

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Escola de Veterinária

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

Maria Paula Rajão Costa Coelho

**Avaliação da segurança do uso de extrato de *Cannabis* em monoterapia e em associação ao fenobarbital em cães saudáveis e relato de seu emprego como terapia adjuvante ao fenobarbital em cães epiléticos**

Belo Horizonte

2021

Maria Paula Rajão Costa Coelho

**Avaliação da segurança do uso de extrato de *Cannabis* em monoterapia e em associação ao fenobarbital em cães saudáveis e relato de seu emprego como terapia adjuvante ao fenobarbital em cães epiléticos**

**Versão final**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Gonçalves de Melo

Co-Orientadores: Profa. Fabiola de Oliveira Paes Leme, Prof. Fabrício de Araújo Moreira, Profa. Marília Martins Melo

Belo Horizonte

2021

C672a Coelho, Maria Paula Rajão Costa ,1990 -  
Avaliação da segurança do uso de extrato de Cannabis em monoterapia e em associação ao fenobarbital em cães saudáveis e relato de seu emprego como terapia adjuvante ao fenobarbital em cães epiléticos/ Maria Paula Rajão Costa Coelho. – 2021.

170 f.

Orientadora: Eliane Gonçalves de Melo  
Coorientadores: Fabiola de Oliveira Paes Leme  
Fabricio de Araújo Moreira  
Marília Martins Melo

Tese (Doutorado) apresentado à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

1. Cão - Teses – 2. Doenças – Tratamento - Teses - 3. Epilepsias – Teses – 4. Ciência animal- Teses - I. Melo, Eliane Gonçalves de – II. Leme, Fabiola de Oliveira Paes – III. Moreira, Fabricio de Araújo – IV. Melo, Marília Martins – V. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – VI. Título.

CDD – 636.708 96

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA  
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

**MARIA PAULA RAJÃO COSTA COELHO**

Tese submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de DOUTOR em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração em Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Aprovada em 30 de junho de 2021, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Eliane Gonçalves de Melo  
Presidente – Orientador(a)

Dr.(a). Igor Dimitri Gama Duarte

Dr.(a). Rubens Antônio Carneiro

Dr.(a). Vitor Márcio Ribeiro

Dr.(a). Erik Amazonas de Almeida



Documento assinado eletronicamente por **Eliane Gonçalves de Melo, Diretor(a) de órgão complementar**, em 30/06/2021, às 19:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Erik Amazonas de Almeida, Usuário Externo**, em 01/07/2021, às 14:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rubens Antonio Carneiro, Professor do Magistério Superior**, em 01/07/2021, às 17:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Igor Dimitri Gama Duarte, Membro de comissão**, em 01/07/2021, às 18:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Vitor Marcio Ribeiro, Usuário Externo**, em 01/07/2021, às 19:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0806862** e o código CRC **9D0FAF98**.

---

Referência: Processo nº 23072.204824/2021-41

SEI nº 0806862

Criado por **kkb**, versão 2 por **kkb** em 28/06/2021 14:46:51.

Ao meu amado filho José Henrique e à minha inesquecível cadelinha Lalá.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde e capacitação para a realização deste doutorado e por ter colocado no meu caminho tantas pessoas dispostas a ajudar. Aqui mencionarei algumas, mas seria impossível citar todas.

Agradeço a meus pais Paulo e Fátima e à minha irmã Maria Silvia por sempre acreditarem na minha capacidade, por me incentivarem a perseguir meus sonhos e por se orgulharem tanto das minhas conquistas.

Agradeço ao meu esposo Bruno pela amizade e companheirismo inabaláveis mesmo que fosse para acordar cedo em um domingo para limpar canis ou para transportar os cães por centenas de quilômetros para suas novas casas. Estivemos e estaremos sempre juntos, meu amor!

Agradeço ao meu filho José Henrique pela paciência com os meus compromissos profissionais desde a barriga. Você é o projeto mais importante da vida do papai e da mamãe!

