

Nel cane, è stato riportato che le diete modificano alcuni tipi di comportamenti, ad esempio alcuni tipi di aggressività possono migliorare con una dieta a basso contenuto proteico (Volk, *The pharmaco-resistant patient: when things get complicated*, 2018).

Inoltre, l'integrazione di casozepina o la proporzione di proteine in una data dieta può ridurre i comportamenti legati all'ansia (Packer, et al., 2016).

Una dieta a base di MCT al 5% ha dimostrato di ridurre i comportamenti ansiosi e migliorare competitività sociale e socialità in ratti Wistar maschi adulti (Hollis, Mitchell, Canto, Wang, & Sandi, 2018).

Anche nell'uomo, è stato dimostrato che le diete chetogeniche non solo controllano l'attività convulsiva nei pazienti umani con epilessia, ma migliorano anche il comportamento in generale.

La dieta chetogenica sembra infatti migliorare anche i sintomi dell'ADHD in individui affetti da epilessia, e tale miglioramento sembra essere indipendente dal controllo delle crisi: è possibile un miglioramento del disturbo comportamentale anche senza miglioramento nella SF. Effetti simili sul comportamento sono stati osservati anche nei roditori (Packer, et al., 2016).

Sebbene i meccanismi esatti coinvolti nei miglioramenti comportamentali associati alla KD siano sconosciuti, è stato suggerito che le alterazioni del metabolismo energetico nel cervello possano contribuire ai cambiamenti comportamentali (Packer, et al., 2016).

Uno studio pilota condotto su bambini affetti da autismo ha mostrato un miglioramento di alcune delle insufficienze di interazione sociale, comportamentali e cognitive riscontrate in questi pazienti (Volk, *The pharmaco-resistant patient: when things get complicated*, 2018).

Nel cane, una dieta a base di MCT ha dimostrato di sostenere la salute cognitiva dei cani anziani. La funzione cognitiva del cane, infatti, come quella di altri mammiferi, viene compromessa nel corso dell'invecchiamento: i dati disponibili in letteratura suggeriscono che la riduzione del

metabolismo del glucosio cerebrale associata all'età è una caratteristica comune dell'invecchiamento, che il processo coinvolto può essere progressivo, a partire dalla mezza età, e che il declino metabolico contribuisce al declino cognitivo associato all'invecchiamento. Con una ridotta capacità di metabolizzare il glucosio nel sangue, gli animali anziani non sono in grado di garantire una produzione di ATP tale da supportare una maggiore attività neuronale, che può, almeno in parte, contribuire al declino della funzione cognitiva negli animali anziani. Su questa base, Pan e collaboratori hanno condotto uno studio su 24 cani Beagle anziani, con età compresa tra 7,5 e 11,6 anni, per testare l'ipotesi che l'integrazione dietetica con MCT possa avere effetti benefici sulla funzione cognitiva nei cani anziani (Pan, et al., 2010).

I cani sono stati prima sottoposti a una batteria di test cognitivi per fornire dati di riferimento che sono stati utilizzati per collocarli in due gruppi cognitivamente equivalenti. Un gruppo, il gruppo di trattamento MCT, è stato quindi sottoposto a una dieta contenente un alimento integrato con il 5,5% di MCT, mentre l'altro gruppo, il gruppo di controllo, è stato alimentato con una dieta isoenergetica contenente gli stessi livelli di grassi, proteine e carboidrati. Tutti i cani hanno seguito la propria dieta per otto mesi (Pan, et al., 2010).

Il gruppo integrato con MCT ha mostrato prestazioni significativamente migliori nella maggior parte dei protocolli di test rispetto al gruppo di controllo. Le differenze di gruppo variavano anche in funzione della difficoltà del compito: i compiti più difficili hanno mostrato effetti più significativi rispetto ai compiti più facili. I cani alimentati con la dieta MCT avevano chetoni più elevati nel sangue, confermando la capacità degli MCT somministrati con la dieta di aumentare i livelli di chetoni nel sangue senza un regime di fame, e hanno riportato livelli significativamente elevati di beta-idrossibutirrato (Pan, et al., 2010).

Questi risultati hanno dimostrato che nel cane l'integrazione a lungo termine con MCT aumenta i livelli circolanti di chetoni, e può avere effetti di miglioramento cognitivo. (Pan, et al., 2010) È stato ipotizzato che il miglioramento della funzione cognitiva possa essere spiegato dal fatto che la dieta fornisce al cervello anziano una fonte di energia più efficace (Volk, *The pharmacoresistant patient: when things get complicated*, 2018).

Oltre a servire come fonte di energia alternativa per il cervello, gli effetti di potenziamento cognitivo degli MCT possono essere correlati alla distribuzione e concentrazione cerebrale di PUFA, che sono coinvolti nel mantenimento della struttura neurale e diminuiscono, notoriamente, durante l'invecchiamento (Pan, et al., 2010).

Quest'ultima ipotesi è supportata dai risultati dello studio che Taha e colleghi hanno condotto su otto cani Beagle di età compresa tra 8 e 11 anni, con l'obiettivo di determinare se gli MCT somministrati con la dieta aumentassero le concentrazioni di acidi grassi polinsaturi omega-3

(*n*-3 PUFA) nel cervello dei cani anziani. Come citato in precedenza, questi composti fungono da componenti strutturali chiave delle membrane neuronali, e sono coinvolti nella neurogenesi e nella segnalazione cellulare (è stato riportato, ad esempio, che il consumo dietetico cronico di *n*-3 PUFA migliora le prestazioni cognitive in pazienti con morbo di Alzheimer da lieve a moderato). È stato dimostrato che la dieta chetogenica (che è ricca di acidi grassi saturi) aumenta gli *n*-3 PUFA nel sangue dei bambini e nel cervello dei ratti. È possibile che una dieta arricchita con olio di MCT possa avere un effetto simile (Taha, Henderson, & Burnham, 2009). Gli autori hanno analizzato mediante gas-cromatografia i campioni di corteccia parietale raccolti dai cani anziani che erano stati sottoposti per due mesi a una dieta di controllo o a una dieta integrata con una miscela di olio MCT (AC-1203) (Taha, Henderson, & Burnham, 2009). I risultati dello studio hanno dimostrato che il trattamento dietetico con olio MCT aumenta le concentrazioni di PUFA in varie frazioni lipidiche nella corteccia parietale dei cani anziani, suggerendo che una dieta contenente MCT può ridurre il declino cognitivo correlato all'età aumentando le concentrazioni di *n*-3 PUFA nel cervello e aumentando i substrati energetici rappresentati dai corpi chetonici (Taha, Henderson, & Burnham, 2009).

Sebbene l'olio MCT non contenga PUFA *n*-3, è possibile che l'aumento delle concentrazioni cerebrali di PUFA nel gruppo trattato con MCT sia dovuto a un effetto metabolico dell'AC-1203 sull'ossidazione degli acidi grassi e alla successiva redistribuzione dei PUFA dal tessuto adiposo e dal fegato al cervello (Taha, Henderson, & Burnham, 2009).

Pertanto, una dieta contenente MCT potrebbe ridurre il declino cognitivo correlato all'età sia aumentando i substrati energetici rappresentati dai corpi chetonici, sia aumentando le concentrazioni di *n*-3 PUFA nel cervello (Taha, Henderson, & Burnham, 2009).

Nel 2016, Packer e colleghi hanno condotto uno studio prospettico, randomizzato, in doppio cieco e controllato con placebo, della durata di sei mesi, con l'obiettivo di:

- descrivere il profilo comportamentale di cani affetti da IE durante la somministrazione di una dieta standardizzata, per determinare se nella popolazione era presente un comportamento simile all'ADHD;
- esaminare l'effetto di una MCTD sul profilo comportamentale di cani con IE, rispetto a una dieta di controllo standardizzata (compresi gli effetti sul comportamento ADHD-simile) (Packer, et al., 2016).

Sono stati arruolati 21 cani affetti da IE, in terapia con almeno un AED, che avevano riportato almeno tre crisi nei precedenti tre mesi, e sono stati sottoposti alla somministrazione di una MCTD/dieta di controllo standardizzata per tre mesi, per poi passare alla dieta alternativa per i successivi tre mesi. I cani di questo studio avevano un tipo di epilessia particolarmente grave,

con una frequenza mediana di 2,67 crisi al mese durante la fase placebo, nonostante il trattamento con PB e/o KBr, e oltre la metà presentava crisi a grappolo (Packer, et al., 2016). Quanto alle diete, entrambe le formule avevano la stessa composizione nutritiva, l'unica eccezione era che alla formula placebo non sono stati aggiunti MCT, e che è stato utilizzato lo strutto come sostituto del grasso per garantire che le formule fossero isocaloriche, mentre la formula di prova conteneva il 5,5% di MCT. Il contenuto di trigliceridi a catena media era pari a circa il 10% delle calorie totali della formula. La quantità di cibo somministrata al giorno è stata calcolata in base al peso di ciascun cane per fornire un fabbisogno nutrizionale adeguato, consentendo una deviazione del $\pm 10\%$ del consumo di cibo (kg) per tenere conto delle esigenze individuali di ciascun cane, considerando le differenze nel livello di attività e nelle condizioni fisiche. I cani sono stati portati a consumare solo gli alimenti dello studio, pertanto, anche gli spuntini sono stati sostituiti dai rispettivi alimenti placebo o MCTD (Packer, et al., 2016). Al termine di ogni periodo di tre mesi (placebo o MCTD), ai proprietari è stato chiesto di compilare un questionario comportamentale precedentemente convalidato per riferire sul comportamento del loro cane durante quel periodo, con tre comportamenti specifici ipotizzati come correlati all'ADHD:

- eccitabilità: i cani con punteggi elevati per questo fattore hanno forti reazioni agli eventi eccitanti, e hanno difficoltà a calmarsi dopo gli eventi, il che può assomigliare all'elevata reattività emotiva e all'eccitabilità osservate nell'ADHD;
- inseguimento: i cani con punteggi elevati per questo fattore hanno la tendenza a inseguire gatti, uccelli, scoiattoli e/o altri piccoli animali, il che può indicare un grado di iperattività tipico dell'ADHD;
- addestrabilità: i cani con punteggi bassi non sono attenti al padrone o disposti a obbedire ai comandi di base, si distraggono facilmente, non tendono ad apprendere velocemente e non tendono a recuperare gli oggetti/giocattoli lanciati, il che può assomigliare a una riduzione dell'attenzione con conseguenti deficit di apprendimento (Packer, et al., 2016).

I fattori comportamentali con il punteggio più alto nei periodi placebo e MCTD sono stati l'eccitabilità e l'inseguimento. Al contrario, il fattore comportamentale "addestrabilità" è risultato relativamente basso rispetto ai valori medi di addestrabilità dei cani sani. Non sono state trovate associazioni tra i fattori comportamentali legati all'ADHD (eccitabilità, inseguimento e addestrabilità) e le variabili cliniche (ad esempio frequenza delle crisi, esperienza di crisi a grappolo e punteggi VAS per atassia e sedazione) (Packer, et al., 2016).

La frequenza delle crisi è risultata significativamente più bassa quando i cani sono stati alimentati con la MCTD rispetto alla dieta placebo. La MCTD ha determinato anche un miglioramento significativo di uno dei fattori correlati all'ADHD, il comportamento di inseguimento, mentre non sono stati osservati cambiamenti significativi nell'eccitabilità e nell'addestrabilità. È stata registrata, però, anche una riduzione della paura diretta verso l'estraneo, effetto che può essere attribuito agli effetti ansiolitici della KD precedentemente descritti (Packer, et al., 2016).

Questi dati supportano l'ipotesi che i cani affetti da IE possano presentare comportamenti che assomigliano ai sintomi dell'ADHD osservati nell'uomo e nei modelli di epilessia nei roditori, e che una MCTD possa essere in grado di migliorare alcuni di questi comportamenti, oltre ad avere effetti potenzialmente ansiolitici (Packer, et al., 2016).

Nel 2016, Ijff e colleghi hanno riportato un impatto positivo sul funzionamento cognitivo in bambini e adolescenti dopo 4 mesi di consumo di KD. Sono stati osservati un miglioramento dell'umore e dell'attivazione cognitiva con un aumento della produttività, e il 71% dei casi riportati ha utilizzato una KD a base di MCT. Ciò suggerisce che gli MCT possano essere un promettente componente della dieta non solo per il controllo delle crisi nei cani e negli esseri umani affetti da epilessia, ma anche per la gestione del deterioramento cognitivo (*cognitive impairment – CI*) che si presenta come comorbilità (Berk, et al., Medium-chain triglycerides dietary supplement improves cognitive abilities in canine epilepsy, 2021).

Come citato in precedenza, l'epilessia canina è associata a comorbilità comportamentali e a deficit cognitivi recentemente riconosciuti. Rispetto ai controlli sani, i cani affetti da epilessia dimostrano un deterioramento cognitivo simile alla demenza in età più giovane, una ridotta capacità di addestramento alla politerapia o al trattamento specifico con AED, e alterazioni della memoria di lavoro spaziale (Berk, et al., Medium-chain triglycerides dietary supplement improves cognitive abilities in canine epilepsy, 2021).

Recentemente, il gruppo di Berk e colleghi ha valutato gli effetti a breve termine del consumo di olio MCT sulle capacità cognitive nei cani con epilessia, nell'ambito di uno studio prospettico di sei mesi, randomizzato, in doppio cieco, controllato, multicentrico, che ha confrontato una MCT-DS (integrazione giornaliera di MCT) con un controllo standardizzato. Gli animali presentavano diagnosi di IE livello II IVETF, e non dimostravano una riduzione del 50% nella SF nonostante la terapia con almeno un AED scelto e somministrato in modo appropriato. I cani sono stati randomizzati e divisi in due gruppi, in modo che uno dei due gruppi ricevesse, per tre mesi, l'integrazione di MCT oppure l'integratore di controllo, e sono stati poi scambiati per i successivi tre mesi. Tra le due fasi di tre mesi, è stato inserito, per ogni

cane, un periodo di wash-out della durata di sette giorni. Entrambe le DS (integrazioni giornaliere) sono state aggiunte alla dieta di base nella misura del 9% dell'energia metabolica (Berk, et al., Medium-chain triglycerides dietary supplement improves cognitive abilities in canine epilepsy, 2021).

Ventinove cani con epilessia hanno completato questo studio, di cui 18 sono stati sottoposti a valutazione cognitiva. Confrontando l'olio MCT con il controllo, sono stati osservati effetti di potenziamento cognitivo in due compiti cognitivi: la memoria di lavoro spaziale e la capacità di *problem-solving* differivano significativamente tra le due diete, il che è stato confermato da un questionario standardizzato e validato (C-BARQ), che ha mostrato anche un miglioramento dei punteggi di addestrabilità nella fase di MCT-DS. Quanto più alta era la concentrazione sierica postprandiale di BHB, tanto migliori erano le prestazioni dei cani nel compito di *problem-solving* (Berk, et al., Medium-chain triglycerides dietary supplement improves cognitive abilities in canine epilepsy, 2021).

