

**Artículo Original: Efecto de la administración oral de ivermectina como adyuvante en el tratamiento de la epilepsia farmacorresistente en perros.**

**Original Article:** Effect of oral administration of ivermectin as an adjunct in the treatment of drug-resistant epilepsy in dogs.

Fernando Pellegrino <sup>1</sup> MV DMV, C Nucera <sup>2</sup> MV, C Blanco <sup>1</sup> MV DMV, E L Pacheco <sup>2</sup> MV, Dipl Neurología Veterinaria.

**Recibido:** 11 Octubre 2020

**Aprobado:** 01 Diciembre 2020

**RESUMEN**

La ivermectina es un eficaz antiparasitario de uso humano y veterinario. Es un fármaco seguro y bien tolerado. Diversos estudios demostraron que tiene efectos anticonvulsivos en modelos animales de epilepsia, en los que se describieron 5 diferentes mecanismos de acción. En medicina humana, la ivermectina fue eficaz como adyuvante en el tratamiento de la epilepsia farmacorresistente. Evaluamos el tratamiento con ivermectina en 9 perros con epilepsia idiopática farmacorresistente, diagnosticados y clasificados con base en el informe de consenso del Grupo de Trabajo Internacional de Epilepsia Veterinaria. Se inició la terapia a 600 ug/kg/día por vía oral, con el consentimiento informado de los propietarios. Se realizó un estudio piloto de eficacia, abierto no controlado; se compararon la frecuencia mensual de convulsiones, el intervalo interictal y los episodios de crisis seriadas durante el período de intervención, con el período de referencia antes del tratamiento. Se realizaron pruebas de comparación pareada de las medias de las observaciones con un nivel de significación  $\alpha = 0,05$ . En todos los casos disminuyó la frecuencia de convulsiones (26-84%). Dos perros alcanzaron una reducción de convulsiones  $\geq 50\%$  y uno de ellos alcanzó un estado libre de crisis. Las convulsiones disminuyeron en  $2,33$  crisis/perro/mes con un IC<sub>95%</sub> (0,46; 4,20) ( $p = 0,024$  prueba t pareada). El promedio del aumento del intervalo interictal fue de  $15 \pm 6$  días ( $p = 0,0028$  prueba de Wilcoxon). Los episodios de crisis seriadas se redujeron en  $2,5 \pm 1$  ( $p = 0,0368$  prueba de Wilcoxon). No se observaron efectos adversos aparentes en los 6 perros que mantuvieron la terapia durante al menos 3 meses.

En este estudio preliminar, la ivermectina se presenta como un fármaco potencialmente eficaz y seguro como adyuvante en la terapia de la epilepsia idiopática canina farmacorresistente.

**Palabras Clave:** Ivermectina; Epilepsia Idiopática Farmacorresistente; Perros

**ABSTRACT**

Ivermectin is an effective antiparasitic for human and veterinary use. Is a safe and well tolerated drug. Diverse studies showed that it has anticonvulsant effects in animal models of epilepsy, in which 5 different mechanisms of action have been described. In human medicine, ivermectin was effective as an adjuvant in the treatment of drug-resistant epilepsy.

We evaluated the treatment with ivermectin in 9 dogs with drug-resistant epilepsy, diagnosed and classified based on the International Veterinary Epilepsy Task Force consensus reports. Therapy was started at 600 ug/kg/day orally, with the informed consent of the owners. An uncontrolled open efficacy pilot study was conducted; the monthly frequency of seizures, the interictal interval and the episodes of cluster seizures during the intervention period were compared with the reference period before treatment. Paired comparison tests of the means of the observations were performed with a level of significance  $\alpha = 0,05$ .

In all cases the frequency of seizures decreased (26-84%). Two dogs achieved a seizure reduction  $\geq 50$ , and one of them reached a seizure-free state. Seizures decreased in 2.33 seizures/dog/month with IC<sub>95%</sub> (0,46; 4,20) ( $p = 0,024$  paired t test). The average increase in the interictal interval was  $15 \pm 6$  days ( $p = 0,0028$  Wilcoxon test). Cluster seizures episodes were reduced by  $2.5 \pm 1$  ( $p = 0,0368$  Wilcoxon test). No apparent adverse effects were observed in the 6 dog that maintained the therapy for at least 3 months.

In this preliminary study, ivermectin is presented as a potentially effective and safe drug as an adjuvant of drug-resistant canine idiopathic epilepsy.

**Key Words:** Ivermectin; Drug-Resistant, Idiopathic Epilepsy; Dogs

---

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias .Universidad de Buenos Aires . Chorroarín 280 (1427) – Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup>Consultorio Profesional Veterinario. Portela 929 (1406) – Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina .

## INTRODUCCIÓN

La ivermectina (IVM) es un antiparasitario de la familia de las lactonas macrocíclicas, generada por fermentación del *Streptomyces avermitilis*. IVM no atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE), por ser sustrato de la glicoproteína-P (gp-P), que actúa como bomba de expulsión activa en la membrana de las células endoteliales de los capilares cerebrales. Se elimina principalmente por vía hepatobiliar, con escasa biotransformación; la excreción renal es inferior al 2%. Es muy lipofílica, lo que facilita el depósito en tejidos grasos, que actúan como reservorio orgánico<sup>1</sup>.

Varios estudios demostraron que IVM tiene efectos anticonvulsionantes en modelos animales<sup>2-6</sup> con un efecto prolongado<sup>6</sup>. Los mecanismos de acción son: a) Actúa como agonista del ácido γ-aminobutírico (GABA)<sup>4</sup>, específicamente sobre receptores del subtipo α1β3γ2<sup>6,7</sup>; b) Estimula la liberación pre sináptica de GABA<sup>4</sup> (Campbell 1989); c) Potencia la unión del GABA con su receptor<sup>4</sup>; d) Revierte la resistencia de la gp-P asociada a múltiples fármacos<sup>8,9</sup>; y e) Modula la respuesta inmune reduciendo la inflamación, inhibiendo la producción de citocinas proinflamatorias<sup>10-14</sup>.

En humanos, IVM fue efectiva en el tratamiento de la epilepsia farmacorresistente. En un estudio descriptivo, observacional prospectivo con 32 pacientes epilépticos refractarios que recibieron IVM como tratamiento adyuvante se comunicó un porcentaje de reducción de las convulsiones del 97%; el 57% de estos pacientes no presentó más convulsiones, y estuvieron libres de crisis según los criterios de la Liga Internacional contra la Epilepsia<sup>15</sup>. Otro estudio que incluyó 21 pacientes con epilepsia farmacorresistente

tratados con IVM como adyuvante comunicó una reducción de la frecuencia de convulsiones del 61.9%<sup>16</sup>.