Agradeço aos meus sogros Helvécio e Ivana por me acolherem tão bem em sua casa e em sua família.

Agradeço a minha orientadora Professora Eliane Gonçalves de Melo pela confiança, compreensão, amizade, incentivo e pelos inúmeros ensinamentos no mestrado e doutorado. Me orgulho muito de ter sido sua orientada!

Agradeço aos alunos de iniciação científica Ana Luiza Ferreira Lima Mendanha, Bruna Bistene Roque, Daniel da Silva Rodrigues, Fernanda Ferretti Santiago Calic e Flora Honório Caporali de Freitas pela disponibilidade em contribuir no estudo.

De maneira especial, agradeço às alunas de iniciação científica Ana Luisa Mota Ribeiro e Natalia Souza Ferreira por terem sido meu braço direito e feito muito mais do que se espera de um aluno de iniciação científica; à colega de pós-graduação Andrine Cristiane Soares de Souza por sua amizade e disponibilidade em ajudar mesmo com todos seus compromissos familiares e profissionais; e à querida colega de pós-graduação Paula Costa de Oliveira Pinto por toda a ajuda gratuita na realização das análises cardiovasculares. Esse estudo não seria possível sem a contribuição de vocês quatro! Sou eternamente grata!

À co-orientadora Fabiola de Oliveira Paes Leme e a sua equipe de residentes e orientados (especialmente Lucas Braga Costa dos Santos e Daniela Bastos de Souza Karam Rosa)

agradeço por toda a boa vontade em auxiliar no planejamento e realização das análises clínicas e na interpretação dos resultados.

Agradeço ao co-orientador Fabricio de Araújo Moreira por ter contribuído com seu conhecimento nessa área de estudo tão nova.

À co-orientadora Marília Martins Melo e a sua equipe de alunos de pós-graduação e iniciação científica (especialmente Jéssica Oliveira Pereira da Cruz e Paula Bretas Ullman Fernandes) agradeço pelo acolhimento e pela disponibilidade em contribuir com a realização das análises clínicas.

Ao amigo Fernando Victor Martins Rubatino agradeço imensamente pela disponibilidade em auxiliar novamente com a realização e interpretação das análises estatísticas.

Agradeço a Associação Abrace pela doação dos extratos de *Cannabis* utilizados e pela realização da análise de composição do lote. Aos funcionários Gerefson Alves de Oliveira e Carlos Espinola agradeço pelo auxílio técnico científico prestado.

Agradeço a empresa Nestlé Purina pela doação de parte da ração utilizada.

Agradeço à Prefeitura de Brumadinho – MG e à servidora médica veterinária Júlia Goulart Ferreira Pinto pela parceria para obtenção dos cães (que foram castrados e posteriormente doados).

Agradeço à Universidade Federal de Minas Gerais por todo o conhecimento adquirido nos 11 anos de graduação e pós-graduação. Para sempre terei muito orgulho de ter esse nome no meu currículo.

Agradeço à Escola de Veterinária e ao Hospital Veterinário da UFMG por todo o crescimento atingido durante os anos de atendimento de casos neurológicos. Agradeço ainda por terem disponibilizado sua estrutura para a realização deste projeto.

Agradeço à CAPES pela bolsa de estudos concedida no mestrado e doutorado.

Agradeço aos 12 amigos de quatro patas, amados companheiros por meses no canil: Ane, Anvisa, Casemiro, Drogavet, Elsa, Gibbs, Lulu, Mariana, Melo, Nadia, Platt e Rafa.

Agradeço ainda aos meus queridos pacientes Bartolomeu, Hector, Lola, Lupi, Pingo e Sofia e a seus tutores Agata, Edilane, Rafaela, Cassio, Debora e Barbara pela confiança para a utilização desta nova terapia em seus animais.