In base ai risultati dello studio, l'integrazione con MCT può dunque rappresentare un'opzione promettente per affrontare il CI associato all'epilessia. Gli autori dello studio hanno sottolineato che è importante considerare la possibile influenza degli effetti collaterali degli AED sui risultati ottenuti: mentre la polifagia potrebbe influenzare la motivazione a trovare una ricompensa alimentare, l'atassia potrebbe portare a un rallentamento dei tempi di reazione e della coordinazione all'interno della stanza del test. Gli effetti collaterali associati alla terapia farmacologica possono dunque essere rilevanti e dovrebbero essere considerati come fattori limitanti quando si cerca di studiare in modo oggettivo il deterioramento cognitivo nei cani affetti da epilessia. Idealmente, per eliminare questi effetti, andrebbero condotti ulteriori studi per valutare la cognizione in cani epilettici *naive* al farmaco (Berk, et al., Medium-chain triglycerides dietary supplement improves cognitive abilities in canine epilepsy, 2021).

Gli autori dello studio hanno concluso che il miglioramento delle capacità cognitive riportate potrebbero essere dovute all'aumento continuo dei livelli di BHB, che funge da rifornimento energetico alternativo, e/o alla trasmissione neuronale positivamente modificata attraverso le interazioni con i recettori degli acidi grassi a catena media nel cervello (Berk, et al., Medium-chain triglycerides dietary supplement improves cognitive abilities in canine epilepsy, 2021).

Dunque, oltre ai benefici dimostrati degli MCT sulla frequenza delle crisi, vi sono prove anche di effetti potenzialmente benefici di questi sulle comorbidità comportamentali riscontrate nell'epilessia canina (Volk, The pharmacoresistant patient: when things get complicated, 2018).

6. NEUROSTIMOLAZIONE

Introduzione

L'utilizzo di vari metodi di neurostimolazione per il controllo delle crisi epilettiche è un campo in rapido sviluppo in epilettologia, specialmente nel trattamento dell'epilessia refrattaria. Risultati promettenti in Medicina Umana hanno fatto nascere un interesse per la neurostimolazione come opzione terapeutica anche in Medicina Veterinaria (Nowakowska, et al., 2022).

La neurostimolazione consiste in trattamenti in cui gli impulsi elettrici o magnetici vengono erogati direttamente al tessuto nervoso o intorno ad esso, per influenzare un substrato patologico e ottenere un effetto terapeutico (Martlé, et al., 2014).

Può essere eseguita sia a livello di SNP che di SNC. Quest'ultimo, è il caso della neurostimolazione applicata nel trattamento dell'epilessia (Nowakowska, et al., 2022). Gli impulsi elettrici o magnetici possono essere inviati al cervello direttamente (stimolazione intracranica) o indirettamente, stimolando i nervi cranici o mediante stimolazione magnetica transcranica (stimolazione extracranica). Questi trattamenti sono considerati strategie di terza linea per i pazienti umani le cui crisi continuano nonostante la migliore terapia medica, e che non sono candidati idonei alla resezione chirurgica (Martlé, et al., 2014).

Le metodiche attualmente applicate e descritte in Medicina Veterinaria sono la stimolazione del nervo vago (*Vagus Nerve Stimulation* - VNS), la stimolazione cerebrale profonda (*Deep Brain Stimulation* - DBS) e la stimolazione magnetica transcranica (*Transcranial Magnetic Stimulation* - TMS) (Nowakowska, et al., 2022).

Uno dei vantaggi dell'impiego di queste tecniche è il fatto che i parametri di stimolazione possono essere personalizzati e adattati individualmente per ogni paziente, e che il trattamento è reversibile (Martlé, et al., 2014). La necessità di decisioni individualizzate è evidente, infatti, quando si tratta di selezionare il metodo ottimale di neurostimolazione: ad esempio, non tutti i pazienti saranno idonei per la chirurgia o l'anestesia, dunque in questi casi l'impianto di elettrodi potrebbe essere controindicato (Nowakowska, et al., 2022).

Sebbene in molti pazienti questa tecnica consenta di ottenere una riduzione della frequenza delle crisi e un miglioramento netto della QoL, la neurostimolazione nel caso dell'epilessia è considerata un trattamento palliativo, poichè raramente il paziente raggiunge la libertà dalle crisi (Martlé, et al., 2014).

La stimolazione del tessuto neurale altera non solo le sue proprietà elettriche, ma anche il suo microambiente chimico. Diversi studi descrivono la sua influenza sul rilascio e la produzione

dei neurotrasmettitori, delle vescicole extracellulari, del fattore neurotrofico derivato dal cervello (*brain-derived neurotrophic factor* - BDNF) e sulla funzione recettoriale. Allo stesso modo, la neurostimolazione promuove l'attivazione delle cellule gliali, la segnalazione astrocitica e la proliferazione delle cellule progenitrici neuronali (Nowakowska, et al., 2022). L'efficacia della neurostimolazione spesso migliora nel tempo, il che potrebbe indicare un effetto neuromodulatore di lunga durata, sia a livello molecolare che mediante riorganizzazione di alcuni circuiti cerebrali (Martlé, et al., 2014).

È difficile individuare quali meccanismi esatti siano coinvolti nei risultati a lungo termine della neurostimolazione nell'epilessia: potrebbero derivare da modifiche nelle reti neurali epilettogene (è possibile che la neurostimolazione aiuti a interrompere le reti epilettogene patologiche), dagli effetti antinfiammatori o da altri processi più elusivi, come il coinvolgimento del microbiota intestinale o di processi antiossidanti (Nowakowska, et al., 2022).

Quanto alla prima ipotesi, sono necessarie ulteriori ricerche per capire se questo cambiamento sia permanente: è possibile che in alcuni pazienti le reti epilettogene si adattino al modello di stimolazione, e si riorganizzi una rete epilettogena alternativa; quest'ultimo meccanismo potrebbe essere responsabile della comparsa di una "fase luna di miele" dopo la stimolazione (questo effetto è stato osservato in pazienti con malattia di Parkinson trattati con DBS) (Nowakowska, et al., 2022).

Anche la VNS a lungo termine ha provocato cambiamenti nelle reti neurali: i dati dei pazienti supportano l'evidenza che la VNS moduli le reti neuronali in uno stato meno incline all'epilessia. Inoltre, a differenza della DBS, la VNS non induce una "fase luna di miele": al contrario, il suo effetto sembra migliorare con il tempo, il che potrebbe indicare un'influenza benefica di questa modalità di stimolazione sulle reti epilettiche (Nowakowska, et al., 2022).

Come citato in precedenza, è possibile che l'effetto della neurostimolazione nell'epilessia sia legato, in parte, ad effetti antinfiammatori forniti da questa tecnica. Sappiamo che l'infiammazione è un processo strettamente legato all'epilessia: le crisi possono provocare la produzione di citochine pro-infiammatorie, prostaglandine e chemochine da parte di glia e neuroni, che reclutano cellule immunitarie dal sangue periferico e portano all'infiammazione cerebrale (Nowakowska, et al., 2022). D'altra parte, l'attivazione dei recettori dell'immunità innata provoca rapidi cambiamenti nei flussi ionici dei neuroni, con conseguente ipereccitabilità e insorgenza o progressione di una crisi epilettica. L'infiammazione cerebrale modifica anche l'espressione dei geni coinvolti nella produzione dei recettori dei neurotrasmettitori, nella

neurogenesi e nella morte e sopravvivenza delle cellule. Questo porta a una riorganizzazione della rete e a cambiamenti nell'eccitabilità neuronale, che possono portare alla precipitazione del processo epilettogeno (Nowakowska, et al., 2022).

Il nervo vago, come parte del Sistema Nervoso Autonomo, è fortemente coinvolto nella modulazione della risposta immunitaria, e la stimolazione di efferenti e afferenti vagali ha mostrato effetti antinfiammatori, attribuiti alla segnalazione colinergica. I dati sperimentali supportano l'effetto positivo della VNS sulla neuroinfiammazione in vari modelli animali (Nowakowska, et al., 2022).

Anche gli effetti antinfiammatori della DBS sono stati dimostrati in modelli animali di epilessia. La DBS dell'ANT (nucleo anteriore del talamo) ha ridotto l'interruzione della barriera emato-encefalica e lo stravasamento di albumina, nonché l'infiammazione e l'apoptosi nei ratti con *status epilepticus* indotto chimicamente (Nowakowska, et al., 2022).

Potrebbero esserci altri processi che influenzano in misura minore l'insorgenza e la progressione dell'epilettogenesi, che potrebbero essere presi di mira dalla stimolazione cerebrale. Ad esempio, anche se la VNS breve non ha dimostrato di alterare la composizione del microbiota intestinale nei topi, la TMS ripetuta della corteccia prefrontale ha influenzato la funzione rettale di pazienti umani, presumibilmente influenzando anche il loro microbiota (Nowakowska, et al., 2022).

Un altro importante fattore epilettogeno è lo stress ossidativo, che porta alla disfunzione mitocondriale e allo squilibrio ionico nei neuroni. Effetti antiossidanti sono stati attribuiti alla neurostimolazione in caso di TMS nell'uomo, e in caso di VNS nel cane con danno miocardico ischemico, per cui è plausibile ipotizzare che possano svolgere un ruolo anche nei cervelli epilettici (Nowakowska, et al., 2022).

Per introdurre nuove metodologie in Medicina Veterinaria e consolidare quelle esistenti, sono necessarie ulteriori ricerche cliniche sul cane. Ciò consentirebbe di sviluppare protocolli affidabili per migliorare l'effetto antiepilettico ed evitare effetti collaterali indesiderati, in modo che la neurostimolazione diventi più efficace e più sicura per i pazienti (Nowakowska, et al., 2022). Sono necessari ulteriori studi per ottimizzare le modalità di trattamento e adattare i trattamenti alle esigenze dei singoli pazienti. Nella gestione dell'epilessia refrattaria del cane, i principali limiti includono la capacità di localizzare con precisione il focus epilettogeno e le barriere finanziarie (Martlé, et al., 2014).

Altrettanto importante è l'ulteriore delucidazione dei meccanismi d'azione che regolano i vari approcci di stimolazione. Nonostante negli ultimi decenni siano stati apportati miglioramenti

tecnologici significativi, infatti, la nostra comprensione del meccanismo d'azione della neurostimolazione nel contesto di molte malattie rimane vaga (Nowakowska, et al., 2022).

6.1 Stimolazione vagale

La stimolazione del nervo vago è un trattamento antiepilettico approvato per le epilessie parziali farmaco-resistenti nell'uomo (Volk, *The pharmaco-resistant patient: when things get complicated*, 2018). È stata ufficialmente approvata nel 1994 in Europa e nel 1997 negli Stati Uniti per il trattamento delle crisi epilettiche a esordio focale in pazienti refrattari, di età >12 anni, che non sono candidati alla resezione chirurgica. Ulteriori studi hanno anche dimostrato l'efficacia della VNS per il trattamento dell'epilessia refrattaria nei bambini e di alcuni tipi di epilessia generalizzata (Martlé, et al., 2014). Successivamente ha ottenuto l'approvazione come trattamento aggiuntivo dell'epilessia parziale resistente ai farmaci in pazienti di età ≥ 4 anni (Davis & Gaitanis, 2020).

Attualmente è utilizzata da oltre 100.000 pazienti in tutto il mondo (Nowakowska, et al., 2022). In Medicina Umana, quasi la metà dei pazienti trattati con VNS riporta una riduzione > 50% della frequenza delle crisi, ma solo un piccolo numero di questi raggiunge la libertà dalle crisi (Martlé, et al., 2014). Gli effetti secondari associati alla VNS includono il miglioramento dell'umore, della cognizione e della memoria, nonché la riduzione dell'ansia. Più recentemente è stato dimostrato che la VNS riduce l'incidenza di morte improvvisa inspiegabile nell'epilessia (*Sudden Unexpected Death in Epilepsy - SUDEP*) (Nowakowska, et al., 2022).

Si tratta di una tecnica generalmente ben tollerata: gli effetti collaterali, sebbene osservati abbastanza frequentemente, sono generalmente lievi e reversibili. Inoltre, l'efficacia della VNS migliora nel tempo, probabilmente a causa di un ulteriore effetto antiepilettico cronico, che si sviluppa dopo diversi mesi di trattamento (Martlé, et al., 2014).

Il nervo vago (decimo nervo cranico) è un nervo misto, il cui contingente vegetativo è predominante. Il suo territorio di distribuzione, essenzialmente viscerale, è particolarmente vasto, e raggiunge il limite della regione pelvica. Le sue funzioni sono notevoli sia per molteplicità che per importanza (Barone & Simoens, *Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - volume settimo*, 2012). Fornisce innervazione sensitiva e motoria al palato, alla faringe, alla laringe, alla trachea e all'esofago, nonché ai visceri toracici e addominali. Contiene soprattutto assoni viscerali afferenti generali (80%), che sono assoni sensoriali provenienti da questi organi (Evans & de Lahunta, 2013).

Le afferenze terminano nel nucleo del tratto solitario, che proietta a più regioni del cervello, tra le quali le più cruciali per l'effetto antiepilettico sembrano essere il *locus coeruleus* e il nucleo del rafe. Queste regioni vengono fortemente attivate dalla VNS, e determinano la produzione di neurotrasmettitori, come noradrenalina e serotonina, che stimolano gli interneuroni a rilasciare GABA, aumentando la soglia convulsiva dei neuroni. Altri potenziali meccanismi di azione anticonvulsivante della VNS includono cambiamenti nel flusso sanguigno nelle regioni correlate alla riduzione delle crisi, *up-regulation* della produzione di neurotrofine ed effetti antinfiammatori (Nowakowska, et al., 2022).

La VNS consiste nella stimolazione elettrica intermittente del nervo vago mediante un dispositivo impiantabile (Martlé, et al., 2014). Quest'ultimo è costituito da un elettrodo elicoidale posto attorno alla parte cervicale del nervo vago, un elettrocatetere connettivo e un generatore di impulsi, solitamente localizzato nella regione sottoclavicolare (Nowakowska, et al., 2022).

Di solito nel trattamento dell'epilessia, la VNS viene applicata al nervo vago sinistro in ragione della sua innervazione del nodo atrioventricolare del cuore (il nervo vago destro innerva il nodo senoatriale, la cui stimolazione potrebbe portare a gravi effetti avversi cardiaci). Nel cane, è impossibile evitare la stimolazione dei rami cardiaci, perché questi lasciano il nervo più distalmente, nella cavità toracica, rispetto a quanto avviene nell'uomo, pertanto gli elettrodi sono avvolti attorno al tronco vago simpatico sinistro. Di conseguenza, non si può escludere un'ulteriore stimolazione simpatica e un'influenza sul cuore (Nowakowska, et al., 2022).