IVM es un fármaco seguro y bien tolerado, aunque puede producir efectos tóxicos por sobredosisificación o por hipersensibilidad. Algunos perros de razas genéticamente susceptibles con una mutación en el gen *ABCB1* (*MDR1*) pueden presentar signos neurológicos. Incluyen al Collie de pelo largo, Border Collie, Pastor Inglés, Pastor de Shetland, Pastor Australiano, Pastor Ganadero Australiano, y Pastor Blanco Suizo<sup>17</sup>. En razas de perros no pastores, la mutación se comunicó en Whippet y Silken Windhound<sup>18</sup>. En razas no sensibles puede causar neurotoxicidad por sobredosis o por toxicidad acumulada, consistente en midriasis, tremores, ataxia y anorexia<sup>1</sup>. Un estudio encontró reacciones adversas en el 4.7% de los perros de razas no documentadas como sensibles, tratados con IVM vía oral (PO) a 600 µg/kg/día<sup>19</sup>. Otro estudio no encontró reacciones adversas observables en un tratamiento prolongado con IVM PO a 400 µg/kg/día<sup>1</sup>.

La epilepsia idiopática canina (EIC) es el trastorno neurológico más frecuente, afectando al 0.5-5.7% de la población<sup>20</sup>. En medicina veterinaria, un tratamiento efectivo que reduzca la frecuencia de convulsiones o logre un estado libre de crisis, puede ser un proceso que involucre la utilización de varios medicamentos<sup>21</sup>. Si el fármaco antiepileptico (FAE) inicial fracasa, el pronóstico para el control de las convulsiones puede ser pobre; en niños se demostró que la falla del FAE inicial es un factor predictivo de farmacorresistencia<sup>22</sup>. En humanos, la tasa de respuesta a los FAES se estudió en muchas poblaciones, con una disminución progresiva de la probabilidad de alcanzar el control de convulsiones a medida que se usan tratamientos

antiepilepticos sucesivos. En un trabajo se comunicaron tasas de respuesta (expresadas como proporción de la población estudiada) a los FAEs de primera, segunda y tercera línea de 47, 13 y 4%, respectivamente<sup>23</sup>.

En otro trabajo, las tasas de respuesta fueron de 50.4, 10.7 y 2.3%, respectivamente, con 0.8% responsivo a otros fármacos<sup>24</sup>. En medicina veterinaria, la tasa de respuesta a los FAEs usados sucesivamente es poco comunicada. La combinación de fenobarbital y bromuro fracasa en 20-30% de los perros farmacorresistentes al FAE inicial<sup>25</sup>. En un trabajo se comunicaron tasas de respuesta a los FAEs de primera, segunda y tercera línea de 37.2, 10.7 y 6.1%, respectivamente<sup>26</sup>. En otro estudio, las tasas de respuesta fueron de 66.5, 23 y 1.6%, respectivamente<sup>27</sup>.

La epilepsia farmacorresistente es definida como una falla en el tratamiento con 2 FAEs (en monoterapia o combinadas) apropiadamente escogidas, toleradas y debidamente administradas para lograr un estado libre de crisis<sup>28,29</sup>. La farmacorresistencia a los FAEs tiene un impacto negativo en la calidad de vida de los perros afectados y sus propietarios<sup>30,31</sup>. Las crisis epilépticas seriadas producen pérdida neuronal, neuroinflamación persistente, disturbios de la BHE y alteraciones en los receptores para neurotransmisores y canales iónicos<sup>32-34</sup>. Resultan en comorbilidades comportamentales, incremento de la severidad intrínseca de la enfermedad y disminución en la respuesta al tratamiento<sup>35</sup>. La farmacorresistencia es la principal causa de eutanasia relacionada a la EIC<sup>36-38</sup>.

El fracaso de los FAEs de primera y segunda línea es una situación desesperante por la baja tasa de respuesta a los FAEs de tercera línea, por

la escasa efectividad de los tratamientos alternativos, y por los elevados costos que representan. Por eso, el hallazgo de un FAE económico y efectivo como adyuvante en el tratamiento de la EIC farmacorresistente es crítico para mejorar la calidad de vida de los perros afectados y de sus propietarios.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los resultados de la utilización de IVM como adyuvante en el tratamiento de 9 perros con EIC farmacorresistente, y el análisis de sus posibles mecanismos de acción.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se desarrolló un estudio descriptivo, observacional y prospectivo evaluando los resultados del tratamiento con IVM (Ivomec®) en 9 perros con EIC farmacorresistente atendidos en el Consultorio Profesional Veterinario, de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Los propietarios accedieron a autorizar su participación de manera voluntaria, previa firma de consentimiento informado.

El diagnóstico de EIC se elaboró con un grado de confianza de nivel III, de acuerdo con el informe de consenso del Grupo de Trabajo Internacional de Epilepsia Veterinaria (de su sigla en inglés, ITVEF)<sup>39</sup>. Todos los animales tenían convulsiones tónico-clónicas generalizadas (TCG) y presentaban crisis seriadas durante 24-72 hs que requerían internación. Cuatro (4) de ellos tenían comorbilidades comportamentales (apatía y/o agresividad). Previamente a la administración de IVM los perros estuvieron tratados por un período de 7-18 meses. Todos recibían fenobarbital y bromuro de potasio como FAEs de primera y segunda línea; en 2 de ellos fue la única combinación empleada. Como FAEs de tercera línea se usaron zonisamida,

gabapentina, felbamato, pregabalina y levetiracetam, solos (16.6% de los perros) o combinados (50% de los perros). Todos los pacientes fueron farmacorresistentes según el informe de consenso IVETF<sup>29</sup>. Se inició la terapia con IVM PO a 600 ug/kg/día. El medicamento, en presentación líquida para uso veterinario, se administró en forma extraetiqueta. Se retiraba del envase multidosis con aguja y jeringa y se suministraba directamente en la boca previa retirada de la aguja. No se realizaron cambios de los FAEs que los pacientes recibían previamente.

Se realizó seguimiento telefónico mensual interrogando a los propietarios sobre la frecuencia e intensidad de las crisis y los efectos adversos derivados de la terapia. Cada 4 meses se realizó una evaluación clínica, hemograma y pruebas bioquímicas (urea, creatinina, fósforo, alanina aminotransferasa -ALT-, aspartato aminotransferasa -AST-, fosfatasa alcalina sérica -FAS-, proteínas totales y albúmina) (Tabla 2) y dosajes de fenobarbital y bromuros. Cuando la actividad de las enzimas hepáticas séricas resultó elevada se indicó ecografía abdominal.

Se realizó un estudio piloto de eficacia, abierto no controlado, en el que cada paciente sirvió como su propio control. Se compararon las siguientes variables: frecuencia mensual de convulsiones (FMC), intervalo interictal (I.I.), y episodios de crisis seriadas (ECS) durante el período de intervención contra el período de referencia antes del tratamiento. Tres (3) de los perros abandonaron la terapia por presentar efectos adversos. El tiempo de análisis fue de 3-17 meses. En todos los casos se realizaron pruebas de comparación pareada de las medias de las observaciones con un nivel de significación  $\alpha = 0,05$ .

## RESULTADOS

Se logró una reducción de la frecuencia de convulsiones (26%-84%). Los resultados se muestran en la Tabla 1. Dos perros (33%) alcanzaron un control satisfactorio (reducción de convulsiones  $\geq 50\%$ ), y uno de ellos logró un estado libre de crisis, de acuerdo con el informe de consenso IVETF (Potschka *et al.* 2015). De estos 2 perros, uno recibía fenobarbital, bromuro de potasio y FAEs de tercera línea combinados (perro 2, ver tabla 1), y fue el que alcanzó el estado libre de crisis. El otro recibía fenobarbital y bromuro de potasio como FAE de segunda línea (perro 3, ver tabla 1).