## RESUMO

Distúrbios do sistema endocanabinoide (SEC) podem estar relacionados a ocorrência de doenças em diferentes espécies. As substâncias derivadas da *Cannabis* atuam sobre o SEC. Assim, postula-se que a utilização desses compostos possa trazer benefícios no tratamento de doenças. As epilepsias são condição clínica prevalente em cães. Parcela significativa desses animais continua a apresentar crises epiléticas mesmo com a utilização dos tratamentos farmacológicos atualmente disponíveis. Na medicina humana há bom nível de evidência científica da eficácia do uso de tratamentos com derivados de *Cannabis* no controle de crises epiléticas em algumas epilepsias refratárias. Nos últimos anos, têm surgido estudos que avaliam a utilização destes produtos em animais e relatos anedóticos[1][PC2] da eficácia desses tratamentos na medicina veterinária. Ainda assim, atualmente as evidências de segurança e propriedades terapêuticas dessas substâncias em cães ainda são escassas. Este estudo teve como objetivos avaliar, em cães saudáveis, a segurança do emprego de extrato de *Cannabis* contendo os fitocanabinoides canabidiol (CBD) e  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) acompanhado ou não do fenobarbital (fase 1), e, em cães epiléticos, analisar o efeito clínico da associação deste composto ao fenobarbital (fase 2). Na fase 1 foram utilizados 12 cães saudáveis mantidos em condições experimentais, aleatoriamente divididos em três grupos (n=4): G1 tratado exclusivamente com extrato de *Cannabis*, G2 tratado com associação do extrato ao fenobarbital e G3 tratado com associação do fenobarbital à solução placebo. Na fase 2, foram utilizados seis cães epiléticos acompanhados na rotina clínica do HV-UFMG, que estavam sendo tratados com fenobarbital e ainda assim apresentavam no mínimo uma crise epilética por mês. Foi utilizado delineamento simples-cego randomizado, e os animais foram divididos em dois grupos: G4 tratado com extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital previamente utilizado (n = 4) e G5 tratado com solução placebo associada ao fenobarbital previamente utilizado (n=2). Os 18 animais foram tratados por 60 dias. Durante o período, foram acompanhados quanto a frequência de crises epiléticas (fase 2) e ocorrência de possíveis efeitos colaterais aos tratamentos (fases 1 e 2). Além disso, foram realizadas reavaliações clínicas e laboratoriais (exame físico e neurológico, coleta de sangue para realização de hemograma, perfil bioquímico hepático e renal e mensuração sérica do fenobarbital, aferição de pressão arterial sistólica – PAS, frequência cardíaca média – FCM e realização de eletrocardiograma - ECG) em três tempos distintos: T0 – antes do

início dos tratamentos, T1 – 30 dias após início dos tratamentos e T2 - 60 dias após início dos tratamentos. A instituição das terapias experimentais não determinou alterações significativas em exame físico, neurológico, avaliações de função cardiovascular, bioquímica renal e mensuração sérica do fenobarbital. Excetuando-se G5, os quatro demais grupos experimentais apresentaram alteração no número de hemácias e/ou nos índices hematimétricos (concentração de hemoglobina corpuscular média – CHCM - e/ou hemoglobina corpuscular média - HCM) em algum momento do tratamento. Além disso, os animais tratados com associação do fenobarbital ao óleo de extrato de *Cannabis* (G2 e G4) apresentaram elevação na atividade sérica das enzimas fosfatase alcalina (FA) e alanina aminotransferase (ALT). O tratamento com óleo de extrato de *Cannabis* foi bem tolerado, tendo sido registrados efeitos colaterais infrequentes e de pouca repercussão clínica, não tendo havido necessidade de descontinuação da terapia em nenhum animal. Dois dos quatro cães epiléticos tratados com o extrato de *Cannabis* (G4) e nenhum dos cães tratados com placebo (G5) apresentaram redução na frequência de crises epiléticas superior a 50% sendo, assim, considerados responsivos ao tratamento. Foi registrada redução superior (33%) na frequência média de crises epiléticas mensais em G4 em relação a G5 (9%). No entanto, tal redução não foi estatisticamente significativa ( $p > 0.05$ ). A utilização em cães de extrato de *Cannabis* em monoterapia ou associado ao fenobarbital foi segura na dose e tempo de tratamento empregados, considerando-se as variáveis acompanhadas neste estudo. Indica-se monitorização frequente de hemograma e bioquímica hepática neste tipo de tratamento – o último especialmente quando empregada a associação de derivados da *Cannabis* ao fenobarbital. A adição do óleo de extrato de *Cannabis* a tratamentos antiepiléticos com fármacos convencionais pode determinar ganho no controle de crises epiléticas em cães, podendo ser considerada estratégia terapêutica adjuvante em epilepsias caninas refratárias.