Durante l'intervento chirurgico, il catodo viene posizionato rostralmente, l'anodo al centro e il cavo di ancoraggio sulla porzione caudale. Questa configurazione stimola prevalentemente le fibre vagali afferenti. Allo stesso tempo, non influenza la soglia dei potenziali d'azione delle fibre vagali, che rimangono sensibili solo all'ampiezza della corrente utilizzata per la stimolazione. Il generatore di impulsi può essere localizzato dorsalmente sulla regione cervicale sinistra o sul torace, sotto la fascia muscolare o il muscolo (il posizionamento sottocutaneo è sconsigliato per il rischio di migrazione e di formazione di sieromi). L'ampiezza della corrente utilizzata per la VNS invasiva nei cani varia, in letteratura, da 0,25 a 1,5 mA (Nowakowska, et al., 2022).

Nelle persone, il nervo vago è per lo più stimolato con una modalità a circuito aperto: secondo un ciclo di lavoro (con periodi ON e OFF), con ulteriore stimolazione extra fornita in caso di crisi acute dallo stesso paziente o dal *caregiver* grazie ad un magnete esterno. Gli stimolatori a circuito chiuso disponibili utilizzano algoritmi sofisticati per rilevare gli eventi epilettici sulla base dell'attività cardiaca ictale associata alle crisi. Nel cane, la VNS a circuito chiuso non è

ancora stata studiata, ma le prove condotte sugli esseri umani suggeriscono che questa potrebbe rivelarsi utile, soprattutto sul lungo termine, e potrebbe ridurre l'onere per gli operatori sanitari e il personale veterinario, in quanto questi ultimi non dovrebbero applicare la stimolazione aggiuntiva con il magnete esterno all'esordio della crisi (Nowakowska, et al., 2022).

Le prove degli effetti della VNS nell'epilessia canina sono molto meno abbondanti di quelle raccolte nei pazienti umani; nonostante questo, tale modalità di stimolazione si è già dimostrata benefica per cani con epilessia refrattaria (Nowakowska, et al., 2022).

Già nel 1992, uno studio condotto su venti cani di razza mista ha fornito le prime prove per un possibile utilizzo della VNS nel cane: la stimolazione elettrica ripetitiva del nervo vago cervicale della popolazione di cani oggetto dello studio ha dimostrato di interrompere o abolire le crisi motorie indotte dalla stricnina e i tremori indotti dal PTZ (Zabara, 1992).

Ci sono stati poi due trial scientifici e un *case report* che hanno dimostrato che la stimolazione vagale, al pari di quanto riportato in Medicina Umana, può avere effetti benefici anche nel cane in termini di riduzione di frequenza e severità delle crisi epilettiche. Tuttavia, il costo dell'impianto, attualmente estremamente elevato, limita fortemente questa possibilità (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Nel primo studio clinico, pubblicato nel 2002 da Muñana e colleghi, dieci cani con epilessia resistente ai farmaci sono stati assegnati in modo casuale a due periodi di prova di 13 settimane, uno con neurostimolazione e uno senza neurostimolazione. Durante le ultime quattro settimane del periodo di trattamento, è stata rilevata una significativa diminuzione della frequenza media delle crisi (34,4%) rispetto al periodo di controllo. Quattro dei nove cani hanno mostrato una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi in quello stesso periodo, mentre due di loro hanno risposto allo stesso modo nel corso dell'intero periodo di studio (Muñana, et al., 2002).

Le complicazioni hanno incluso bradicardia transitoria, asistolia e apnea durante il test intraoperatorio del dispositivo, e formazione di sieromi, migrazione sottocutanea del generatore e una transitoria sindrome di Horner durante il periodo di 14 giorni tra l'intervento e la rimozione della sutura. Non sono stati rilevati, però, effetti negativi legati alla stimolazione, e la maggior parte dei proprietari si è dichiarata soddisfatta del trattamento (Muñana, et al., 2002). Questo studio ha dimostrato che la VNS riduce la frequenza delle crisi in una sottopopolazione di cani con DRE (*drug-resistant epilepsy*), ma non è noto se l'effetto di inibizione delle crisi aumenti ulteriormente, come nelle persone, nei primi 6-8 mesi, e se la VNS rimanga efficace a lungo termine (Nowakowska, et al., 2022).

Hirashima e colleghi hanno recentemente pubblicato un *case report* con un periodo di follow-up più lungo: a un Pastore delle Shetland maschio non castrato di 5 anni è stato impiantato un

sistema di VNS, dopo una storia di quattro anni di crisi focali e crisi focali con generalizzazione secondaria (tonico-cloniche). Il cane era stato trattato con vari AED, con dosaggio e concentrazioni sieriche adeguate, senza mai raggiungere un buon controllo delle crisi. Gli autori hanno seguito il paziente da tre mesi prima dell'impianto fino a un anno dopo l'inizio della stimolazione. Sono stati valutati l'efficacia del trattamento e gli effetti avversi, e i parametri di stimolazione programmabili sono stati regolati al fine di ottimizzare l'intensità della stimolazione ed evitare gli effetti avversi (Hirashima, Saito, Igarashi, Takagi, & Hasegawa, 2021).

Durante il follow-up di un anno, è stata osservata una riduzione dell'87% nella frequenza delle crisi focali con generalizzazione secondaria, una riduzione dell'89% delle crisi a grappolo e una riduzione del 76% dei giorni in cui sono comparse crisi focali con generalizzazione secondaria. A causa della loro frequenza molto elevata, il numero di crisi focali non è stato calcolato prima della terapia con VNS, dunque non è stato possibile, poi, valutarne l'eventuale variazione nella frequenza. Infine, le crisi focali non sono andate incontro a generalizzazione secondaria quando il proprietario, al loro esordio, ha attivato esternamente il sistema di VNS con il magnete (Hirashima, Saito, Igarashi, Takagi, & Hasegawa, 2021).

Il proprietario ha riferito che il cane ha riacquisito la sua personalità, e la QoL sia del cane che del proprietario è migliorata. L'unico effetto avverso della VNS è stata la tosse, controllata regolando i parametri di stimolazione. Non ci sono state complicazioni chirurgiche o altri problemi con il dispositivo di VNS. Questa è stata la prima valutazione a lungo termine della terapia con VNS in un cane (Hirashima, Saito, Igarashi, Takagi, & Hasegawa, 2021).

L'effetto cognitivo della VNS non è ancora stato descritto nei cani affetti da epilessia, tuttavia, negli studi sopracitati, il trattamento ha migliorato la QoL complessiva dei cani trattati, anche nei casi in cui la frequenza delle crisi non è stata ridotta (Nowakowska, et al., 2022).

Gli effetti avversi più comuni della VNS invasiva nell'uomo comprendono infezione postoperatoria (3-6% dei casi), paresi delle corde vocali e paralisi del nervo facciale inferiore (Nowakowska, et al., 2022). La VNS sembra essere sicura nel cane, e ha anche il vantaggio di non dipendere dalla localizzazione del focus epilettogeno (Martlé, et al., 2014).

Gli effetti collaterali associati alla VNS nella specie canina includono sieroma nel sito di impianto, tosse e contrazioni muscolari durante il trattamento (Nowakowska, et al., 2022).

Il meccanismo d'azione della VNS nel cane è stato indagato dal gruppo di lavoro di Martlé e colleghi (2012): questi ultimi hanno dimostrato che la VNS acuta riduce il flusso ematico cerebrale regionale, valutato mediante SPECT, nella corteccia frontale sinistra e parietale destra

di cani Beagle adulti, e causa un aumento della noradrenalina nel liquido cerebrospinale (Martlé, et al., 2014).

Negli ultimi anni, nell'ambito dell'epilettologia umana, un grande interesse è riservato alla VNS transcutanea non invasiva (nVNS), la quale può essere applicata sulla pelle del padiglione auricolare (ramo auricolare del vago) oppure lungo la traiettoria del nervo sul collo. Gli approcci transcutanei richiedono una maggiore intensità di corrente, mentre gli altri parametri di stimolazione (ampiezza dell'impulso, frequenza e cicli di lavoro) rimangono generalmente simili alla VNS invasiva (Nowakowska, et al., 2022).

Sebbene manchino ancora ampie prove cliniche riguardanti la nVNS, i dati provenienti da studi preliminari condotti sull'uomo hanno dimostrato che questo metodo coinvolge gli stessi percorsi neurali della VNS invasiva, e determina una riduzione delle crisi nei pazienti con DRE (Nowakowska, et al., 2022). Quando utilizzata come trattamento aggiuntivo, ha portato infatti a segnalazioni di tassi di riduzione delle crisi che vanno dal 23 al 64,4 % (Robinson, et al., 2020).

I regimi di trattamento riportati nell'uomo variano ampiamente per l'epilessia refrattaria, spaziando da 1 a 3 volte al giorno per 15-240 minuti ciascuno (Robinson, et al., 2020).

La nVNS richiede programmi di stimolazione meno frequenti, il che comporta, nel complesso, meno effetti avversi (quelli più frequentemente riportati sono mal di testa, dolore auricolare/facciale e irritazione cutanea nel sito di stimolazione). Costituisce un interessante approccio alternativo per la Medicina Veterinaria, in particolare per i pazienti non idonei alla chirurgia (Nowakowska, et al., 2022).

Nel 2020, Robinson e colleghi hanno condotto uno studio pilota per valutare la fattibilità di uno stimolatore del nervo vago non invasivo portatile (gammaCore VET) come trattamento aggiuntivo su 14 cani affetti da epilessia idiopatica refrattaria. Gli animali sono stati sottoposti a trattamento con nVNS della durata di 8 o 16 settimane, con uno stimolatore non invasivo lungo la porzione cervicale del nervo vago sinistro (Robinson, et al., 2020).

Il dispositivo gammaCore VET produce un segnale costituito da cinque impulsi da 5.000 hertz (Hz) ripetuti a una frequenza di 25 Hz per un massimo di 120 s per stimolazione. La forma d'onda degli impulsi elettrici si avvicina a un'onda sinusoidale con tensione di picco limitata a 24 volt (V) quando contro la pelle del collo, e una corrente di uscita massima di 60 mA. L'ampiezza della stimolazione viene regolata utilizzando la rotella situata sul dispositivo, che va da 1 a 5 (Robinson, et al., 2020).

Il pelo di ciascun animale è stato tagliato sul lato sinistro del collo, e ai proprietari è stato chiesto di fornire la stimolazione del nervo vago tre volte al giorno applicando gel conduttivo sull'area rasata, sollevando il dispositivo e stimolando per 90-120 secondi. Si consigliava di posizionare il dispositivo a un'intensità di 2,5/5, ma questo poteva essere modificato in base alla tolleranza del cane (Robinson, et al., 2020).

La frequenza delle crisi, gli effetti avversi e i livelli sierici di anticonvulsivanti rispetto al basale sono stati confrontati tra il periodo di trattamento e il periodo di controllo. Nove cani hanno mostrato una riduzione della frequenza delle crisi rispetto al basale, di cui quattro hanno registrato una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi. Un paziente dello studio non ha mostrato alcun cambiamento, e altri quattro hanno sperimentato un aumento della frequenza delle crisi. Gli effetti avversi erano relativamente comuni (25%), ma per lo più di natura lieve, e nessuno è stato considerato grave (Robinson, et al., 2020).

Sono necessari ulteriori studi per chiarire attuabilità e sicurezza a lungo termine della nVNS nell'epilessia canina. La stimolazione auricolare potrebbe rivelarsi benefica, soprattutto in quei pazienti che non accettano manipolazioni intorno al collo, anche se la diversa anatomia delle orecchie dei cani potrebbe influenzare negativamente la standardizzazione di tale studio (Nowakowska, et al., 2022).

Anche la compressione oculare è stata descritta come metodo di stimolazione del nervo vago per controllare le crisi epilettiche nei cani (Volk, *The pharmacoresistant patient: when things get complicated*, 2018).

Nello studio di Speciale e colleghi, infatti, la compressione oculare (*ocular compression* - OC) è stata utilizzata per trattare sette cani con crisi epilettiche. Il trattamento è stato effettuato mediante pressione digitale applicata a uno o entrambi gli occhi da veterinari, personale ospedaliero o proprietari (Speciale & Stahlbrodt, 1999).

Gli autori ritenevano infatti che l'OC esercitasse un effetto attraverso la stimolazione del nervo vago. L'uso dell'OC si è dimostrato efficace per interrompere le crisi in tre cani, diminuire la frequenza cardiaca e provocare il rilassamento muscolare in un cane, e prevenire l'insorgenza delle crisi in altri due cani. In un cane, l'applicazione ritmica della OC ha causato l'insorgenza di contrazioni facciali ritmiche. Gli autori hanno concluso che la OC può essere utile nel trattamento di cani con crisi epilettiche (Speciale & Stahlbrodt, 1999).

6.2 Stimolazione cerebrale profonda

La stimolazione cerebrale profonda (DBS) differisce da altre forme di neuromodulazione in quanto, come suggerisce il nome, l'elettrodo stimolante è impiantato in profondità all'interno del tessuto neurale, tipicamente all'interno di un presunto nodo della rete epilettica (Davis & Gaitanis, 2020). Si tratta quindi di una tecnica di neurostimolazione intracranica (Martlé, et al., 2014). L'obiettivo è creare una lesione funzionale e reversibile di un nodo convulsivo che possa quindi modulare le dinamiche di rete e prevenire l'inizio o la propagazione delle crisi. Come con i sistemi sopracitati, un elettrodo di stimolazione viene impiantato all'interno della regione target e collegato a un generatore di impulsi impiantato sottocute (Davis & Gaitanis, 2020). La DBS può essere indirizzata a strutture cerebrali che hanno un ruolo cruciale di attivazione, inibizione o controllo nella rete epilettogena (come il talamo), oppure può essere utilizzata direttamente sul focus epilettogeno. Questa seconda strategia di stimolazione è più comunemente applicata per la TLE, in cui la corrente viene erogata alle strutture del lobo temporale mediale, come l'amigdala e l'ippocampo (Martlé, et al., 2014).

Una delle principali questioni affrontate negli studi sperimentali e negli studi clinici pilota ha riguardato la scelta del bersaglio anatomico ottimale: per i pazienti umani affetti da epilessia, sono stati studiati molti bersagli neurali, tra cui il cervelletto, il nucleo subtalamico, il nucleo centro-mediano del talamo e l'ippocampo (Nowakowska, et al., 2022).

Il bersaglio di gran lunga più studiato, il nucleo anteriore del talamo (ANT), è una struttura della linea mediana che è densamente e reciprocamente in comunicazione con la corteccia, ed è quindi un nodo importante nella propagazione e generalizzazione delle crisi (Davis & Gaitanis, 2020).