La reducción de la FMC se estimó en 2,33 crisis/perro/mes con un IC<sub>95%</sub> (0,46; 4,20) ( $p = 0,024$  prueba t pareada). El promedio del aumento del I.I. fue de  $15 \pm 6$  días ( $p = 0,0028$  prueba de Wilcoxon). El promedio de reducción de los ECS fue de  $2.5 \pm 1$  ( $p = 0,0368$  prueba de Wilcoxon).

Aunque todos los perros mostraron buena respuesta desde el inicio del tratamiento, los efectos fueron evidentes después de los 3 meses. En 2 casos los propietarios suspendieron el tratamiento (Perro 1: 3 meses; Perro 5: 10 meses; ver tabla 1) por considerarlo inefectivo; estos animales se incluyeron en el análisis. El perro 1 no repitió ECS, y el resto disminuyó su frecuencia o gravedad; cuando los tuvieron, se manejaron en forma ambulatoria sin requerir internación. De acuerdo a la percepción de los propietarios, las convulsiones fueron menos intensas y la recuperación pos ictal fue más rápida; desaparecieron las comorbilidades comportamentales, con un impacto positivo en la calidad de vida de los perros y los propietarios. No se observaron efectos adversos en los 6 perros que mantuvieron la terapia.

**Tabla 1:** Grupo de perros epilépticos farmacorresistentes tratados con ivermectina. Características del cuadro clínico antes y después de la terapia.

	NºFAEs AD	NCA	NCD	ECSA	ECSD	I.I.	I.I.D.	%RFC	Tiempo
Mestizo, macho, esterilizado, 7 años, 35 kg	3 (+Z)	8 ( $\bar{x}$ 2,7)	5 ( $\bar{x}$ 1,7)	1	0	$\bar{x}$ 12	$\bar{x}$ 18	37,5	3 m
Caniche, macho, entero, 5 años, 6 kg	4 (+G,Z)	90 ( $\bar{x}$ 6,4)	14 ( $\bar{x}$ 1)	7	4	$\bar{x}$ 6,6	$\bar{x}$ 34	84	14 m
Mastín Napolitano, macho, entero, 1,5 años, 50 kg	0	40 ( $\bar{x}$ 5)	16 ( $\bar{x}$ 2)	5	5	$\bar{x}$ 14	$\bar{x}$ 20	60	14 m
Mestizo, hembra, esterilizada, 4 años, 20 kg	6 (+G,F,P,Z)	30 ( $\bar{x}$ 1,6)	17 ( $\bar{x}$ 1)	7	2	$\bar{x}$ 29	$\bar{x}$ 69	43	17 m
Caniche, macho, esterilizado, 1 año, 15 kg	4 (+L,G)	27 ( $\bar{x}$ 3)	20 ( $\bar{x}$ 2)	7	3	$\bar{x}$ 11	$\bar{x}$ 11	26	10 m
Mestizo, macho, esterilizado, 6 años, 10 kg	0	38 ( $\bar{x}$ 7,6)	25 ( $\bar{x}$ 5)	6	4	$\bar{x}$ 12	$\bar{x}$ 18	34	16 m

**FAEsAD:** Fármacos antiepilepticos adyuvantes al FB y Bro; **NCA:** N° convulsiones antes del tratamiento con IVM ( $\bar{x}$  promedio mensual); **NCD:** N° convulsiones después del tratamiento con IVM ( $\bar{x}$  promedio mensual); **ECSA:** episodios de crisis seriadas antes del tratamiento; **ECSD:** episodios de crisis seriadas después del tratamiento; **I.I.A.:** Intervalo interictal antes del tratamiento, en días ( $\bar{x}$  promedio); **I.I.D:** Intervalo interictal después del tratamiento, en días ( $\bar{x}$  promedio); **%RFC:** porcentaje de reducción de la frecuencia de convulsiones; **Tiempo:** meses de tratamiento con IVM.

**Tabla 2:** Valores de bioquímica sanguínea antes y después de la terapia con IVM.

	ALT	AST	FAS	PT	ALB	UREA	CREAT	FOSF
Perro 1	0	211	34	522	6,9	2,9	55	0,93
	3	185	41	571	6,8	3	36	0,89
	8	---	---	---	---	---	---	---
	12	---	---	---	---	---	---	---
Perro 2	0	160	45	350	6,8	2,8	45	0,8
	4	130	42	345	6,9	2,8	50	0,9
	8	67	35	280	7	2,9	42	0,8
	12	28	36	230	7,07	2,91	31	0,7
Perro 3	0	67	45	150	6,9	2,7	35	1,03
	4	57	43	130	6,7	2,8	37	0,9
	8	37	38	45	6,6	2,8	36	1
	12	40	35	50	6,9	2,9	38	0,9
Perro 4	0	190	47	455	6,5	2,7	42	0,85
	4	175	43	325	6,9	2,9	37	0,90
	8	58	40	275	7	2,9	32	0,85
	12	65	43	325	6,8	2,7	35	0,9
Perro 5	0	73	37	349	7,01	2,9	40	0,8
	4	67	42	350	6,9	2,8	35	0,9
	8	70	35	347	7	2,9	34	0,8
	12	---	---	---	---	---	---	---
Perro 6	0	78	45	425	7,1	3	45	1,3
	4	75	42	350	6,9	2,8	42	1,1
	8	70	47	355	7	2,9	45	0,92
	12	65	45	350	6,8	2,8	47	1,3

**0:** previo al tratamiento; **3, 4, 8, 12:** meses luego de iniciado el tratamiento; **ALT:** U/L (normal hasta 60); **AST:** U/L (normal hasta 60); **FAS:** U/L (normal hasta 300); **PT:** proteínas totales (g/dL); **ALB:** albúmina: g/dL; **UREA:** mg/dL; **CREAT:** mg/dL; **FOSF:** fósforo (mg/dL). Laboratorio Biomédico Dr. Rapela, división veterinaria.

## DISCUSIÓN

### Tipo de estudio clínico

En este estudio, el tamaño de muestra (6 perros) garantizó un nivel de significación de al menos 5% y una potencia de la prueba del 60%, habiendo estimado una varianza entre tratamientos de 12 convulsiones al cuadrado, y suponiendo la detección de una reducción de las mismas de al menos 5 convulsiones. Los valores de significación y de potencia son los recomendados para pruebas preclínicas cuando no se dispone de muestreros previos<sup>40-43</sup>.