**Palavras-chave:** fitocanabinoides, sistema endocanabinoide, CBD, THC, cão, antiepiléticos, toxicidade.

## **ABSTRACT**

*Endocannabinoid system dysfunctions may be related to the occurrence of pathologies in different species. Cannabis-derived substances act on this system. Thus, it is postulated that the use of these compounds can bring benefits in the treatment of diseases. Epilepsies are prevalent clinical conditions in dogs. A significant portion of these animals continues to present epileptic seizures even with the use of pharmacological treatments. There is a good level of scientific evidence of the efficacy of treatments with Cannabis-based medicines in controlling epileptic seizures in some refractory epilepsies in humans. Recently, there have been studies that evaluate the use of Cannabis-derived products in animals and anecdotal reports of the benefits of these treatments in veterinary medicine. Even so, evidence of safety and therapeutic properties of these substances in dogs is currently scarce. The objectives of this study were to evaluate the safety of using Cannabis extract (containing the phytocannabinoids cannabidiol – CBD and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol) alone or combined with phenobarbital in healthy dogs (phase 1) and the clinical effect of this association in the treatment of dogs with epilepsies (phase 2). In phase 1, 12 healthy dogs were kept under experimental conditions, randomly divided into three groups (n = 4): G1 treated with Cannabis extract alone, G2 treated with the extract combined with phenobarbital and G3 treated with the combination of phenobarbital with placebo solution. In phase 2, were selected six epileptic dogs treated at HV-UFMG who were already on phenobarbital and, even so, had at least one seizure per month. In this randomized single-blind trial the dogs were divided into two groups: G4 treated with Cannabis extract combined with previous phenobarbital (n = 4) and G5 treated with placebo solution combined with previous phenobarbital (n = 2). The 18 animals were treated for 60 days. During the period, they were monitored for seizures frequency (phase 2) and for the occurrence of possible adverse effects (phases 1 and 2). In addition, clinical reassessments (physical and neurological examination, blood collection for hemogram, hepatic and renal biochemical profile and serum measurement of phenobarbital, SBP, BPM and ECG measurement) were performed at three different times: T0 - before the start of treatments, T1 - 30 days after starting treatments and T2 - 60 days after starting treatments. The use of experimental therapies did not determine significant changes in physical and neurological examination, assessments of cardiovascular function, renal biochemistry and serum measurement of phenobarbital. Except for G5, the four other experimental groups showed changes in hematological*

*indexes (MCHC, CHC and / or RBC) at some point in the treatments. In addition, the animals treated with the with Cannabis extract oil combined with phenobarbital (G2 and G4) showed an increase in serum ALP and ALT activities. Treatment with Cannabis extract oil was well tolerated, showing infrequent and mild adverse effects, no needing withdraw. Two of the four dogs treated with Cannabis extract oil combined with phenobarbital (G4) and none of the dogs treated with placebo combined with phenobarbital (G5) showed a reduction in the frequency of mensal epileptic seizures greater than 50%, being considered responders to treatment. G4 showed a greater reduction (33%) in the average frequency of monthly epileptic seizures compared with G5 (9%), wich, however, was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). These findings indicate that the use of Cannabis extract alone or combined with phenobarbital is safe in dogs. Frequent monitoring of blood count and liver profile is indicated - the latter especially when Cannabis products are used along with phenobarbital. In addition, the combination of Cannabis extract oil to conventional antiepileptic treatments as phenobarbital may determine gains in the control of epileptic seizures in dogs.*