In uno studio randomizzato multicentrico in doppio cieco (studio SANTE) è stata stabilita l'efficacia della stimolazione bilaterale dell'ANT. La popolazione dello studio era rappresentata da 110 adulti con crisi parziali refrattarie alla terapia medica, con possibile generalizzazione

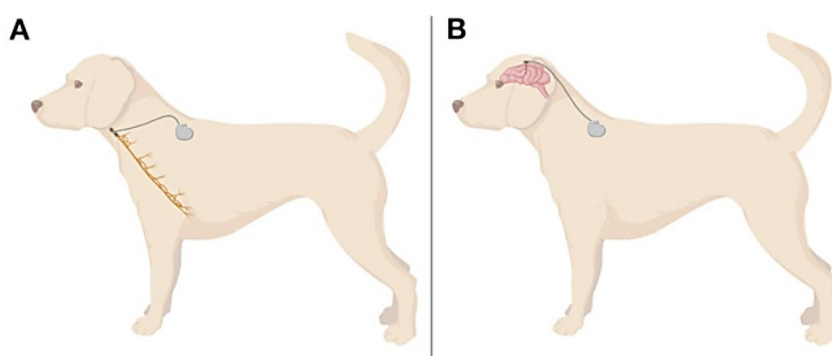


Figura 10: Illustrazione dimostrativa dell'assemblaggio di VNS invasiva (A) e DBS (B) in un cane. Gli elettrodi VNS sono per lo più avvolti attorno alla porzione cervicale del nervo vago sinistro, mentre gli elettrodi DBS sono generalmente posizionati nei nuclei talamici. I fili e un dispositivo di controllo si trovano solitamente in una regione cervicale dorsale (Nowakowska, et al., 2022).

secondaria, con una frequenza mediana mensile di crisi al basale pari a 19,5. Tutti i partecipanti sono stati sottoposti a impianti bilaterali di elettrodi. La randomizzazione ha assegnato 54 pazienti al gruppo stimolato e 55 al gruppo di controllo, con caratteristiche demografiche e anamnesi comparabili (Fisher, et al., 2010).

Dopo tre mesi di trattamento in cieco, tutti i partecipanti hanno ricevuto la stimolazione dal mese 4 al mese 13 in una fase in aperto, durante la quale erano consentite limitate modifiche ai parametri di stimolazione. Alla fine del mese 13, i partecipanti sono entrati nella fase di follow-up a lungo termine, in cui gli AED e i parametri di stimolazione potevano variare liberamente (Fisher, et al., 2010).

Nell'ultimo mese della fase in cieco, il gruppo stimolato ha riportato una riduzione delle crisi del 29% maggiore rispetto al gruppo di controllo: nel gruppo stimolato, la riduzione mediana della frequenza delle crisi a tre mesi è stata del 40,4%, rispetto al 14,5% del gruppo di controllo senza stimolazione. Il gruppo di controllo è migliorato dopo il mese 4, con l'inizio della stimolazione (Fisher, et al., 2010).

Crisi parziali complesse e crisi "più gravi" sono state significativamente ridotte dalla stimolazione. In due anni di studio, è stata riportata una riduzione percentuale mediana del 56% nella frequenza delle crisi. Il 54% dei pazienti ha avuto una riduzione $\geq 50\%$ delle crisi, le convulsioni sono state meno gravi e la QoL è migliorata. 14 pazienti sono stati liberi da crisi per almeno 6 mesi. Si sono verificati cinque decessi, nessuno dovuto all'impianto o alla stimolazione (Fisher, et al., 2010).

Nessun partecipante ha riportato emorragia sintomatica o infezione cerebrale. Due partecipanti hanno avuto crisi acute e transitorie associate alla stimolazione. La cognizione e l'umore non hanno mostrato differenze di gruppo, ma i partecipanti del gruppo stimolato avevano maggiori probabilità di segnalare depressione o problemi di memoria (Fisher, et al., 2010).

La popolazione oggetto dello studio SANTE è stata sottoposta poi a follow-up a lungo termine, al fine di valutare se la frequenza delle crisi continuasse a migliorare nel tempo con la stimolazione talamica anteriore in aperto: il follow-up a lungo termine è iniziato 13 mesi dopo l'impianto del dispositivo, ed è proseguito per altri 4 anni, con parametri di stimolazione regolati a discrezione dei ricercatori. La frequenza delle crisi è stata determinata utilizzando i diari delle crisi giornaliere. (Salanova, et al., 2015).

Rispetto al basale, la percentuale mediana di riduzione delle crisi a un anno è stata del 41%, ed è stata del 69% a cinque anni. Il tasso di *responder* (soggetti che hanno riportato una riduzione $\geq 50\%$ della frequenza delle crisi) a un anno era del 43%, e del 68% a cinque anni. Nei cinque anni di follow-up, il 16% dei soggetti ha raggiunto la libertà dalle crisi per almeno sei mesi.

Non sono stati segnalati effetti avversi imprevisti legati al dispositivo o emorragie intracraniche sintomatiche (Salanova, et al., 2015).

La DBS a lungo termine per l'epilessia ha mostrato quindi una riduzione della frequenza delle crisi prolungata e statisticamente significativa rispetto al basale dopo 1, 2, 3, 4 e 5 anni di stimolazione. A mostrare un miglioramento significativo sono stati anche i tassi di risposta, la gravità delle crisi, e la QoL (cinque anni dopo l'impianto, quasi la metà dei soggetti ha sperimentato un miglioramento clinicamente significativo della qualità della vita) (Salanova, et al., 2015).

Alcuni sottogruppi sono migliorati rispetto al basale, inclusi quelli con origine delle crisi a livello temporale o frontale, quelli con o senza precedente VNS e quelli con precedente intervento chirurgico per l'epilessia. Le crisi originate in lobi diversi da quelli frontale e temporale hanno mostrato tendenze verso il miglioramento, ma le piccole dimensioni del campione e la variabilità hanno precluso il raggiungimento della significatività (Salanova, et al., 2015).

Alcuni soggetti hanno riportato problemi di umore e memoria, ma i test neuropsicologici oggettivi dell'intero gruppo di studio hanno mostrato un miglioramento dell'attenzione, della funzione esecutiva, della depressione, della tensione/ansia, dei disturbi dell'umore e della funzione cognitiva soggettiva rispetto al basale. Resta da determinare se vi siano fattori di rischio individuali che predispongono all'insorgenza o al peggioramento della depressione e della cognizione durante la stimolazione con ANT (Salanova, et al., 2015).

Studi di follow-up a lungo termine hanno dunque fornito prove del fatto che l'efficacia di questo tipo di terapia può aumentare ulteriormente con stimolazione prolungata (Nowakowska, et al., 2022).

Sulla base di questi risultati, ad oggi la DBS dell'ANT è una terapia approvata in Europa, Stati Uniti, Canada, Sud America e Australia per il trattamento dell'epilessia umana resistente ai farmaci in pazienti con crisi ad insorgenza focale (Nowakowska, et al., 2022).

Nonostante la crescente quantità di dati clinici sull'uomo e il crescente interesse per la stimolazione cerebrale profonda dell'ANT per la gestione della DRE, ci sono ancora varie questioni aperte per quanto riguarda i meccanismi, la selezione dei pazienti, le tecniche di posizionamento degli elettrodi e la programmazione ottimale. In linea con il ruolo dell'ANT come hub di rete nei circuiti limbici, esistono prove che i pazienti con epilessia del lobo temporale mostrano una risposta favorevole rispetto ai pazienti con epilessia del lobo frontale ed epilessia con altre sedi (Nowakowska, et al., 2022).

Secondo un consenso di esperti, le controindicazioni per la stimolazione cerebrale profonda a livello di ANT comprendono eziologia progressiva, disturbi psichiatrici, controindicazioni alla risonanza magnetica (ad esempio, impianti elettrici di vecchia generazione come pacemaker cardiaci, pompe per insulina, oppure corpi estranei metallici) e diari delle crisi incompleti (Nowakowska, et al., 2022).

Come citato in precedenza, resta ancora da chiarire, ad oggi, il meccanismo d'azione della DBS nella riduzione delle crisi epilettiche (Martlé, et al., 2014).

Considerando l'impatto della stimolazione ad alta frequenza sull'ictogenesi, sono stati discussi diversi meccanismi:

- attivazione preferenziale dei neuroni inibitori GABAergici;
- alterazioni nelle concentrazioni extracellulari di potassio;
- desincronizzazione delle attività neuronali;
- riduzione del reclutamento dei neuroni nell'attività ritmica epilettica (Nowakowska, et al., 2022).

Alcuni *case report* in pazienti umani hanno già suggerito la DBS del CMNT (nucleo centromediano del talamo) o dell'ANT come terapia di salvataggio per lo stato epilettico super refrattario (Nowakowska, et al., 2022).

Considerando le prove che dimostrano che il CMNT può svolgere un ruolo durante la fase iniziale o la fase tardiva di una crisi epilettica, in uno studio che riporta la DBS in un cane con progressivo aumento della gravità delle crisi, frequenti crisi a grappolo e ripetuti episodi di evoluzione in *status epilepticus*, l'elettrodo di stimolazione è stato posizionato in questo nucleo talamico (Zamora, et al., 2021).

Zamora e colleghi hanno applicato, infatti, una stimolazione multiscala e ritmica del CMNT in un cane di quattro anni di razza mista (Terranova/San Bernardo) affetto da epilessia idiopatica refrattaria ai farmaci e con crisi associate a fasi di veglia/sonno. L'approccio individualizzato ha preso in considerazione la ritmicità circadiana e infradiana e la modulazione dei ritmi biologici da parte dei meccanismi fisiopatologici associati alla malattia (Zamora, et al., 2021). Lo sviluppo di approcci diversi è di particolare interesse se si considera l'impatto negativo della DBS su ritmi e qualità del sonno, e il frequente legame tra l'ictogenesi e determinate fasi del sonno o del risveglio in molti pazienti. Pertanto, un approccio individualizzato che tenga conto dei ritmi biologici può, da un lato, limitare gli effetti avversi della DBS, e dall'altro prevenire o arrestare meglio le crisi epilettiche adattando la stimolazione alla situazione e agli stati di vigilanza (Nowakowska, et al., 2022).

In questo caso, la stimolazione poteva portare il cane all'ipervigilanza, dunque la terapia è stata adattata in modo che variasse nel tempo, integrata da transizioni adattative basate su attività/inattività. Il modello temporale per la regolazione della stimolazione è stato introdotto in modo da allineare l'intensità massima della stimolazione con i tempi di picco dell'attività delle crisi, come registrato nel diario delle crisi tenuto dal proprietario. La tempistica delle crisi ha motivato un modello adattivo circadiano per la stimolazione; secondo il proprietario, le crisi erano generalmente collegate agli stati di sonno (Zamora, et al., 2021).

L'algoritmo di stimolazione adattato applicato comprendeva tre livelli con intensità di stimolazione crescente:

- stimolazione circadiana basale durante le fasi di veglia e di attività, con una modalità diurna e una notturna (13 Hz e 0,5 o 0,7 mA, infatti la stimolazione diurna viene abbassata a 0,5 mA per evitare qualsiasi effetto collaterale della stimolazione e risparmiare energia durante gli intervalli di bassa probabilità di crisi);
- stimolazione elevata durante le fasi di sonno del paziente più soggette a crisi, per proteggere dalle crisi improvvise associate al sonno, in base alla valutazione dell'attività/inattività tramite accelerometro (13 Hz, 1,3 mA);
- stimolazione ad alta ampiezza e ad alta frequenza per interrompere la crisi in caso di crisi improvvise (burst di 130 Hz, 1,5 mA) (Zamora, et al., 2021).

Quest'ultima modalità può essere attivata dal *caregiver* con un tocco del dispositivo sulla fronte o tramite un computer tablet. L'impianto e l'applicazione dell'algoritmo di stimolazione descritto in questo paziente ha permesso di prevenire con successo lo stato epilettico e di ridurre le crisi a grappolo coerenti durante un periodo di follow-up di 7 mesi (Zamora, et al., 2021).

In sintesi, questi studi hanno fornito una dimostrazione di fattibilità per quei dispositivi adattabili che combinano il rilevamento fisiologico degli stati di attività e di vigilanza con un approccio cronoterapico. I risultati suggeriscono che vale la pena esplorare ulteriormente il potenziale terapeutico e la tollerabilità degli approcci di stimolazione ritmica cerebrale su più scale, e sottolineano il ruolo del cane come modello traslazionale (Nowakowska, et al., 2022).

Un altro dispositivo sperimentale a circuito chiuso, che rileva e stimola sia l'ippocampo che i nuclei anteriori del talamo, è stato impiantato in due cani con epilessia idiopatica. Gli autori hanno riferito che il dispositivo ha tracciato con successo l'attività convulsiva, ma non hanno riferito quanto esso sia riuscito a sopprimere le crisi epilettiche (Nowakowska, et al., 2022).

In Medicina Veterinaria, sono necessari ulteriori studi randomizzati per capire se la DBS debba essere sviluppata come strumento terapeutico clinico nonostante i suoi costi significativi e la necessità di competenze neurochirurgiche avanzate (Nowakowska, et al., 2022).

6.3 Neurostimolazione reattiva

I classici sistemi VNS e DBS sono sistemi a circuito aperto, che forniscono una stimolazione intermittente costante indipendente da qualsiasi attività clinica o elettrografica (Martlé, et al., 2014). La premessa di base della neurostimolazione reattiva (RNS) è che l'applicazione di correnti elettriche direttamente al cervello può essere mirata, applicandola soltanto in risposta al rilevamento dell'attività epilettiforme in corso. Questa configurazione di base prevede una combinazione di elettrodi di registrazione dell'elettrocorticogramma e di elettrodi di stimolazione, e un design del circuito che consente di attivare la stimolazione in risposta al rilevamento dell'attività convulsiva, che a sua volta si basa su criteri di soglia predefiniti. Questo circuito elettrografico-stimolatorio, che non richiede l'intervento umano dopo la configurazione iniziale, viene attivato da modelli di attività endogena anziché essere applicato in modo continuo. Si tratta quindi di un “circuito chiuso”. La premessa di base della RNS a circuito chiuso è che correnti elevate, sufficienti a interrompere l'attività di rete in corso, possono essere applicate specificamente durante una crisi epilettica per interromperla (Davis & Gaitanis, 2020).

In generale, le soglie e i parametri di stimolazione sono definiti dal medico di ciascun paziente sulla base dei dati dell'elettrocorticogramma di quel paziente, rendendo difficile il confronto incrociato dei parametri. Attualmente esiste un dispositivo approvato dalla FDA (RNS System, NeuroPace, Mountain View, California) per l'uso nell'epilessia (Davis & Gaitanis, 2020).