Un ensayo clínico informativo de un FAE debería elaborarse de manera controlada, doble ciego y aleatorizado para alcanzar el mayor nivel de evidencia<sup>44</sup> y ajustar los efectos placebos, que pueden alcanzar hasta un 30%<sup>45</sup>, explicados por la fluctuación natural en la frecuencia de las crisis<sup>46,47</sup>. Son preferibles a los estudios pilotos no controlados, en los que cada paciente sirve como su propio control y la frecuencia de crisis durante el período de intervención se compara con el período de referencia antes del tratamiento. Aun así, de acuerdo con el informe de consenso IVETF, los estudios pilotos abiertos no controlados son útiles porque permiten obtener conclusiones preliminares sobre la potencial eficacia del fármaco en investigación, y proveen datos estadísticos que sirven de base para el cálculo del tamaño muestral necesario para llevar a cabo estudios clínicos controlados con una adecuada potencia estadística<sup>29</sup>. En este estudio no se encontraron antecedentes acerca del uso de IVM como FAE en perros, motivo por el cual no dispusimos de referencias para calcular el tamaño de muestra adecuado.

### Efectividad de la Ivermectina: posibles mecanismos de acción como FAE.

En este estudio, aunque todos los perros que recibieron IVM mostraron una reducción en la frecuencia de crisis, 2 de los animales (33%) fueron considerados responsivos (reducción de convulsiones  $\geq 50\%$ ) de acuerdo con el informe de consenso IVETF<sup>29</sup>. Cuatro de ellos (66%) estaban recibiendo FAEs de tercera línea y, 3 de ellos (50%), más de uno. Si analizamos específicamente aquellos perros que solamente recibían fenobarbital y bromuro de potasio (perros 3 y 6, ver tabla 1), el porcentaje de responsivos aumenta al 50%. En otros trabajos, la tasa de respuesta a FAEs de tercera línea fue del 37%<sup>26</sup> y del 50%<sup>27</sup>. Considerando la efectividad como la posibilidad que un individuo se beneficie con un tratamiento, IVM parece ser una alternativa efectiva para mejorar el control de las convulsiones, incluso en aquellos animales que reciben FAEs de tercera línea.

### Análisis de los posibles mecanismos de acción de la Ivermectina

Según la información disponible, IVM tiene 2 efectos antiepilépticos diferentes, dependientes de la integridad de la BHE: a) efecto indirecto, por reversión de la resistencia de la gp-P, potenciando la acción de otros FAEs. Este mecanismo persiste durante toda la terapia y, posiblemente, sea el más importante; b) efectos directos, por agonismo y potenciación de mecanismos GABAérgicos, y por acción antiinflamatoria. Estos mecanismos son pasajeros, asociados a la neuroinflamación y a la alteración de la BHE. Los efectos directos e indirectos pueden ser simultáneos.

## Efectos indirectos: reversión de la resistencia de la glicoproteína-P

La reversión de la resistencia de la gp-P asociada a FAEs es un mecanismo muy buscado en epilepsia<sup>15,23,28,48-50</sup>. La farmacoresistencia impacta negativamente en la calidad de vida y aumenta el riesgo de muerte prematura. Esta condición clínica es el resultado de la interacción de múltiples variables relacionadas con la enfermedad de base, las interacciones medicamentosas y los aspectos genéticos de cada paciente. En la actualidad, la sobreexpresión de transportadores de membrana parece ser uno de los mecanismos más importantes en el desarrollo de la farmacoresistencia en epilepsia humana<sup>51</sup>. Las proteínas de membrana más estudiadas son la gp-P y las proteínas de multirresistencia a medicamentos (MRP). Promueven el flujo de las sustancias lipofílicas que atraviesan la BHE devolviéndolas al torrente sanguíneo, y funcionan como mecanismo de defensa, evitando complicaciones derivadas de la toxicidad de estos fármacos<sup>52</sup>. Existe evidencia significativa sobre una sobreexpresión de transportadores de flujo sobre el tejido cerebral epileptogénico de pacientes farmacorresistentes, posiblemente primaria, motivada por las crisis recurrentes, o por los propios FAEs<sup>49,53</sup>. La gp-P es un grupo de proteínas intrínsecas de membrana, codificado por el gen *ABCB1*, localizado en tejidos normales con función excretora (hígado, riñón, intestino) y en la membrana apical de las células endoteliales de la BHE. En los humanos, los FAEs sustratos de gp-P incluyen al fenobarbital, gabapentina, fenitoína, carbamazepina, oxcarbazepina, topiramato y lamotrigina<sup>49</sup>. En los perros los FAEs sustratos de gp-P incluyen al diazepam, gabapentina, levetiracetam y fenobarbital<sup>50</sup>. Estos FAEs no alcanzan concentraciones adecuadas en

donde deberían actuar cuando se sobreexpresan transportadores que lo impiden, reduciendo su eficacia<sup>23,49,50</sup>. En perros se comunicó una variación de nucleótido simple (*ABCB1* c.-6-180T>G) asociada a resistencia al fenobarbital en una población de Border Collie epilépticos<sup>54</sup>. Sin embargo, otro estudio fracasó en demostrar cualquier asociación entre la mutación y la farmacoresistencia. Los autores sugieren que, aunque el gen mutante no es directamente responsable de la refractariedad, podría desempeñar un papel variable, determinado por el sustrato genético particular de cada individuo. De este modo el efecto del genotipo mutante *ABCB1* sería dependiente de la raza<sup>55</sup>.

IVM es uno de los más potentes inhibidores del transporte mediado por la gp-P. Como es transportada lentamente por esta glicoproteína, cuando ambas moléculas se ligan, los sitios de unión no están disponibles para otros fármacos, revirtiendo la resistencia a su actividad y potenciándola<sup>8,9,48</sup>. Esta acción de IVM sobre la gp-P ha sido comunicada en perros y explicaría su acción como adyuvante de la terapia anticonvulsiva<sup>50</sup>. En nuestro estudio todos los perros disminuyeron la frecuencia de convulsiones; como todos estaban medicados con fenobarbital, esta mejoría podría ocurrir por disminución de la resistencia de la gp-P al fenobarbital, potenciando su actividad. El perro 2 (ver tabla 1), que presentó la mejor respuesta a la terapia, estaba medicado además con gabapentina, que también es sustrato de la gp-P<sup>49,50</sup>, y zonisamida, que es un inhibidor del transporte mediado por gp-P, potenciando la acción de IVM y de otros FAEs<sup>56</sup>. Una situación semejante es la de la perra 4 (ver tabla 1) que, además de reducir su frecuencia de convulsiones, incrementó el I.I. en 40 días. La acción más

notoria después de un tiempo podría atribuirse a su liposolubilidad, que determina la liberación lenta a partir del reservorio orgánico que representan los tejidos grasos.

### **Efectos directos: potenciación de mecanismos GABAérgicos y acción antiinflamatoria**

Aunque IVM no atraviesa la BHE, se comunicó la alteración de esta estructura en epilepsia, asociada a neuroinflamación mediada por leucocitos periféricos activados<sup>32-34,57,58</sup>. La inflamación mediada por las convulsiones, y particularmente el aumento de IL-1β, afecta la permeabilidad de la BHE mediante la alteración de las uniones estrechas, el incremento de óxido nítrico y la activación de metaloproteinasas de matriz de las células endoteliales<sup>59,60</sup>. La alteración de la permeabilidad de la BHE se observó en el 20% de perros epilépticos, estimada por el cociente de albúmina en líquido cefalorraquídeo (LCR)<sup>61</sup>. Mediante el uso de imágenes por resonancia magnética dinámica cuantitativa linear con contraste se demostró que el 21% de los perros con EIC mostraban disrupción de la BHE evaluando la totalidad del cerebro, mientras que el porcentaje ascendía al 71% evaluando solamente el lóbulo piriforme<sup>62</sup>.