**Key-words:** *phytocannabinoids, endocannabinoid system, CBD, THC, dogs, antiepileptic drugs, toxicity.*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b>	<b>Cão devidamente posicionado para realização de exame de ECG.</b>	<b>87</b>
<b>Figura 2</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvio-padrão) de peso (kg) dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>97</b>
<b>Figura 3</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvio-padrão) de temperatura retal (°C) dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>101</b>
<b>Figura 4</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvio-padrão) de pressão arterial sistólica (mmHg) dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>103</b>
<b>Figura 5</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvio-padrão) da frequência cardíaca média (BPM) dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>104</b>
<b>Figura 6</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) dos níveis séricos de fenobarbital dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>106</b>
<b>Figura 7</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) do número de eritrócitos dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>109</b>
<b>Figura 8</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) das porcentagens de CHCM dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>110</b>
<b>Figura 9</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) dos níveis HCM dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>111</b>
<b>Figura 10</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) dos níveis séricos de uréia dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>113</b>
<b>Figura 11</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) dos níveis séricos de creatinina dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>114</b>

<b>Figura 12</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) da atividade da enzima AST dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>116</b>
<b>Figura 13</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) da atividade da enzima ALT dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>117</b>
<b>Figura 14</b>	<b>Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) da atividade da enzima FA dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.</b>	<b>118</b>
<b>Figura 15</b>	<b>Demonstração gráfica do número total de registros de alterações clínicas ou comportamentais possivelmente indicativas de efeitos colaterais das terapias experimentais durante os 60 dias de período experimental (fase 1).</b>	<b>121</b>
<b>Figura 16</b>	<b>Demonstração gráfica da distribuição dos registros de possíveis efeitos colaterais das terapias experimentais nos dois meses estudados (fase 1).</b>	<b>122</b>
<b>Figura 17</b>	<b>Demonstração gráfica da distribuição das categorias de registros de possíveis efeitos colaterais das terapias experimentais em cada grupo experimental na fase 1.</b>	<b>122</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	<b>População canina estudada na fase 1 (cães saudáveis).</b>	<b>76</b>
<b>Tabela 2</b>	<b>População canina estudada na fase 2 (cães epiléticos).</b>	<b>82</b>
<b>Tabela 3</b>	<b>Composição de fitocanabinoides do lote do produto utilizado no estudo (frascos de 60 mL de extrato de <i>Cannabis</i> contendo 20% CBD e 4% THC diluído em óleo de TCM a 0,5%).</b>	<b>97</b>
<b>Tabela 4</b>	<b>Alterações clínicas relatadas pelos tutores nos dois meses de estudo (fase 2).</b>	<b>123</b>
<b>Tabela 5</b>	<b>Frequência mensal de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas nos dois meses que antecederam o início das terapias experimentais, média de frequência de crises mensais pré tratamento (dada pela soma dos valores de crises no mês 1 e mês 2 dividida por dois), frequência mensal de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas nos dois meses de terapia experimental, frequência mensal de crises mensais pós tratamento (dada pela soma dos valores de crises no mês 1 e mês 2 dividida por dois).</b>	<b>127</b>
	<b>Alterações clínicas relatadas pelos tutores nos dois meses de estudo (fase 2).</b>	