Questo sistema RNS impiantabile è costituito da un neurostimolatore impiantato cranialmente, collegato a uno o più elettrodi di profondità e agli elettrodi EEG. Gli elettrodi di profondità forniscono stimolazione elettrica al focus epilettogeno ogni volta che l'attività epilettica viene rilevata dagli elettrodi EEG. L'impianto dello stimolatore nel cranio invece che nella regione sottoclavicolare ha meno complicazioni (come infezione e rottura dell'elettrocattetero) (Martlé, et al., 2014).

I risultati dei primi studi sono incoraggianti (Martlé, et al., 2014). Nel 2011 è stato condotto uno studio clinico multicentrico, in doppio cieco, randomizzato e controllato, che ha valutato

la sicurezza e l'efficacia della stimolazione corticale reattiva come terapia aggiuntiva per le crisi ad esordio parziale in adulti con epilessia refrattaria ai farmaci: in 191 partecipanti allo studio è stato impiantato un neurostimolatore reattivo collegato a elettrodi profondi o subdurali posizionati in uno o due foci epilettogeni predeterminati. Il neurostimolatore era stato programmato per rilevare un'attività elettrocorticografica anomala. Un mese dopo l'impianto, i soggetti sono stati randomizzati affinché ricevessero la stimolazione in risposta ai rilevamenti (trattamento) o non ricevessero alcuna stimolazione (Morrell, 2011).

L'efficacia e la sicurezza sono state valutate nel corso di un periodo in cieco di 12 settimane e di un successivo periodo in aperto di 84 settimane, durante il quale tutti i soggetti hanno ricevuto stimolazione reattiva (Morrell, 2011).

Le crisi sono state significativamente ridotte nel gruppo di trattamento (-37,9%) rispetto al gruppo di controllo (-17,3%) durante il periodo in cieco, e non vi è stata alcuna differenza tra i due gruppi per quanto riguarda gli eventi avversi. Durante il periodo in aperto, la riduzione delle crisi è stata sostenuta nel gruppo di trattamento, e le crisi sono state significativamente ridotte nel gruppo di controllo all'inizio della stimolazione. Sono stati registrati anche miglioramenti significativi della QoL complessiva, e nessun deterioramento dell'umore o della funzione neuropsicologica (Morrell, 2011).

Gli autori hanno concluso che la stimolazione corticale reattiva riduce la frequenza delle crisi parziali invalidanti, è associata a miglioramenti della QoL ed è ben tollerata, senza effetti sull'umore o sulle capacità cognitive. Può dunque fornire un'altra opzione di trattamento aggiuntivo per pazienti adulti con crisi parziali che non rispondono alla terapia medica (Morrell, 2011).

Come nel caso della VNS, i predittori di efficacia nell'utilizzo della RNS non sono ancora stati stabiliti in modo definitivo (Davis & Gaitanis, 2020).

Ad oggi la RNS del focus e della rete neurale epilettogena è approvata come terapia negli Stati Uniti (Nowakowska, et al., 2022).

Rilevamento e previsione delle crisi e sua applicazione alla neurostimolazione

Una lacuna fondamentale in epilettologia è la mancanza di diari accurati delle crisi. Infatti, tutti gli studi farmacologici e gli studi sui dispositivi di neurostimolazione condotti fino ad ora si sono basati sui diari dei pazienti, nonostante la loro inaffidabilità (Nowakowska, et al., 2022).

Sebbene NeuroPace RNS e Medtronic Percept dispongano di funzionalità di registrazione, non forniscono in modo affidabile diari delle crisi accurati. I recenti progressi dei dispositivi, tra cui lo streaming continuo dell'elettroencefalogramma intracranico (iEEG), gli algoritmi di rilevamento interni ed esterni al corpo e l'aumento dell'archiviazione dei dati sul dispositivo, sono pronti a superare questa importante lacuna ingegneristica (Nowakowska, et al., 2022).

L'importanza potenziale della previsione delle crisi è ampiamente riconosciuta. Le indagini condotte da RNS Neuropace Inc. dimostrano che le crisi epilettiche sono difficili da arrestare una volta rilevate sui macroelettrodi iEED clinici. Nella pratica clinica, questo porta generalmente all'utilizzo di un rilevatore altamente sensibile che comporta > 100 stimolazioni elettriche responsive al giorno per un'efficacia ottimale (Nowakowska, et al., 2022).

La previsione delle crisi epilettiche con una sensibilità relativamente buona è stata dimostrata nei cani e negli esseri umani utilizzando l'iEEG registrato in continuo. Ciò ha aperto una potenziale nuova finestra terapeutica in cui la neurostimolazione o i trattamenti farmacologici potrebbero essere regolati in base alla probabilità di insorgenza delle crisi (Nowakowska, et al., 2022).

6.4 Stimolazione magnetica transcranica

La stimolazione magnetica transcranica (TMS) utilizza campi magnetici alternati per creare un campo elettrico secondario che consente una stimolazione cerebrale non invasiva (Nowakowska, et al., 2022). Questa stimolazione magnetica induce infatti un piccolo campo elettrico focale nella corteccia cerebrale sotto la bobina (Martlé, et al., 2014).

Negli ultimi decenni è aumentato l'uso clinico della TMS ripetitiva (rTMS) (Nowakowska, et al., 2022). La frequenza della rTMS è una componente importante, che ne determina l'effetto: la rTMS a bassa frequenza (<1 Hz) ha un effetto di soppressione delle crisi, mentre la rTMS ad alta frequenza (>1 Hz) aumenta l'eccitabilità corticale e può persino indurre convulsioni. Il meccanismo attraverso il quale viene raggiunto il possibile effetto di soppressione delle crisi della rTMS a bassa frequenza è in gran parte sconosciuto (Martlé, et al., 2014). Tuttavia, il principio alla base di ciò viene principalmente attribuito ai cambiamenti nella plasticità sinaptica sotto forma di potenziamento a lungo termine o depressione a lungo termine (Nowakowska, et al., 2022).

Di solito, la TMS a bassa frequenza è ben tollerata, ma gli effetti collaterali a lungo termine e i protocolli di stimolazione ottimali rimangono poco conosciuti. Uno dei principali vantaggi è che si tratta di una tecnica non invasiva (Martlé, et al., 2014).

Nell'epilessia, la rTMS si concentra su una precisa zona epilettogena oppure su reti epilettogeniche diffuse (Nowakowska, et al., 2022). Sembra essere più efficace nei pazienti con epilessia neocorticale piuttosto che del lobo temporale mediale (Martlé, et al., 2014). Le aree corticali sono principalmente interessate dalla rTMS in quanto il suo effetto diminuisce con il quadrato della distanza dalla bobina; questo è in contrasto con altre tecniche di neurostimolazione, come la DBS, che possono influenzare direttamente le aree sottocorticali. Quindi, le reti epilettogeniche situate più in profondità della corteccia (come i nuclei cerebrali o i nuclei talamici in particolare) hanno meno probabilità di essere stimulate, a meno che l'output della bobina non sia forte e/o i tessuti tra la bobina e il cervello (cioè cranio, muscoli) non siano abbastanza sottili da consentire la penetrazione del campo magnetico focalizzato fino a queste aree. Tuttavia, gli studi hanno dimostrato che la rTMS può anche avere un impatto su queste aree subcorticali, alterando la funzione e la connettività di varie reti neurali (Nowakowska, et al., 2022).

La rTMS a bassa frequenza mirata a un'area corticale predeterminata è stata considerata una terapia di supporto per la soppressione delle crisi nello stato epilettico refrattario che non risponde alle opzioni terapeutiche convenzionali. La rTMS iciale ha fornito risultati promettenti nell'interruzione di crisi prolungate in corso in pazienti umani all'interno di unità di degenza o di terapia intensiva. In un *case report*, un paziente è stato trattato con rTMS per 8 giorni (0,5 Hz, 60 min), e questo ha determinato un netto miglioramento clinico della sua condizione, che ha permesso al paziente di essere rimosso dal respiratore e mandato in una clinica di riabilitazione dopo le dimissioni (Nowakowska, et al., 2022).

In un altro studio, un miglioramento simile è stato ottenuto con un solo ciclo di stimolazione in uno dei due pazienti (1 Hz, 20 min), mentre un altro paziente (1 Hz, 30 min) ha risposto con un aumento della frequenza delle crisi a 72 h dalla rTMS dopo un miglioramento temporaneo a 48 h. In un altro paziente, la rTMS ha portato alla libertà dalle crisi con AED a dosi più basse dopo 11 giorni di stimolazione (1 Hz, 10 min). Va notato che i miglioramenti riportati mostrano periodi piuttosto eterogenei che vanno da ore a mesi (Nowakowska, et al., 2022).

La rTMS interictale, invece, viene applicata a intervalli prestabiliti e in sessioni strutturate. Il primo studio cardine sulla rTMS interictale ha riportato un miglioramento transitorio con circa il 38% di riduzione dell'incidenza di crisi a settimana in 9 pazienti durante le 4 settimane

successive al trattamento (0,33 Hz, 500 impulsi di 2 cicli al giorno, 5 giorni consecutivi) (Nowakowska, et al., 2022).

Uno studio successivo ha riportato miglioramenti solo nei pazienti con un singolo focolo epilettico (2/4 pazienti) dopo un trattamento di 4 settimane (0,5 Hz, 100 impulsi, applicati due volte a settimana), ma non nei pazienti con focolai multipli. Sebbene non sia stato possibile riprodurre tale effetto benefico in un altro studio con focolai epilettici singoli o multipli, i risultati eterogenei sono stati attribuiti alle differenze nel tipo di bobina, nel posizionamento della bobina, nel numero e nella posizione dei focolai epilettici (Nowakowska, et al., 2022).

Uno studio clinico controllato relativamente recente ha riportato l'assenza di qualsiasi miglioramento dopo rTMS (0,5 Hz, 1.500 impulsi/giorno, 10 giorni feriali) in pazienti con epilessia focale ben definita durante il periodo di follow-up di 10 settimane, indipendentemente dal tipo di bobina utilizzato (a forma di 8, circolare o bobina finta – *sham coil*) (Nowakowska, et al., 2022).

Differenze nella frequenza di stimolazione (da 0,3 a 1 Hz), nel tipo di bobina (bobine a forma di 8, a forma di cono o rotonde), nel rendimento (> 70% vs. < 70%) e nel posizionamento (sul focus epilettico, sul vertice o sul cervelletto) nonché nel periodo di stimolazione (da giorni a settimane) e nel modello (giorni consecutivi o intermittenti), oltre all'eterogeneità dei pazienti e alle piccole dimensioni delle coorti negli studi clinici, impediscono, nel complesso, un confronto sistematico diretto e la deduzione di un protocollo di trattamento standardizzato (Nowakowska, et al., 2022).

Il primo report sull'uso della rTMS nei cani affetti da epilessia è stato presentato come abstract durante il 60° meeting annuale dell'*American Epilepsy Society* nel 2006. Sebbene si trattasse di uno studio non controllato e non randomizzato, che includeva solo un numero molto ridotto di soggetti ($n = 3$), i risultati preliminari hanno mostrato un aumento dell'intervallo delle crisi dopo la stimolazione rispetto al basale; tuttavia, non sono stati riportati ulteriori dettagli sull'esito (Nowakowska, et al., 2022).

Un recente studio ha mostrato su una popolazione di dodici cani che la stimolazione magnetica ripetitiva transcranica può essere uno strumento non invasivo per la riduzione della frequenza delle crisi epilettiche in soggetti refrattari alla terapia (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022). Si trattava di uno studio clinico randomizzato in singolo cieco e *sham coil*-controllato, che ha coinvolto dodici cani con IE resistente ai farmaci (Charalambous, et al., 2020).

Durante la fase di trattamento, i cani hanno ricevuto rTMS (attiva o con bobina finta) per un'ora al giorno, per cinque giorni consecutivi. Nel complesso, i parametri di stimolazione e l'ambiente

di studio erano esattamente gli stessi in entrambi i gruppi, l'unica differenza era che un gruppo riceveva una stimolazione inattiva. Nei cani sottoposti a trattamento rTMS attivo, la bobina rotonda (diametro esterno di 15 cm) è stata applicata parallelamente e a contatto con il cranio del cane, con il suo centro posizionato sul vertice, in modo da stimolare globalmente la corteccia; i parametri di stimolazione erano 18 cicli di 90 impulsi per ciclo con una frequenza di 1 Hz (cioè 1 impulso al secondo) e un intervallo tra i cicli di 120 secondi (Charalambous, et al., 2020).

La frequenza mensile delle crisi, la frequenza mensile dei giorni di crisi e il numero di crisi a grappolo sono stati valutati in un periodo pre-TMS e post-TMS di tre mesi, ed è stata valutata la sicurezza del trattamento. Sono state osservate riduzioni significative della frequenza mensile delle crisi e della frequenza mensile dei giorni di crisi nei pazienti stimolati attivamente (7/12), ma non nei pazienti trattati con bobina finta (5/12) (Charalambous, et al., 2020).

Successivamente, la popolazione di cani del gruppo *sham coil* è stata sottoposta a stimolazione attiva con gli stessi parametri, ottenendo anch'essa una riduzione significativa sia della frequenza mensile delle crisi che della frequenza mensile dei giorni di crisi (Charalambous, et al., 2020).

Gli effetti positivi sono durati quattro mesi, e non sono stati segnalati effetti collaterali legati al trattamento (Charalambous, et al., 2020). Questi risultati sono piuttosto incoraggianti se confrontati con i rapporti discordanti degli studi sull'uomo (Nowakowska, et al., 2022).

Gli autori hanno concluso che la stimolazione magnetica transcranica ripetitiva può essere un'opzione terapeutica aggiuntiva sicura per i cani con IE resistente ai farmaci, ma che sono necessari studi su larga scala per stabilire conclusioni definitive (Charalambous, et al., 2020).

Attualmente, nel cane, le limitazioni consistono soprattutto nella reperibilità degli strumenti e nella necessità di fare sedute in sedazione profonda (Gandini, Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario?, 2022).

Per motivi pratici, infatti, i pazienti canini, a differenza di quelli umani, richiedono invariabilmente una sedazione, che attenua l'entità dell'eccitazione corticale ottenuta con la TMS. Sebbene i farmaci anestetici possano sopprimere l'attività neuronale, gli effetti neuronali della rTMS sono stati dimostrati in ratti anestetizzati. In uno studio sperimentale sui cani, è stato rilevato un aumento del flusso sanguigno cerebrale nel sito di stimolazione sia in anestesia che in sedazione, con aumenti più elevati ma più brevi nei cani in sedazione. Lo studio ha dimostrato che, nonostante l'effetto dell'anestesia e della sedazione sulle reti neurali, è possibile ottenere aumenti comparabili e clinicamente rilevanti del flusso sanguigno cerebrale nei cani quando stimolati con la rTMS (Nowakowska, et al., 2022).