La ruptura de la BHE se correlaciona positivamente con la frecuencia de convulsiones en ratas<sup>60</sup>. El incremento de su permeabilidad se asocia con extravasación de proteínas y células del sistema inmune innato y otros mediadores inflamatorios, resultando en una neuroinflamación duradera<sup>59,60</sup>. Por estos motivos, la BHE puede persistir alterada por semanas<sup>63</sup>, permitiendo la entrada de fármacos liposolubles como IVM al cerebro; esto justificaría sus mecanismos de acción relacionados al

agonismo, potenciación y estimulación de la liberación pre sináptica de GABA.

La neuroinflamación asociada a epilepsia obedece también a inducción de vías de señalización inflamatorias, como receptores tipo Toll (TLR); sobreexpresión de genes de quimiocinas y citocinas proinflamatorias; y activación de la microglia y los astrocitos<sup>64</sup>.

Después de una actividad convulsiva, en el cerebro se observan procesos inflamatorios, con liberación de citocinas proinflamatorias pocas horas después de las convulsiones. Las citocinas más expresadas en epilepsia son TNF-α e IL-1β<sup>59</sup>. En perros con convulsiones de distintas etiologías se comunicó un aumento de TNF-α e IL-6 en LCR, aunque en animales con EIC solamente se verificó un aumento de TNF-α<sup>61</sup>. La microglía y los astrocitos representan la fuente principal de moléculas proinflamatorias en el cerebro y, durante crisis seriadas y estado epiléptico, son las primeras que sintetizan y liberan citocinas proinflamatorias<sup>65-67</sup>.

Recientemente se demostró la presencia de células inmunes periféricas en el cerebro y la activación de la vía de señalización de receptores TLR<sup>68,69</sup>. Su activación en la membrana de macrófagos desencadena una liberación aguda y tardía de mediadores proinflamatorios a través de la vía de señalización TLR4-NTF kB (factor de transcripción nuclear potenciador de las cadenas ligera kappa de las células B activadas), que media el daño al tejido del huésped<sup>70</sup>. Esta vía desempeña un papel fundamental en la expresión de citocinas proinflamatorias en los macrófagos, incluyendo TNF-α, IL-1b e IL-6<sup>71,72</sup>. Los receptores para citocinas proinflamatorias se sobreregulan rápidamente en las neuronas

durante las convulsiones<sup>73</sup>. Las crisis epilépticas recurrentes inducen neuroinflamación, que favorece la ocurrencia de más crisis epilépticas. Las citocinas proinflamatorias liberadas por la glía tienen un papel importante en la hiperexcitabilidad neuronal implicada en la generación de crisis epilépticas y su recurrencia, y en el daño excitotóxico asociado. Las citocinas IL-1β y TNF-α exacerbaban la expresión de receptores AMPA, mediando el proceso de excitotoxicidad<sup>73</sup>. IL-1β se considera un importante mediador de cambios en la excitabilidad neuronal<sup>66,73</sup>. La IL-1 liberada por la microglía aumenta la excitabilidad neuronal activando los astrocitos, alterando la homeostasis del glutamato en las sinapsis piramidales; también produce un efecto directo sobre la excitabilidad y los canales iónicos, y un deterioro de los sistemas GABAérgicos<sup>73,74</sup>. Los efectos del TNF-α en las convulsiones dependen de sus niveles endógenos cerebrales y del subtipo de receptor al que se une. Existe una interacción directa entre TNF-α y receptores AMPA en neuronas hipocampales; esta citocina, por su unión con receptores p55, regula el tráfico celular de receptores AMPA induciendo su expresión sobre la membrana, amplificando las respuestas al glutamato. Inversamente, TNF-α provoca endocitosis de receptores GABA-A, resultando en una depresión de los sistemas inhibitorios<sup>67,73</sup>. El bloqueo farmacológico de IL-1 y TNF-α, o de elementos de las vías de señalamiento del receptor TLR resulta en potentes efectos anticonvulsivantes<sup>75-78</sup>.

IVM posee propiedades antiinflamatorias por su actividad sobre la vía NTF- kB<sup>71,72</sup>. Inhibe la translocación de NTF-kB p65 del citoplasma al núcleo, impidiendo la producción de citocinas inflamatorias, particularmente TNF-α, IL-1b e IL-

6<sup>70</sup>. Este mecanismo de acción justificaría, junto al agonismo y potenciación de los mecanismos GABAérgicos, su efecto antiepileptico directo por inhibición de mecanismos neuroinflamatorios. Pero, para manifestarlo, la BHE debe estar alterada, por lo que no sería un efecto permanente durante la terapia. Sin embargo, debido a que durante los ECS la neuroinflamación es persistente, y al hecho que la alteración de la BHE puede durar muchas semanas<sup>63</sup>, este efecto podría ser importante. Además, poco después de la aparición de convulsiones empiezan a expresarse citosinas proinflamatorias, que favorecen la ocurrencia de crisis epilépticas y el deterioro de la BHE. En este estudio todos los perros redujeron la frecuencia de las convulsiones; pero, además, en todos los casos los ECS disminuyeron en frecuencia y en intensidad y, cuando ocurrieron, pudieron manejarse en forma ambulatoria, evitando la internación. Atribuimos estos efectos a que IVM inhibiría la producción de citocinas proinflamatorias liberadas por la glía activada apenas comienzan las crisis epilépticas, ya sea por la neuroinflamación inmediata y el rápido deterioro de la BHE, o por la alteración persistente de la BHE, producto de episodios previos<sup>75-78</sup>.

Como la alteración de la BHE durante las convulsiones se localiza en regiones particulares del cerebro, un individuo puede presentar zonas con la BHE intacta y otras con la BHE alterada<sup>79</sup>. Así, IVM podría actuar por sus efectos directos e indirectos al mismo tiempo.

### Efectos adversos

IVM es el tratamiento de elección en demodicosis canina, aunque el esquema terapéutico no está

completamente definido. Diversos estudios<sup>80</sup> recomiendan dosis de 300-600 µg/kg/día de IVM PO, siendo la dosis mayor la que demostró mayor efectividad<sup>81</sup>. En un estudio que evaluó la eficacia de IVM a 600 µg/kg/día PO, el 10% de los perros presentaron reacciones adversas<sup>82</sup>.

En nuestro estudio, 3 perros abandonaron el tratamiento por los efectos adversos; 2 de ellos manifestaron sedación y ataxia, y el restante presentó gastroenteritis; al abandonar la medicación los signos clínicos desaparecieron. Una alternativa para reducir las reacciones adversas sería administrarlo días alternos<sup>15</sup>, o disminuir la dosis; en ambos casos, habría que investigar si mantiene la eficacia demostrada en este estudio. Los 6 perros restantes no presentaron reacciones adversas al tratamiento, y sus análisis de sangre no mostraron alteraciones significativas (ver tabla 2); en los casos en los que se observó una elevación en la actividad de las enzimas hepáticas séricas, la ecografía abdominal mostró imágenes compatibles con inducción enzimática hepática, que fue atribuida a la administración crónica de fenobarbital<sup>83</sup>.