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	<b>Apresentações clássicas de crises epiléticas e de seus diferenciais em cães.</b>	<b>39</b>
<b>Quadro 2</b>	<b>Características das epilepsias idiopáticas, estruturais e crises epiléticas reativas em cães.</b>	<b>52</b>
<b>Quadro 3</b>	<b>Indicações para início de terapia em cães com histórico de crise epilética.</b>	<b>58</b>
<b>Quadro 4</b>	<b>Delineamento do estudo.</b>	<b>72</b>
<b>Quadro 5</b>	<b>Fase 1: grupos experimentais e seus respectivos tratamentos.</b>	<b>75</b>
<b>Quadro 6</b>	<b>Fase 2: grupos experimentais e seus respectivos tratamentos.</b>	<b>81</b>
<b>Quadro 7</b>	<b>Alteração na frequência de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas após instituição de tratamentos experimentais.</b>	<b>128</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 2- AG - 2-araquidonil-glicerol.
- ALT – Alanina aminotransferase.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
- AST – Aspartato aminotransferase.
- BPM – Batimentos por minuto ou *average beats per minute*.
- CB<sub>1</sub> – Receptor canabinoide 1.
- CB<sub>2</sub> – Receptor canabinoide 2.
- CBD – Canabidiol.
- CBDA – Ácido canabidiol.
- CBN – Canabinol.
- CEUA – Comissão de ética no uso de animais.
- CFMV – Conselho federal de medicina veterinária.
- CHC – *Corpuscular hemoglobin concentration*.
- CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média.
- dL – Decilitro.
- DL50 – Dose letal mediana.
- ECG – Eletrocardiograma ou *electrocardiogram*.
- EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético.
- EEG – Eletroencefalograma.
- FA – Fosfatase alcalina.
- FCM – Frequência cardíaca média.
- GABA – Ácido gama amino butírico.
- GGT – Gama glutamil transferase.
- HB – Concentração de hemoglobina.
- HCM – Hemoglobina corpuscular média.
- HIV – Vírus da imunodeficiência humana.
- HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência ou *High Performance Liquid Chromatography*.
- HV- Hospital veterinário.
- kg – Quilograma.

MAPA – Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento.

MCHC – *Mean corpuscular hemoglobin concentration*.

mg – Miligrama.

mL – Mililitro.

mm – Milímetro.

mmHg – Milímetro de mercúrio.

nm – Nanômetro.

OEA – Oleiletanolamida.

PAS – Pressão arterial sistólica.

PEA – N-palmitoiletanolamida.

RBC – Número de hemácias.

RCs – Receptores canabinoides.

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada.

SBP – *Systolic blood pressure*.

SEC – Sistema endocanabinoide.

SNC – Sistema nervoso central.

SNP – Sistema nervoso periférico.

SRD – Sem raça definida.

TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido.

TCM – Triglicérides de cadeia média (sinônimo MCT).

THC –  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol.

THCA – Ácido tetra-hidrocanabinólico.

TR – Temperatura Retal.

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais.

u/L – Unidade por litro.

VCM – Volume corpuscular médio.

VG – Volume globular.

VO – Via oral.

$\mu$ g – Micrograma.

$\mu$ L – Microlitro.