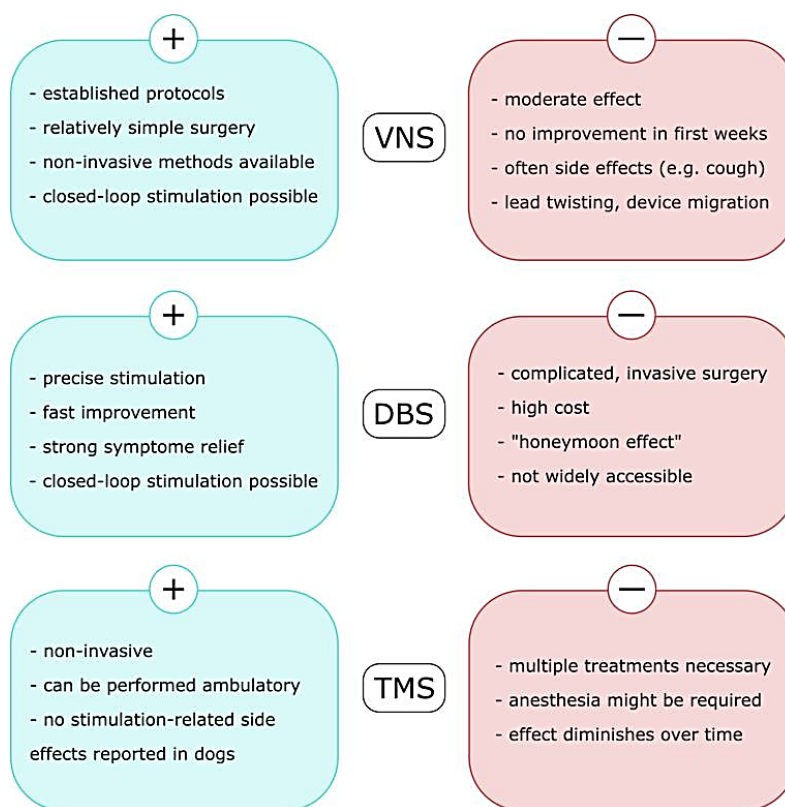


Figura 11: vantaggi e svantaggi relativi a ciascuno dei metodi di neurostimolazione utilizzati in Medicina Veterinaria per trattare l'epilessia resistente ai farmaci nel cane (Nowakowska, et al., 2022)

6.5 Stimolazione transcranica a corrente continua

Un metodo di stimolazione non invasiva utilizzato come trattamento nell'uomo con epilessia e fino ad ora non studiato nel cane è la stimolazione transcranica a corrente diretta (*Transcranial Direct Current Stimulation* - tDCS). Questa utilizza un flusso debole (1-2 mA) costante e unidirezionale di carica elettrica, applicato al cuoio capelluto attraverso elettrodi montati sulla pelle con un mezzo di contatto elettrolitico (ad esempio, un gel conduttivo). La corrente modula i potenziali di membrana, determinando un'alterazione dell'eccitabilità neuronale. L'effetto della stimolazione dipende dalla direzione e dall'intensità della corrente applicata: la tDCS anodica (positiva) porta generalmente a un aumento dell'eccitabilità

corticale, mentre la tDCS catodica (negativa) ne determina l'inibizione (Nowakowska, et al., 2022).

Diversi studi sull'uomo hanno mostrato risultati promettenti, tra cui la soppressione delle scariche epilettiformi e la diminuzione della frequenza delle crisi in seguito al trattamento con tDCS. Tra gli effetti avversi, sono stati segnalati lieve prurito e irritazione della pelle nel sito di stimolazione (Nowakowska, et al., 2022).

Considerandone la natura non invasiva, i risultati positivi, le sessioni relativamente brevi (di solito 20 minuti al giorno) e la mancanza di effetti collaterali gravi descritti, la tDCS rappresenta un'eccellente opportunità per i cani affetti da epilessia: anch'essa potrebbe essere considerata una strategia non invasiva per la stimolazione a lungo termine in pazienti non idonei alla chirurgia (Nowakowska, et al., 2022).

Conclusioni

La neurostimolazione (VNS, DBS e RNS) rappresenta una terapia consolidata nella gestione della DRE umana. Tutti questi approcci si sono dimostrati in grado di ridurre la frequenza delle crisi e il carico della malattia sia in Medicina Umana che in Medicina Veterinaria, cosa che, insieme al fatto che gli effetti collaterali associati ad essi sono lievi, permette di concludere che tali trattamenti dovrebbero essere considerati come un'opzione alternativa di trattamento a lungo termine della DRE nel cane (Nowakowska, et al., 2022).

L'applicazione della stimolazione cerebrale è attualmente limitata all'arresto delle crisi epilettiche al loro esordio, sia quando applicata secondo una modalità a circuito aperto che a circuito chiuso. Tuttavia, prove empiriche dell'influenza della stimolazione elettrica sul processo epilettogeno sono già disponibili in modelli animali: ad esempio, nei ratti, la DBS eseguita a intervalli irregolari durante le fasi interictali ha rallentato la progressione dell'epilettogenesi indotta da *kindling* e ha ridotto la durata delle crisi generalizzate; inoltre, la stimolazione a bassa frequenza ha migliorato le funzioni cognitive e la memoria durante l'epilettogenesi in un modello di ratto sottoposto a *kindling*, cosa che suggerisce la sua influenza su vaste reti neuronali (Nowakowska, et al., 2022).

Un ragionevole ambito per la ricerca sulla neurostimolazione in epilettologia potrebbe essere dunque, in futuro, l'esplorazione del suo potenziale antiepilettogeno, e la possibilità di modificare la malattia tramite questa tecnica (Nowakowska, et al., 2022)

CONCLUSIONI

L'epilessia è considerata, attualmente, la malattia neurologica cronica più comune nel cane. Nella gestione del paziente affetto da epilessia idiopatica è fondamentale l'impostazione di una terapia personalizzata, che sia indirizzata al bilanciamento tra un buon controllo delle crisi epilettiche e gli effetti collaterali dei farmaci impiegati. Fondamentale, a questo scopo, è l'introduzione di una stretta collaborazione tra proprietario e Medico Veterinario: l'educazione del proprietario, infatti, è uno dei punti fondamentali per il raggiungimento della gestione migliore possibile del paziente epilettico, poiché più il proprietario viene istruito sulla malattia, sulle sue comorbidità, sul trattamento antiepilettico e nutrizionale, più imparerà a convivere al meglio con la condizione del proprio animale, e a supportare il Medico Veterinario nella cura del paziente.

L'epilessia farmaco-resistente continua a rappresentare una sfida importante per la Medicina Veterinaria, e sono necessari ulteriori studi per svelare la sua fisiopatologia e determinare i fattori di rischio clinici, al fine di sviluppare nuove strategie di trattamento che siano personalizzate per il paziente, e massimizzare la risposta agli AED. Spesso, purtroppo, tale condizione può condurre all'eutanasia dell'animale per le difficoltà gestionali da parte del proprietario e per la compromissione della qualità della vita del paziente.

Ad oggi, sono in corso ampie ricerche rispetto al ruolo che interventi terapeutici più innovativi possono rappresentare nella gestione del paziente epilettico, quando associati alla terapia farmacologica. La somministrazione di cannabinoidi (CBD), la somministrazione di una dieta che comprenda MCT, e la neurostimolazione hanno dimostrato efficacia e sicurezza, nella maggior parte degli studi condotti fino ad ora, nel migliorare il controllo delle crisi epilettiche nei cani affetti da epilessia idiopatica refrattaria alla terapia farmacologica, e alcuni di questi approcci hanno dimostrato potenziali effetti benefici anche sulle comorbidità comportamentali associate alla malattia. Sono necessari ulteriori studi, tuttavia, per individuare l'efficacia e la sicurezza a lungo termine di queste tipologie di intervento nella gestione dell'epilessia idiopatica nei nostri animali.

Bibliografia

- Alves, L., Hülsmeier, V., Jaggy, A., Fischer, A., Leeb, T., & Drögemüller, M. (2011). Polymorphisms in the ABCB1 Gene in Phenobarbital Responsive and Resistant Idiopathic Epileptic Border Collies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(3), 484-489.
- Amazonas, E. (2021). Cytochrome P450 - The Pharmacology of Cannabinoids. In S. Cital, K. Kramer, L. Hughstone, & J. S. Gaynor, *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine - A Complete Guide* (p. 46-49). Springer.
- Armaşu, M., Packer, R., Cook, S., Solcan, G., & Volk, H. A. (2014). An exploratory study using a statistical approach as a platform for clinical reasoning in canine epilepsy. *The Veterinary Journal*, 202(2), 292-296.
- Azzam, R., & Azar, N. J. (2013). Marked Seizure Reduction after MCT Supplementation. *Case Reports in Neurological Medicine*.
- Bai, Y.-F., Zeng, C., Jia, M., & Xiao, B. (2022). Molecular mechanisms of topiramate and its clinical value in epilepsy. *Seizure: European Journal of Epilepsy*, 98, 51-56.
- Barone, R. (2006). *Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - vol sesto*. Bologna: Edagricole.
- Barone, R., & Simoens, P. (2012). *Anatomia comparata dei Mammiferi domestici - volume settimo*. Bologna: Edagricole.
- Berendt, M., Farquhar, R. G., Mandigers, P. J., Pakozdy, A., Bhatti, S. F., De Risio, L., . . . Volk, H. A. (2015). International veterinary epilepsies task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. *BMC Veterinary Research*.
- Berk, B. A., Law, T. H., Packer, R. M., Wessmann, A., Bathen-Nöthen, A., Jokinen, T. S., . . . Volk, H. A. (2020). A multicenter randomized controlled trial of medium-chain triglyceride dietary supplementation on epilepsy in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(3), 1248-1259.
- Berk, B. A., Ottka, C., Law, T. H., Packer, R. M., Wessmann, A., Bathen-Nöthen, A., . . . Volk, H. A. (2022). Metabolic fingerprinting of dogs with idiopathic epilepsy receiving a

- ketogenic medium-chain triglyceride (MCT) oil. *Frontiers in Veterinary Science*, 9(935430).
- Berk, B. A., Packer, R. M., Law, T. H., & Volk, H. A. (2018). Investigating owner use of dietary supplements in dogs with idiopathic epilepsy. *Research in Veterinary Science*, 119, 276-284.
- Berk, B. A., Packer, R. M., Law, T. H., Wessmann, A., Bathen-Nöthen, A., Jokinen, T. S., . . . Volk, H. A. (2021). Medium-chain triglycerides dietary supplement improves cognitive abilities in canine epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, 114(107608).
- Bernardini, M. (2002). *Neurologia del cane e del gatto*. Milano: Poletto editore srl.
- Beyreuther, B. K., Freitag, G., Heer, C., Krebsfanger, N., Scharfenecker, U., & Stöhr, T. (2007). Lacosamide: A Review of Preclinical Properties. *CNS Drug Reviews*, 13(1), 21-42.
- Bhatti, S. F., De Risio, L., Muñana, K., Penderis, J., Stein, V. M., Tipold, A., . . . Volk, H. A. (2015). International Veterinary Epilepsy Task Force consensus proposal: medical treatment of canine epilepsy in Europe. *BMC Veterinary Research*.
- Boothe, D. M., Dewey, C., & Carpenter, D. M. (2012). Comparison of phenobarbital with bromide as a first-choice antiepileptic drug for treatment of epilepsy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(9).
- Boothe, D. M., Dewey, C., & Carpenter, D. M. (2012). Comparison of phenobarbital with bromide as a first-choice antiepileptic drug for treatment of epilepsy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(9).
- Borges, K., Kaul, N., Germaine, J., Carrasco-Pozo, C., Kwan, P., & O'Brien, T. J. (2020). Open-label long-term treatment of add-on triheptanoin in adults with drug-resistant epilepsy. *Epilepsia Open*, 230-239.
- Borges, K., Kaul, N., Germaine, J., Kwan, P., & O'Brien, T. J. (2019). Randomized trial of add-on triheptanoin vs medium chain triglycerides in adults with refractory epilepsy. *Epilepsia Open*, 4(1), 153-163.
- Bortolami, R., & Callegari, E. (1999). *Neurologia ed estesiologia degli animali domestici - capitolo 4*. Bologna: Edagricole.

- Braakman, H. M., & van Ingen, J. (2018). Can epilepsy be treated by antibiotics? *Journal of Neurology*, 265, 1934-1936.
- Brandt, C., Heile, A., Potschka, H., Stohr, T., & Löscher, W. (2006). Effects of the novel antiepileptic drug Lacosamide on the development of amygdala kindling in rats. *Epilepsia*, 47(11), 1803-1809.
- Brutlag, A. (2021). Toxicology. In S. Cital, K. Kramer, L. Hughston, & J. S. Gaynor, *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine - A Complete Guide* (p. 61-83). Springer.
- Carona, A., Bicker, J., Silva, R., Fonseca, C., Falcão, A., & Fortuna, A. (2021). Pharmacology of lacosamide: from its molecular mechanisms and pharmacokinetics to future therapeutic applications. *Life Sciences*, 275.
- Charalambous, M., Brodbelt, D., & Volk, H. A. (2014). Treatment in canine epilepsy - a systematic review. *BMC Veterinary Research*, 10(257).
- Charalambous, M., Van Ham, L., Broeckx, B. J., Roggeman, T., Carrette, S., Vonck, K., . . . Bhatti, S. F. (2020). Repetitive transcranial magnetic stimulation in drug-resistant idiopathic epilepsy of dogs: a noninvasive neurostimulation technique. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(6), 2555-2561.
- Chicoine, A., Illing, K., Vuong, S., Pinto, R. K., Alcorn, J., & Cosford, K. (2020). Pharmacokinetic and Safety Evaluation of Various Oral Doses of a Novel 1:20 THC:CBD Cannabis Herbal Extract in Dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(583404).
- Cho, K.-O., Lybrand, Z. R., Ito, N., Bruletto, R., Tafacory, F., Zhang, L., . . . Hsieh, J. (2015). Aberrant hippocampal neurogenesis contributes to epilepsy and associated cognitive decline. *Nature Communications*.
- Coelho, M. R., Leme, F. d., Moreira, F. A., Branco, S. E., Melo, M. M., & de Melo, E. G. (2021). Current review of hemp-based medicines in dogs. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 44, 870-882.
- Contreras-García, I. J., Cárdenas-Rodríguez, N., Romo-Mancillas, A., Bandala, C., Zamudio, S. R., Gómez-Manzo, S., . . . Pichardo-Macías, L. A. (2022). Levetiracetam mechanisms of action: from molecules to systems. *Pharmaceuticals*, 15(475).