### **Impacto en la calidad de vida del perro y del propietario y en el costo de la terapia**

Un aspecto fundamental es la forma en que la terapia impacta sobre la calidad de vida del perro afectado y del propietario. Se demostró que distintos aspectos de la EIC, incluyendo la frecuencia de convulsiones y la severidad de los efectos adversos de los FAEs, afectan la calidad de vida del perro y del propietario<sup>31</sup>. En este trabajo, antes de administrar IVM, los propietarios de 3 de los perros consideraron la eutanasia, y todos se quejaron por el impacto negativo en la calidad de vida de sus perros y de ellos mismos. La administración de IVM disminuyó la FMC y los ECS, y aumentó el I.I.

Además, las comorbilidades comportamentales que presentaba el 66% de los animales desaparecieron por completo. Así, tanto los perros afectados como sus propietarios mejoraron sustancialmente su calidad de vida, factor fundamental para la sustentabilidad a largo plazo de la terapia en la EIC. Teniendo en cuenta que la farmacorresistencia es la principal causa de eutanasia relacionada a la EIC<sup>36-38</sup>, mantener la terapia y descartar la eutanasia deben considerarse como variables que elevan el porcentaje de sobrevida.

Otro aspecto clave en la EIC farmacorresistente es el impacto económico que produce, no solamente por el valor de los FAEs, sino también por los costos de internación derivados de los ECS. A modo de ejemplo, en Argentina el tratamiento para un perro de 25 kg con levetiracetam (Keppra®) o zonisamide (Kinoplase®) representa aproximadamente U\$S 5/día y 3.5/día, respectivamente, mientras que la terapia con IVM (Ivomec®) representa aproximadamente U\$S 0.25/día. Respecto a los costos de internación, un día de hospitalización en una Unidad de Cuidados Intensivos en la Argentina cuesta aproximadamente U\$S 77-92. En nuestro estudio, teniendo en cuenta que el 50% de los animales responsivos a IVM eran resistentes a la combinación de fenobarbital y bromuro y no utilizaron FAEs de tercera línea, el costo de la terapia antiepileptica utilizando IVM se redujo considerablemente. Si a esto le sumamos el hecho que los perros a los que se les administró IVM no requirieron internación a partir del inicio del tratamiento, la reducción de costos resultó altamente significativa. Así, desde la perspectiva económica, IVM es sumamente eficiente en la terapia de la EIC farmacorresistente.

## CONCLUSIONES

Este estudio preliminar muestra a IVM como un FAE potencialmente efectivo y económico en la EIC farmacorresistente. Tuvo buena tolerabilidad en 66% de los perros y logró un impacto positivo en el control de las convulsiones, en las comorbilidades comportamentales y en la calidad de vida de los perros y sus propietarios. Es necesario realizar una mayor cantidad de estudios clínicos controlados aleatorizados con inclusión de un grupo control para garantizar la eficacia y la seguridad de IVM como fármaco adyuvante en el tratamiento de la EIC.

## REFERENCIAS

1. Alonso Muñoz Canales G. Estudio farmacocinético de ivermectina administrada vía oral en caninos adultos. Memoria para optar al título profesional de Médico Veterinario, Universidad de Chile; 2013.
2. Crichlow E. Anticonvulsant effects of ivermectin in genetically epileptic chickens. *Neuropharmacology*; 1986, 25: 1085-1088.
3. Ammendola D, De Sarro A, Gemana G, Naccari F, Rotiroti D. Anticonvulsant effects of avermectin in DBA/2 mice and rat. *Exp Biol*; 1988, 48: 13-7.
4. Campbell W. Ivermectin and abamectin. New York: Springer Verlag; 1989.
5. Mayer TW, Horton ML. Modulation of monomethylhydrazine-induced seizures by ivermectin. *Toxicol Lett*; 1991, 57: 167-73.
6. Dawson GR, Wafford KA, Smith A, Marshall GR, Bayley PJ, Schaeffer JM, et al. Anticonvulsant and adverse effects of avermectin analogs in mice are mediated through the gammaaminobutyric acid (A) receptor. *J Pharmacol Exp Ther*; 2000, 295: 1051-1060.
7. Estrada-Mondragon A, Lynch JW. Functional characterization of ivermectin binding sites in  $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$  GABA(A) receptors. *Front Mol Neurosci*; 2015, 8: 55.
8. Pouliot J, L'Heureux F, Liu Z, Prichard R, Georges E. Reversal of P-glycoprotein-associated multidrug resistance by ivermectin. *Biochem Pharmacol*; 1997, 53: 17-25.
9. Lespine A, Ménez C, Bourguinat C, Prichard R. P-glycoproteins and other multidrug resistance transporters in the pharmacology of anthelmintics: prospects for reversing transport-dependent antihelminthic resistance. *Int J Parasitol*; 2012, 2: 58-75.
10. Steel C, Lujan-Trangay A, González-Peralta C, Zea-Flores G, Nutman T. Immunologic responses to repeated ivermectin treatment in patients with onchocerciasis. *J Infect Dis*; 1991, 164: 581-587.
11. Soboslai P, Dreweck C, Hoffmann W, Luder C, Heuschkel C, Gorgen H, et al. Ivermectin-facilitated immunity in onchocerciasis.

- Reversal of lymphocytopenia, cellular anergy and deficient cytokine production after single treatment. *Clin Exp Immunol*; 1992, 89: 407-413.
12. Akuffo H, Maasho K, Lavebratt C, Engstrom K, Britton S. Ivermectin-induced immunopotentiation in onchocerciasis: recognition of selected antigens following a single dose of ivermectin. *Clin Exp Immunol*; 1996, 103: 244-252.
13. Diazgranados-Sánchez JA, Barrios-Arrazola G, Costa JL, Burbano-Pabón J, Pinzón-Bedoya J. Ivermectina como alternativa terapéutica en neurocisticercosis resistente al tratamiento farmacológico convencional. *Rev Neurol*; 2008, 46: 671-674.
14. Kircik LH, Del Rosso JQ, Layton AM, Schauber J. Over 25 years of clinical experience with ivermectin: an overview of safety for an increasing number of indications. *J Drugs Dermatol*; 2016, 15: 325-332.
15. Diazgranados-Sánchez JA, Mejía-Fernández JL, Chan-Guevara LS, Valencia-Artunduaga MH, Costa JL. Ivermectina como coadyuvante en la epilepsia refractaria. *Rev Neurol*; 2017, 65(7): 303-310.
16. Santana Almeida GA. Efectos de ivermectina como tratamiento coadyuvante en epilepsia refractaria basada en datos del Hospital de Infectología José Daniel Rodríguez Maridueña del año 2017-2018. Tesis de graduación. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina; 2019.
17. Gramer I, Leidolf R, Döring B, Klintzsch S, Krämer E, Yalcin E, et al. Breed distribution of the nt230(del4) MDR1 mutation in dogs. *Vet J*; 2011, 189: 67-71.
18. González-Canga A, Fernández-Martínez N, Sahagún-Prieto A, García-Vieitez J, et al. Seguridad de la ivermectina: toxicidad y reacciones adversas en diversas especies de mamíferos. *Rev MVZ Córdoba*; 2010, 15(2): 2120-2137.
19. Iragüen D. Farmacovigilancia: Estudio de reacciones adversas a medicamentos en animales de compañía en las comunas del Gran Santiago. Tesis para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Agropecuarias y Veterinarias. Universidad de Chile; 2010.
20. Monteiro R, Adams V, Keys D, et al. Canine idiopathic epilepsy: prevalence, risk factors and outcome associated with cluster seizures and status epilepticus. *J Small Anim Pract*; 2012, 53: 526-530.
21. Packer RMA, Shihab NK, Torres BBJ, Volk HA. Clinical risk factors associated with anti-epileptic drug responsiveness in canine epilepsy. *PloS ONE*; 2014; 9: e106026.