- Copas, G., Amazonas, E., & Brandon, S. (2021). The Pharmacology of Cannabinoids. In S. Cital, K. Kramer, L. Hughston, & J. S. Gaynor, *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine - A Complete Guide* (p. 17-59). Springer.
- Corsato Alvarenga, I., Panickar, K. S., Hess, H., & McGrath, S. (2023). Scientific Validation of Cannabidiol for Management of Dog and Cat Diseases. *Annual Review of Animal Biosciences*, *11*, 227-246.
- Davis, P., & Gaitanis, J. (2020). Neuromodulation for the treatment of epilepsy: a review of current approaches and future directions. *Clinical Therapeutics*, *42*(7), 1140-1154.
- de Biase, S., Gigli, G., & Valente, M. (2020). Brivaracetam for the treatment of focal-onset seizures: pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluations. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, *16*(10), 853-863.
- de Lahunta, A., Glass, E., & Kent, M. (2021). *De Lahunta's Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology - fifth edition*. Elsevier, Inc.
- De Risio, L., & Platt, S. (2014). *Canine and feline epilepsy*. CABI.
- De Risio, L., Bhatti, S., Muñana, K., Penderis, J., Stein, V., Tipold, A., . . . Volk, H. A. (2015). International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. *BMC Veterinary Research*.
- Deabold, K. A., Schwark, W. S., Wolf, L., & Wakshlag, J. J. (2019). Single-Dose Pharmacokinetics and Preliminary Safety Assessment with Use of CBD-Rich Hemp Nutraceutical in Healthy Dogs and Cats. *Animals*, *9*(832).
- DeGiorgio, C. M., & Taha, A. (2016). Omega-3 fatty acids (ω -3 fatty acids) in epilepsy: animal models and human clinical trials. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *16*(10), 1141-1145.
- DeGiorgio, C. M., Miller, P. R., Harper, R., Gornbein, J., Schrader, L., Soss, J., & Meymandi, S. (2015). Fish oil (n-3 fatty acids) in drug resistant epilepsy: a randomised placebo-controlled crossover study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, *86*(1), 65-70.
- Dewey, C. W., & da Costa, C. R. (2016). *Practical Guide to Canine and Feline Neurology - 3rd edition*. Jhon Wiley & Sons, Inc.

- Dewey, C. W., Cerda-Gonzalez, S., Levine, J. M., Badgley, B. L., Ducoté, J. M., Silver, G. M., . . . Lavelly, J. A. (2009). Pregabalin as an adjunct to phenobarbital, potassium bromide, or a combination of phenobarbital and potassium bromide for treatment of dogs with suspected idiopathic epilepsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 235(12), 1442-1449.
- Dewey, C. W., Rishniw, M., & Sakovitch, K. (2022). Felbamate as an oral add-on therapy in six dogs with presumptive idiopathic epilepsy and generalized seizures resistant to drug therapy. *Open Veterinary Journal*, 12(4), 445-450.
- Durazzo, M., Ferro, A., Brascugli, I., Mattivi, S., Fagoonee, S., & Pellicano, R. (2022). Extra-Intestinal Manifestations of Celiac Disease: What Should We Know in 2022? *Journal of Clinical Medicine*, 11(258).
- Edwards, R., Schmidley, J. W., & Simon, R. P. (1983). How often does a CSF pleocytosis follow generalized convulsions? *Annals of Neurology*(13), 460-462.
- Erath, J. R., Nessler, J. N., Riese, F., Hünerfauth, E., Rohn, K., & Tipold, A. (2020). Behavioral changes under levetiracetam treatment in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(169).
- Escayg, A., & Goldin, A. L. (2010). Sodium channel SCN1A and epilepsy: Mutations and mechanisms. *Epilepsia*, 51(9), 1650-1658.
- Evans, H. E., & de Lahunta, A. (2013). *Miller's Anatomy of the dog - fourth edition*. Elsevier Saunders.
- Fisher, R., Salanova, V., Witt, T., Worth, R., Henry, T., Gross, R., . . . SANTE, S. G. (2010). Electrical stimulation of the anterior nucleus of thalamus for treatment of refractory epilepsy. *Epilepsia*, 51(5), 899-908.
- Fredsø, N., Sabers, A., Toft, N., Møller, A., & Berendt, M. (2016). A single-blinded phenobarbital-controlled trial of levetiracetam as mono-therapy in dogs with newly diagnosed epilepsy. *The Veterinary Journal*, 208, 44-49.
- Fukunaga, K., Saito, M., Muto, M., Mishima, K., Fujiwara, M., & Orito, K. (2008). Effects of urine pH modification on pharmacokinetics of phenobarbital in healthy dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 31(5), 387-487.

- Gagliardo, T., Gandini, G., Gallucci, A., Menchetti, M., Bianchi, E., Turba, M. E., . . . Gentilini, F. (2019). ABCB1 c.-6-180T > G polymorphism and clinical risk factors in a multi-breed cohort of dogs with refractory idiopathic epilepsy. *The Veterinary Journal*, 253.
- Gallucci, A., Gagliardo, T., Menchetti, M., Bianchi, E., Bucci, D., & Gandini, G. (2017). Long-term efficacy of imepitoin in the treatment of naive dogs affected by idiopathic epilepsy. *Veterinary Record*, 181(6), 126-152.
- Gandini, G. (2015). L'epilessia del cane: un moderno approccio clinico e terapeutico. *Veterinaria*(Anno 29 - n°1).
- Gandini, G. (2018). Sfumature cliniche delle crisi epilettiche: non solo "grande male". *Congresso internazionale multisala SCIVAC Rimini, 25-27 MAGGIO 2018*, (p. 203-205).
- Gandini, G. (2022). Cosa posso fare per un paziente epilettico refrattario? *Congresso internazionale multisala SCIVAC Rimini, 27-29 maggio 2022*, (p. 292-296).
- Garcia, G. A., Kube, S., Carrera-Justiz, S., Tittle, D., & Wakshlag, J. J. (2022). Safety and efficacy of cannabidiol-cannabidiolic acid rich hemp extract in the treatment of refractory epileptic seizures in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 9(939966).
- Golubovic, S. B., & Rossmeisl Jr, J. H. (2017). Status epilepticus in dogs and cats, part 1: etiopathogenesis, epidemiology, and diagnosis. *Journal of Veterinary Emergencies and Critical Care*, 27, 278-287.
- Gonçalves, R., Anderson, T. J., Innocent, G., & Penderis, J. (2010). Effect of seizures on cerebrospinal fluid analysis in dogs with idiopathic epilepsy. *Veterinary Record*(166), 497-498.
- Gong, X., Cai, Q., Liu, X., An, D., Zhou, D., Luo, R., . . . Hong, Z. (2021). Gut flora and metabolism are altered in epilepsy and partially restored after ketogenic diets. *Microbial Pathogenesis*, 155(104899).
- Gorjipour, H., Darougar, S., Mansouri, M., Karimzadeh, P., Hassanvand Amouzadeh, M., & Sohrabi, M. R. (2019). Hypoallergenic diet may control refractory epilepsy in allergic children: a quasi experimental study. *Scientific Reports*, 9(1)(6875).

- Han, F. Y., Conboy-Schmidt, L., Rybachuk, G., Volger, H. A., Zanghi, B., Pan, Y., & Borges, K. (2021). Dietary medium chain triglycerides for management of epilepsy: new data from human, dog, and rodent studies. *Epilepsia*, *62*(8), 1790-1806.
- He, Z., Cui, B.-T., Zhang, T., Li, P., Long, C.-Y., Ji, G.-Z., & Zhang, F.-M. (2017). Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: The first report. *World Journal of Gastroenterology*, *23*(19), 3565-3568.
- Hirashima, J., Saito, M., Igarashi, H., Takagi, S., & Hasegawa, D. (2021). Case Report: 1-Year Follow-Up of Vagus Nerve Stimulation in a Dog With Drug-Resistant Epilepsy. *Frontiers in Veterinary Science*, *8*(708407).
- Hollis, F., Mitchell, E. S., Canto, C., Wang, D., & Sandi, C. (2018). Medium chain triglyceride diet reduces anxiety-like behaviors and enhances social competitiveness in rats. *Neuropharmacology*, *138*, 245-256.
- Hülsmeier, V.-I., Fischer, A., Mandigers, P. J., DeRisio, L., Berendt, M., Rusbridge, C., . . . Volk, H. A. (2015). International Veterinary Epilepsy Task Force's current understanding of idiopathic epilepsy of genetic or suspected genetic origin in purebred dogs. *BMC Veterinary Research*.
- Kiviranta, A. -M., Laitinen-Vapaavuori, O., Hielm-Björkman, A., & Jokinen, T. (2013). Topiramate as an add-on antiepileptic drug in treating refractory canine idiopathic epilepsy. *Journal of Small Animal Practice*, *54*(10), 512-520.
- Kogan, L., Schoenfeld-Tacher, R., Hellyer, P., & Rishniw, M. (2018). US Veterinarians' Knowledge, Experience, and Perception Regarding the Use of Cannabidiol for Canine Medical Conditions. *Frontiers in Veterinary Science*, *5*.
- Kriechbaumer, S. R., Jurina, K., Wielaender, F., Schenk, H. C., Steinberg, T. A., Reese, S., . . . Fischer, A. (2022). Pregabalin add-on vs. dose increase in Levetiracetam add-on treatment: a real-life trial in dogs with drug-resistant epilepsy. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*.
- Kwan, P., Arzimanoglou, A., Berg, A. T., Brodie, M. J., Hauser, A., Mathern, G., . . . French, J. (2010). Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *51*(6), 1069-1077.

- Larsen, J. A., Owens, T. J., & Fascetti, A. J. (2014). Nutritional management of idiopathic epilepsy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 245(5).
- Law, T. H., Davies, E. S., Pan, Y., Zanghi, B., Elizabeth, W., & Volk, H. A. (2015). A randomised trial of a medium-chain TAG diet as treatment for dogs with idiopathic epilepsy. *British Journal of Nutrition*(114), 1438-1447.
- Levitski, R. E., & Trepanier, L. A. (2000). Effect of timing of blood collection on serum phenobarbital concentrations in dogs with epilepsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217(2).
- Lince-Rivera, I., Martínez Córdoba, N., & Ortiz De la Rosa, J. (2022). Narrative review of brivaracetam for genetic generalized epilepsies. *Seizure: European Journal of Epilepsy*, 103, 72-81.
- Lord, L. K., & Podell, M. (1999). Owner perception of the care of long-term phenobarbital-treated epileptic dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 40, 11-15.
- Maguire, P. J., Fettman, M. J., Smith, M. O., Greco, D. S., Turner, S. A., Walton, J. A., & Ogilvie, G. K. (2000). Effects of diet on pharmacokinetics of phenobarbital in healthy dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217(6).
- March, P. A., Hillier, A., Weisbrode, S. E., Mattoon, J. S., Johnson, S. E., DiBartola, S. P., & Brofman, P. J. (2004). Superficial necrolytic dermatitis in 11 dogs with a history of phenobarbital administration (1995-2002). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(1), 65-74.
- Martlé, V., Van Ham, L., Raedt, R., Vonck, K., Boon, P., & Bhatti, S. (2014). Non-pharmacological treatment options for refractory epilepsy: An overview of human treatment modalities and their potential utility in dogs. *The Veterinary Journal*, 199(3), 332-339.
- Masino, S. A., Freedgood, N. R., Reichert, H. R., Director, C. J., Whittemore, V. H., & Zupcekania, B. (2019). Dietary intervention for canine epilepsy: two case reports. *Epilepsia Open*(4), 193-199.
- McGrath, S., Bartner, L. R., Rao, S., Packer, R. A., & Gustafson, D. L. (2019). Randomized blinded controlled clinical trial to assess the effect of oral cannabidiol administration in addition to conventional antiepileptic treatment on seizure frequency in dogs with

- intractable idiopathic epilepsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 254(11).
- Medel-Matus, J.-S., Shin, D., Dorfman, E., Sankar, R., & Mazarati, A. (2018). Facilitation of kindling epileptogenesis by chronic stress may be mediated by intestinal microbiome. *Epilepsia Open*, 3(2), 290-294.
- Mellema, L. M., Koblik, P. D., Kortz, G. D., LeCouteur, R. A., Chechowicz, M. A., & Dickinson, P. J. (1999). Reversible magnetic resonance imaging abnormalities in dogs following seizures. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 40(6), 588-595.
- Mizukami, K., Yabuki, A., Chang, H.-S., Uddin, M. M., Rahman, M. M., Kushida, K., . . . Yamato, O. (2013). High Frequency of a Single Nucleotide Substitution (c.-6-180T>G) of the Canine MDR1/ABCB1 Gene Associated with Phenobarbital-Resistant Idiopathic Epilepsy in Border Collie Dogs. *Disease Markers*, 35(6), 669-672.
- Molina, J., Clementine, J.-P., Conboy, L., Añor, S., de la Fuente, C., Wrzosek, M. A., . . . Volk, H. A. (2020). Efficacy of medium chain triglyceride oil dietary supplementation in reducing seizure frequency in dogs with idiopathic epilepsy without cluster seizures: a non-blinded, prospective clinical trial. *Veterinary Record*, 187 (9)(356).
- Morrell, M. J. (2011). Responsive cortical stimulation for the treatment of medically intractable partial epilepsy. *Neurology*, 77(13), 1295-1304.
- Moseley, B. D., Chanteux, H., Nicolas, J.-M., Laloyaux, C., Gidal, B., & Stockis, A. (2020). A review of the drug–drug interactions of the antiepileptic drug brivaracetam. *Epilepsy Research*, 163.
- Muñana, K. R. (2013). Management of Refractory Epilepsy. *Topics in Companion Animal Medicine*, 28(2), 67-71.
- Muñana, K. R., Thomas, W. B., Inzana, K. D., Nettifee-Osborne, J. A., McLucas, K. J., Olby, N. J., . . . Presto, P. J. (2012). Evaluation of levetiracetam as adjunctive treatment for refractory canine epilepsy: a randomized, placebo-controlled, crossover trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(2), 341-348.
- Muñana, K. R., Vitek, S. M., Tarver, W. B., Saito, M., Skeen, T. M., Sharp, N. J., . . . Haglund, M. M. (2002). Use of vagal nerve stimulation as a treatment for refractory epilepsy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(7), 977-983.