22. Dlugos DJ, Sammel MD, Strom BL, Farrar JT. Response to first drug trial predicts outcome in childhood temporal lobe epilepsy. *Neurology*; 2001, 57: 2259-2264.
23. Kwan P, Brodie MJ. Potential role of drug transporters in the pathogenesis of medically intractable epilepsy. *Epilepsia*; 2005, 46: 224-235.
24. Mohanraj R, Brodie M. Diagnosing refractory epilepsy: response to sequential treatment schedules. *European Journal of Neurology*; 2006, 13: 277-282.
25. Volk HA, Matiasek LA, Feliu-Pascual AL, et al. The efficacy and tolerability of levetiracetam in pharmacoresistant epileptic dogs. *Vet J*; 2008, 176: 310-319.
26. Packer RM, Shihab NK, Torres BB, Volk HA. Responses to successive anti-epileptic drugs in canine idiopathic epilepsy. *Vet Rec*; 2005, 176: 203.
27. Pellegrino F, Pacheco E, Vazzoler ML. Características clínicas y respuesta al tratamiento de perros con epilepsia idiopática: 326 casos. *Revista Argentina de Neurología Veterinaria*; 2011, (2)1: 129-144.
28. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, Brodie MJ, Allen Hauser W, Mathern G, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*; 2010, 51(6): 1069-1077.
29. Potschka H, Fischer A, Löscher W et al. Resultados de las Intervenciones Terapéuticas en Epilepsia Canina y Felina. *BMC Vet Res*; 2015, 11:117 DOI 10.1186/s12917-015-0465-y.
30. Chang Y, Mellor DJ, Anderson TJ. Idiopathic epilepsy in dogs: owners' perspectives on management with phenobarbitone and/or potassium bromide. *J Small Anim Pract*; 2006, 47: 574-581.
31. Wessman A, Volk HA, Parkin T, Ortega M, Anderson TJ. Evaluation of quality of life in dogs with idiopathic epilepsy. *J Vet Intern Med*; 2014, 28: 510-514.
32. Balosso S, Maroso M, Sanchez-Alavez M, Ravizza T, Frasca A, Bartfai T, et al. A novel non-transcriptional pathway mediates the proconvulsive effects of interleukin-1beta. *Brain*; 2008, 131(Pt 12): 3256-3265.
33. Balosso S, Liu J, Bianchi ME, Vezzani A. Disulfide-containing high mobility group box-1 promotes N-methyl-D-aspartate receptor function and excitotoxicity by activating Toll-like receptor 4-dependent signaling in hippocampal neurons. *Antioxid Redox Signal*; 2014, 21(12): 1726-1740.
34. Librizzi L, Noe F, Vezzani A, de Curtis M, Ravizza T. Seizure-induced brain- borne inflammation sustains seizure recurrence and

- blood-brain barrier damage. *Ann Neurol*; 2012, 72(1): 82-90.
35. Wilcox KS, Vezzani A. Does brain inflammation mediate pathological outcomes in epilepsy? *Adv Exp Med Biol*; 2014, 813: 169-183.
36. Gullov M, Gredal H, Ersboll AK, Alving J. Premature death, risk factors, and life patterns in dogs with epilepsy. *J Vet Intern Med*; 2007, 21(4): 754-759
37. Hülsmeyer V, Zimmermann R, Brauer C, Sauter-Louis C, Fischer A. Epilepsy in Border Collies: clinical manifestation, outcome, and mode of inheritance. *J Vet Intern Med*; 2010, 24(1): 171-178.
38. Gullov CH, Toft N, Berendt M. A longitudinal study of survival in Belgian Shepherds with genetic epilepsy. *J Vet Intern Med*, 2012, 26(5): 1115-1120.
39. De Risio L, Bhatti S, Muñana K, Penderis J, Stein V, et al. Propuesta de consenso del Grupo de Trabajo Internacional de Epilepsia Veterinaria: Enfoque diagnóstico de la Epilepsia en Perros. *BMC Vet Res*; 2015, 148 DOI 10.1186/s12917-015-0462-1.
40. Cohen JJ. Statistical Power Analysis. *Current Directions in Psychological Science*; 1992, 98 (1).
41. Johnson DH. The insignificance of statistical significance testing. *The Journal of Wildlife Management*; 1999; 63(3): 763-772.
42. Thompson B. Statistical, Practical and Clinical: How many kinds of significance do counselors need to consider? *Journal of Counsel Ing & Development*; 2011, 80(1): DOI [10.1002/j.1556-6678.2002.tb00167.x](https://doi.org/10.1002/j.1556-6678.2002.tb00167.x)
43. Thrustfield M, Christkey R. *Veterinary Epidemiology*. Wiley-Blackwell; 2018.
44. Charalambous M, Brodbelt D, Volk HA. Treatment in canine epilepsy – a systematic review. *BMC Vet Res*; 2014, 10: 257.
45. Muñana KR, Zhang D, Patterson EE. Placebo effect in canine epilepsy trials. *J Vet Intern Med*; 2010, 24(1): 166-170.
46. Ben-Menachem E, Sander JW, Privitera M, Gilliam F. Measuring outcomes of treatment with antiepileptic drugs in clinical trials. *Epilepsy Behav*; 2010, 18(1-2): 24-30.
47. Faught E. Antiepileptic drug trials: the view from the clinic. *Epileptic Disord*; 2012, 14(2): 114-123.
48. Didier AD, Loor F. The abamectin derivative ivermectin is a potent P glycoprotein inhibitor. *Anticancer Drugs*; 1996, 7: 745-751.
49. Herranz JL. Farmacología en epilepsia. ¿Hacia dónde vamos? *Rev Neurol*; 2004, 38(2): 167-172.
50. West CL, Mealey KL. Assessment of antiepileptic drugs as substrates for canine P-glycoprotein. *J Am Vet Res*; 2007, 68: 1106-1110.
51. Espinosa-Jovel CA, Sobrino-Mejía FE. Farmacoresistencia en epilepsia. Conceptos clínicos y