- Neßle, J., Rundfeldt, C., Löscher, W., Kostic, D., Keefe, T., & Tipold, A. (2017). Clinical evaluation of a combination therapy of imepitoin with phenobarbital in dogs with refractory idiopathic epilepsy. *BMC Veterinary Research*, *13*(33).
- Noebels, J. L. (2003). Exploring New Gene Discoveries in Idiopathic Generalized Epilepsy. *Epilepsia*, *44*, 16-21.
- Nowakowska, M., Üçal, M., Charalambous, M., Bhatti, S. F., Denison, T., Meller, S., . . . Volk, H. A. (2022). Neurostimulation as a method of treatment and a preventive measure in canine drug-resistant epilepsy: current state and future prospects. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*(889561).
- Olson, C. A., Vuong, H. E., Yano, J. M., Liang, Q. Y., Nusbaum, D. J., & Hsiao, E. Y. (2018). The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet. *Cell*, *173*(7), 1728-1741.
- Packer, R. M., Law, T. H., Davies, E., Zanghi, B., Pan, Y., & Volk, H. A. (2016). Effects of a ketogenic diet on ADHD-like behavior in dogs with idiopathic epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, *55*, 62-68.
- Packer, R. M., Nye, G., Porte, S. E., & Volk, H. A. (2015). Assessment into the usage of levetiracetam in a canine epilepsy clinic. *BMC Veterinary Research*, *11*(25).
- Packer, R. M., Shihab, N. K., Torres, B. B., & Volk, H. A. (2014). Clinical risk factors associated with anti-epileptic drug responsiveness in canine epilepsy. *PLOS ONE*, *9*(8).
- Pan, Y., Larson, B., Araujo, J. A., Lau, W., de Rivera, C., Santana, R., . . . Milgram, N. W. (2010). Dietary supplementation with medium-chain TAG has long-lasting cognition-enhancing effects in aged dogs. *British Journal of Nutrition*, *103*(12), 1746-1754.
- Panebianco, M., Prabhakar, H., & Marson, A. G. (2020). Rufinamide add-on therapy for drug-resistant epilepsy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *11*.
- Patsalos, P. N., Spencer, E. P., & Berry, D. J. (2018). Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs in epilepsy: a 2018 update. *Therapeutic Drug Monitoring*, *40*(5), 526-548.

- Peng, A., Qiu, X., Lai, W., Li, W., Zhang, L., Zhu, X., . . . Chen, L. (2018). Altered composition of the gut microbiome in patients with drug-resistant epilepsy. *Epilepsy Research*(147), 102-107.
- Pilla, R., Law, T. H., Pan, Y., Zanghi, B. M., Li, Q., Want, E. J., . . . Volk, H. A. (2020). The Effects of a Ketogenic Medium-Chain Triglyceride Diet on the Feces in Dogs With Idiopathic Epilepsy. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(541547).
- Platt, S. R., & Garosi, L. S. (2012). *Small Animal Neurological Emergencies*. Manson Publishing Ltd.
- Platt, S. R., & Olby, N. J. (2014). *BSAVA Manual of Canine and Feline Neurology - fourth edition*. British Small Animal Veterinary Association.
- Plonek, M., Diaz-Espineira, M. M., Stassen, Q. E., Santifort, K. M., Leegwater, P. A., & Mandigers, P. J. (2022). Phenotypic characterization of idiopathic epilepsy and epilepsy of unknown cause in Irish Setters. *Frontiers in Veterinary Science*, 9(1066094).
- Podell, M., Volk, H. A., Berendt, M., Löscher, W., Muñana, K., Patterson, E. E., & Platt, S. R. (2016). 2015 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Seizure Management in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*(30), 477-490.
- Polidoro, D., Van Ham, L., Santens, P., Cornelis, I., Charalambous, M., Broeckx, B. J., & Bhatti, S. F. (2020). Phenotypic characterization of paroxysmal dyskinesia in Maltese dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(4), 1541-1546.
- Potschka, H., Bhatti, S. F., Tipold, A., & McGrath, S. (2022). Cannabidiol in canine epilepsy. *The Veterinary Journal*, 290.
- Potschka, H., Fischer, A., Löscher, W., Patterson, N., Bhatti, S., Berendt, M., . . . Volk, H. A. (2015). International veterinary epilepsy task force consensus proposal: outcome of therapeutic interventions in canine and feline epilepsy. *BMC Veterinary Research*.
- Ritter, J. M., Flower, R., Henderson, G., Loke, Y. K., MacEwan, D., & Rang, H. P. (2020). *Ring & Dale's Pharmacology - 9th Edition*. Elsevier.
- Robinson, K., Platt, S., Stewart, G., Reno, L., Barber, R., & Boozer, L. (2020). Feasibility of Non-Invasive Vagus Nerve Stimulation (gammaCore VET™) for the Treatment of Refractory Seizure Activity in Dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(569739).

- Rosandal, S., Anturaniemi, G., Kukko-Lukjanov, T.-K., Vuori, K. A., Moore, R., Hemida, M., . . . Hielm-Björkman, A. (2023). Whole blood trace element and toxic metal concentration in dogs with idiopathic epilepsy and healthy dogs: a case-control study. *Frontiers in Veterinary Science, 9*.
- Rosenberg, E. C., Tsien, R. W., Whalley, B. J., & Devinsky, O. (2015). Cannabinoids and Epilepsy. *Neurotherapeutics, 12*(4), 747-768.
- Rossmeisl, J. H., & Inzana, K. D. (2009). Clinical signs, risk factors, and outcomes associated with bromide toxicosis (bromism) in dogs with idiopathic epilepsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association, 234*(11).
- Royaux, E., Van Ham, L., Broeckx, B. J., Van Soens, I., Gielen, I., Deforce, D., & Bhatti, S. F. (2017). Phenobarbital or potassium bromide as an add-on antiepileptic drug for the management of canine idiopathic epilepsy refractory to imepitoin. *The Veterinary Journal, 220*, 51-54.
- Ruehlmann, D., Podell, M., & March, P. (2001). Treatment of partial seizures and seizure-like activity with felbamate in six dogs. *Journal of Small Animal Practice, 42*, 403-408.
- Ruffolo, G., Di Bonaventura, C., Cifelli, P., Roseti, C., Fattouch, J., Morano, A., . . . Giallonardo, A. (2018). A novel action of lacosamide on GABA A currents sets the ground for a synergic interaction with levetiracetam in treatment of epilepsy. *Neurobiology of Disease, 115*, 59-68.
- Rundfeldt, C., & Löscher, W. (2014). The pharmacology of Imepitoin: the first partial Benzodiazepine receptor agonist developed for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs, 28*, 29-43.
- Rundfeldt, C., Gasparic, A., & Wlaź, P. (2014). Imepitoin as novel treatment option for canine idiopathic epilepsy: pharmacokinetics, distribution, and metabolism in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 37*, 421-434.
- Rundfeldt, C., Tipold, A., & Löscher, W. (2015). Efficacy, safety, and tolerability of imepitoin in dogs with newly diagnosed epilepsy in a randomized controlled clinical study with long-term follow up. *BMC Veterinary Research, 11*(228).

- Russo, E. (2021). Foreword - Cannabinoid Therapy in Veterinary Medicine: History and Perspective. In S. Cital, K. Kramer, L. Hughston, & J. S. Gaynor, *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine - A Complete Guide*.
- Salanova, V., Witt, T., Worth, R., Henry, T. R., Gross, R. E., Nazzaro, J. M., . . . SANTE, S. (2015). Long-term efficacy and safety of thalamic stimulation for drug-resistant partial epilepsy. *Neurology*, *84*(10), 1017-1025.
- Santifort, K. M., Bertijn, E., Bhatti, S. F., Leegwater, P., Fischer, A., & Mandigers, P. J. (2022). Phenotypic Characterization of Idiopathic Epilepsy in Border Collies. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*(880318).
- Schmidley, J. W., & Simon, R. P. (1981). Postictal pleocytosis. *Annals of Neurology*(9), 81-84.
- Schwartz, M., Lamb, C. R., Brodbelt, D. C., & Volk, H. A. (2011). Canine intracranial neoplasia: clinical risk factors for development of epileptic seizures. *Journal of Small Animal Practice*, *52*, 632-637.
- Seppälä, E. H., Jokinen, T. S., Fukata, M., Fukata, Y., Webster, M. T., Karlsson, E. K., . . . Lohi, H. (2011). LGI2 Truncation Causes a Remitting Focal Epilepsy in Dogs. *PLoS Genetics*, *7*(7).
- Shihab, N., Bowen, J., & Volk, H. A. (2011). Behavioral changes in dogs associated with the development of idiopathic epilepsy. *Epilepsy & Behavior*, *21*(2), 160-167.
- Silver, R. (2021). The Endocannabinoid System and Endocannabinoidome. In S. Cital, K. Kramer, L. Hughston, & J. S. Gaynor, *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine - A Complete Guide* (p. 1-16). Springer.
- Simpson, A. C., Bradley, C. W., & Schissler, J. R. (2020). Probable cutaneous adverse drug reaction due to a cannabidiol-containing hemp oil product in a dog. *Veterinary Dermatology*, *31*(5).
- Sjaastad, Ø. V., Sand, O., & Hove, K. (2019). *Fisiologia degli animali domestici*. Casa Editrice Ambrosiana.
- Speciale, J., & Stahlbrodt, J. E. (1999). Use of ocular compression to induce vagal stimulation and aid in controlling seizures in seven dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *214*(5), 663-665.

- Stafstrom, C. E. (2014). *Epilepsy comorbidities: how can animal models help?*. In: Scharfman, H., Buckmaster, P. (eds) *Issues in Clinical Epileptology: A View from the Bench. Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 813). Springer.
- Stee, K., Martlé, V., Broeckx, B. J., Royaux, E., Van Ham, L., & Bhatti, S. F. (2017). Imepitoin withdrawal in dogs with idiopathic epilepsy well-controlled with imepitoin and phenobarbital and/or potassium bromide does not increase seizure frequency. *The Veterinary Journal*, 230, 1-5.
- Stefanović, S., Janković, S. M., Novaković, M., Milosavljević, M., & Folić, M. (2018). Pharmacodynamics and common drug-drug interactions of the third-generation antiepileptic drugs. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 14(2), 153-159.
- Taha, A. Y., Henderson, S. T., & Burnham, W. M. (2009). Dietary enrichment with medium chain triglycerides (AC-1203) elevates polyunsaturated fatty acids in the parietal cortex of aged dogs: implications for treating age-related cognitive decline. *Neurochemical Research*, 34(9), 1619-1625.
- Tang, V., Michaelis, R., & Kwan, P. (2014). Psychobehavioral therapy for epilepsy. *Epilepsy & Behavior*(32), 147-155.
- Tipold, A., Keefe, T. J., Löscher, W., Rundfeldt, C., & de Vries, F. (2015). Clinical efficacy and safety of imepitoin in comparison with phenobarbital for the control of idiopathic epilepsy in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic*, 38(2), 160-168.
- Tynes, V. V., & Landsberg, G. M. (2021). Nutritional management of behavior and brain disorders in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 51(3), 711-727.
- Vaughn, D. M., Paulionis, L. J., & Kulpa, J. E. (2021). Randomized, placebo-controlled, 28-day safety and pharmacokinetics evaluation of repeated oral cannabidiol administration in healthy dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 82(5).
- Vaughn, D., Kulpa, J., & Paulionis, L. (2020). Preliminary Investigation of the Safety of Escalating Cannabinoid Doses in Healthy Dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(51).

- Verdoodt, F., Watanangura, A., Bhatti, S. F., Schmidt, T., Suchodolski, J. S., Ham, L. V., . . . Hesta, M. (2022). The role of nutrition in canine idiopathic epilepsy management: fact or fiction? *The Veterinary Journal*, 290(105917).
- Volk, H. A. (2015). International Veterinary Epilepsy Task Force consensus reports on epilepsy definition, classification and terminology, affected dog breeds, diagnosis, treatment, outcome measures of therapeutic trials, neuroimaging and neuropathology in companion animals. *BMC Veterinary Research*.
- Volk, H. A. (2015). Refractory epilepsy and cluster seizures: new insights. *85° Congresso internazionale SCIVAC - Neurologia Veterinaria nel 2015: "Dalla visita clinica alla neurochirurgia avanzata"*, (p. 283-287).
- Volk, H. A. (2018). The pharmaco-resistant patient: when things get complicated. *Congresso internazionale multisala SCIVAC Rimini - 25-27 maggio 2018*, (p. 227-229).
- Volk, H. A. (2018). The pharmaco-resistant patient: when things get complicated. *Congresso internazionale multisala SCIVAC Rimini - 25-27 maggio 2018*, (p. 227-229).
- Volk, H. A., Matiasek, L. A., Feliu-Pascual, A. L., Platt, S. R., & Chandler, K. E. (s.d.). The efficacy and tolerability of levetiracetam in pharmaco-resistant epileptic dogs. *The Veterinary Journal*, 176(3), 310-319.
- Wagner, S. O., Sams, R. A., & Podell, M. (1998). Chronic phenobarbital therapy reduces plasma benzodiazepine concentrations after intravenous and rectal administration of diazepam in the dog. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 21(5), 335-420.
- Wang, X., Yang, Y., Rui, M., Shao, N., & Meng, H. (2018). Lacosamide modulates collapsin response mediator protein 2 and inhibits mossy fiber sprouting after kainic acid-induced status epilepticus. *NeuroReport*, 29(16), 1384-1390.
- Wasterlain, C. G., Stöhr, T., & Matagne, A. (2011). The acute and chronic effects of the novel anticonvulsant lacosamide in an experimental model of status epilepticus. *Epilepsy Research*, 94, 10-17.
- Watson, F., Packer, R. M., Rusbridge, C., & Volk, H. A. (2020). Behavioural changes in dogs with idiopathic epilepsy. *VetRecord*, 93-93.

- Wessmann, A., Volk, H. A., Parkin, T., Ortega, M., & Anderson, T. J. (2014). Evaluation of Quality of Life in Dogs with Idiopathic Epilepsy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(2), 510-514.
- Westover, B. M., Cormier, J., Bianchi, M. T., Shafi, M., Kilbride, R., Cole, A. J., & Cash, S. S. (2012). Revising the "Rule of Three" for inferring seizure freedom. *Epilepsia*, 53(2), 368-376.
- Wielander, F., James, F. M., Cortez, M. A., Kluger, G., Neßler, J. N., Tipold, A., . . . Fischer, A. (2018). Absence Seizures as a Feature of Juvenile Myoclonic Epilepsy in Rhodesian Ridgeback Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), 428-432.
- Wielander, F., Sarviaho, R., James, F., Hytönen, M. K., Cortez, M. A., Kluger, G., . . . Lohi, H. (2017). Generalized myoclonic epilepsy with photosensitivity in juvenile dogs caused by a defective DIRAS family GTPase 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(10), 2669-2674.
- Williamson, B. G., Jarboe, J., & Weaver, C. (2021). Cannabinoids for Neurological Conditions. In S. Cital, K. Kramer, L. Hughston, & J. S. Gaynor, *Cannabis Therapy in Veterinary Medicine - A Complete Guide* (p. 143-149). Springer.
- Zabara, J. (1992). Inhibition of experimental seizures in canines by repetitive vagal stimulation. *Epilepsia*, 3(6), 1005-1012.
- Zamora, M., Meller, S., Kajin, F., Sermon, J. J., Toth, R., Benjaber, M., . . . Denison, T. (2021). Case Report: Embedding "Digital Chronotherapy" Into Medical Devices-A Canine Validation for Controlling Status Epilepticus Through Multi-Scale Rhythmic Brain Stimulation. *Frontiers in Neuroscience*, 15(734265).
- Zimmermann, R., Hülsmeier, V., Sauter-Louis, C., & Fischer, A. (2009). Status Epilepticus and Epileptic Seizures in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.