- neurobiológicos. Rev Neurol; 2015, 61(4): 159-166.
52. Begley DJ. ABC transporters and the blood-brain barrier. Curr Pharm Des; 2004, 10: 1295-1312.
  53. Sisodiya SM, Lin WR, Harding BN, Squier MV, Thom M. Drug resistance in epilepsy: expression of drug resistance proteins in common causes of refractory epilepsy. Brain; 2002, 125: 22-31.
  54. Alves L, Hülsmeyer V, Jaggy A, Fischer A, Leeb T, Drögemüller M. Polymorphisms in the *ABCB1* Gene in Phenobarbital Responsive and Resistant Idiopathic Epileptic Border Collies. J Vet Intern Med; 2011, 25(3): 484-489.
  55. Gagliardo T, Gandini G, Gallucci A, Menchetti M, Bianchi E, Turba ME, et al. ABCB1 c.-6-180T>G polymorphism and clinical risk factors in a multi-breed cohort of dogs with refractory idiopathic epilepsy. Vet J; 2019, 253: 105378.  
[doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.105378](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.105378)
  56. Frampton JE, Scott LJ. Zonisamide. A review of its use in the management of partial seizures in epilepsy. CNS Drugs; 2005, 19(4): 347-367.
  57. Gorter JA, van Vliet EA, Aronica E. Status epilepticus, blood-brain barrier disruption, inflammation, and epileptogenesis. Epilepsy Behav; 2015, 49: 13-16.
  58. Van Vliet EA, Aronica E, Gorter JA. Blood-brain barrier dysfunction, seizures and epilepsy. Semin Cell Dev Biol; 2015, 38: 26-34.
  59. Vezzani A, Ravizza T, Balosso S, Aronica E. Glia as a source of cytokines: implications for neural excitability and survival. Epilepsia; 2008a, 49 (Suppl 2): S24-32.
  60. Vezzani A, Balosso S, Ravizza T. The role of cytokines in the pathophysiology of epilepsy. Brain Behav Immun; 2008b, 22: 797-803.
  61. Merbl Y, Sommer A, Chai O, Aroch I, Zimmerman G, Friedman A, et al. Tumor necrosis Factor- $\alpha$  and Interleukin-6 Concentrations in Cerebrospinal Fluid of Dogs After Seizures. J Vet Intern Med; 2014, 28: 1775-1781.
  62. Hanael E, Veksler R, Friedman A, Bar-Klein G, Senatorov Jr, V, Kaufer D, et al. Blood-brain barrier dysfunction in canine epileptic seizures detected by dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. Epilepsia; 2019, DOI: 10.1111/epi.14739.
  63. Korn A, Golan H, Melamed I, et al. Focal cortical dysfunction and blood-brain barrier disruption in patients with post concussion syndrome. J Clin Neurophysiol; 2005, 22: 1-9.

64. Herrera-Vázquez O, Toledo Rojas A, Fleury A. Neuroinflamación y epilepsia. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas; 2016, 19(1): 24-31.
65. Mlodzikowska-Albrecht J, Steinborn B, Zarowski M. Cytokines, epilepsy and antiepileptic drugs –is there a mutual influence? *Pharmacol Rep*; 2007, 59: 129-138.
66. Rodgers KM, Hutchinson MR, Northcutt A, Maier SF, Watkins LR, Barth DS. The cortical innate immune response increases local neuronal excitability leading to seizures. *Brain*; 2009, 132: 2478-2486.
67. Riazi K, Galic MA, Pittman QJ. Contributions of peripheral inflammation to seizure susceptibility: cytokines and brain excitability. *Epilepsy Res*; 2010, 89: 34-42.
68. Zattoni M, Mura ML, Deprez F, Schwendener RA, Engelhardt B, Frei K, et al. Brain infiltration of leukocytes contributes to the pathophysiology of temporal lobe epilepsy. *J Neurosc*; 2011, 31(11): 4037-4050.
69. Pernhorst K, Herms S, Hoffmann P, Cichon S, Schulz H, et al. TLR4, ATF-3 and IL8 inflammation mediator expression correlates with seizure frequency in human epileptic brain tissue. *Seizure*; 2013, 22(8): 675-678.
70. Zhang X, Song Y, Ci X, An N, Ju Y, Li H, Wang X, Han C, Cui J, Deng X. Ivermectin inhibits LPS-induced production of inflammatory cytokines and improves LPS-induced survival in mice. *Inflamm Res*; 2008, 57: 524-529.
71. Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signal*; 2001, 13: 85-94.
72. Tian B, Brasier AR. Identification of a nuclear factor kappa B-dependent gene network. *Recent Prog Horm Res*; 2003, 58: 95-130.
73. Vezzani A, Granata T. Brain Inflammation in epilepsy: experimental and clinical evidence. *Epilepsia*; 2005, 46: 1724-1743.
74. Vezzani A, Moneta D, Richichi C, Aliprandi M, Burrows SJ, Ravizza T, et al. Functional role of inflammatory cytokines and anti-inflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. *Epilepsia*; 2002, 43 (Suppl 5): S30-5.
75. Ravizza T, Boer K, Redeker S, Spliet WG, van Rijen PC, Troost D, et al. The IL-1beta system in epilepsy-associated malformations of cortical development. *Neurobiol Dis*; 2006, 24(1): 128-143.
76. Ravizza T, Gagliardi B, Noé F, Aronica E, Vezzani A. Innate and adaptative immunity during epileptogenesis and spontaneous seizures: evidence from experimental models and human temporal lobe epilepsy.

- Neurobiology of disease; 2008, 29(1): 142-160.
77. Maroso M, Balosso S, Ravizza T, Liu J, Bianchi ME, Vezzani A. Interleukin-1 type i receptor/Toll like receptor signaling in epilepsy: the importance of IL-1 beta and high-mobility group box 1. *J Intern Med*; 2011a, 270(4): 319-326.
78. Maroso M, Balosso S, Ravizza T, Iori V, Wright CI, et al. Interleukin-1b biosynthesis inhibition reduces acute seizures and drug resistant chronic epileptic acrivity in mice. *Neurotherapeutics*; 2011b, 8(2): 304-315.
79. Hanael E, Veksler R, Friedman A, Bar-Klein G, Senatorov Jr. VV, Kaufer D, Konstantin L, Elkin M, Chai O, Peery D, Shamir MH. Blood-brain barrier dysfunction in canine epileptic seizures detected by dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *Epilepsia*; 2019, 60:1005-1016.
80. Mueller R. Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Vet Dermatol*; 2004, 15: 75-89.
81. Castro M. Estudio descriptivo de la eficacia clínica de un esquema terapéutico de ivermectina en caninos con demodicosis generalizada. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias; 2011.
82. Moreno C. Evaluación de la eficacia del tratamiento con ivermectina oral en pacientes caninos afectados por demodicosis generalizada. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias; 2009.
83. Bhatti SFM, De Risio L, Muñana K, Penderis J, Stein VM, Tipold A, Berendt M, et al. Propuesta de Consenso del Grupo de Trabajo Internacional de Epilepsia Veterinaria: tratamiento médico de la epilepsia canina en Europa. *BMC Vet Res*; 2015, 11:176 DOI 10.1186/s12917-015-0464-z