## SUMÁRIO

<b>Resumo</b> .....	<b>8</b>
<i>Abstract</i> .....	<b>10</b>
<b>Lista de ilustrações</b> .....	<b>12</b>
<b>Lista de tabelas</b> .....	<b>14</b>
<b>Lista de quadros</b> .....	<b>15</b>
<b>Lista de abreviaturas e siglas</b> .....	<b>16</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>20</b>
<b>Objetivos gerais</b> .....	<b>21</b>
<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>21</b>
<b>1. Revisão de literatura</b> .....	<b>21</b>
1. 1Contexto histórico da utilização medicinal da <i>Cannabis</i> .....	<b>21</b>
1. 2 Emprego medicinal da <i>Cannabis</i> em cães .....	<b>27</b>
1.2.1 Estudos clínicos e relatos de caso .....	<b>29</b>
1.2.2 Toxicologia, segurança e farmacologia.....	<b>31</b>
1.3 Epilepsias em cães.....	<b>38</b>
1.3.1 Tratamento farmacológico no Brasil.....	<b>58</b>
1.3.1.1 Fenobarbital .....	<b>61</b>
1.3.1.2 Brometo de potássio .....	<b>64</b>
1.3.1.3 Levetiracetam .....	<b>68</b>
1.3.1.4Outros fármacos.....	<b>71</b>
<b>2. Material e métodos</b> .....	<b>72</b>
2.1 Fase 1 .....	<b>72</b>
2.1.1 Período experimental .....	<b>74</b>
2.1.2 Análise estatística.....	<b>77</b>
2.2 Fase 2.....	<b>77</b>
2.2.1 Seleção dos animais .....	<b>77</b>
2.2.2 População estudada .....	<b>78</b>
2.2.3 Grupos experimentais e tratamentos .....	<b>80</b>
2.2.4 Acompanhamento e conduta após fim do período experimental .....	<b>83</b>
2.2.5 Análise estatística.....	<b>84</b>
2.3 Avaliações hematológicas .....	<b>85</b>
2.3.1 Hemograma .....	<b>85</b>
2.3.2 Perfil bioquímico.....	<b>85</b>

2.3.3 Mensuração dos níveis séricos de fenobarbital.....	85
2.4 Avaliações relacionadas ao sistema cardiovascular .....	85
2.4.1 Aferição de PAS.....	86
2.4.2 ECG.....	86
2.4.3 Aferição de FCM .....	86
2.5 Avaliação da composição do extrato de <i>Cannabis</i> .....	87
<b>3. Resultados e discussão.....</b>	<b>87</b>
3.1 Extrato de <i>Cannabis</i> : composição e dosagem empregada .....	87
3.2 População canina estudada .....	92
3.3 Delineamento do estudo .....	94
3.4 Parâmetros avaliados na monitorização clínica dos animais.....	97
3.4.1 Peso .....	97
3.4.2 Temperatura corpórea .....	100
3.4.3 Avaliações relacionadas ao sistema cardiovascular .....	103
3.4.4 Mensuração do fenobarbital sérico .....	106
3.4.5 Hemograma .....	108
3.4.6 Perfil bioquímico.....	112
3.4.7 Pesquisa de possíveis efeitos colaterais .....	120
3.4.8 Efeito clínico da associação do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> ao fenobarbital no tratamento de cães epiléticos (fase 2).....	126
<b>4. Conclusões .....</b>	<b>131</b>
<b>5. Considerações finais .....</b>	<b>132</b>
<b>6. Perspectivas futuras .....</b>	<b>133</b>
<b>7. Referências bibliográficas.....</b>	<b>133</b>

## INTRODUÇÃO

As epilepsias compreendem conjunto de distúrbios neurológicos crônicos mais frequentes em cães (GALUCCI et al., 2017), com incidência estimada de até 0,75% na espécie (HESKE et al., 2014). O tratamento da condição se baseia principalmente no controle das crises epiléticas por meio do uso de fármacos (BHATTI et al., 2015). No entanto, até um terço desses animais são considerados refratários à terapia (MUÑANA, 2013), proporção semelhante à relatada na medicina humana (BELEZA, 2009).

O inadequado controle dos episódios pode estar relacionado a redução da expectativa de vida dos animais por predispor a ocorrência de *status epilepticus* ou mesmo à realização de eutanásia (BERENDT et al., 2007). Além disso, os efeitos colaterais dos fármacos, as comorbidades relacionadas à doença e o impacto social da condição promovem redução da qualidade de vida de cães epiléticos e de seus tutores (PACKER e VOLK, 2015; FISCHER, 2020; PERGANDE et al., 2020). Assim, justificam-se os contínuos esforços pelo desenvolvimento de novas terapias para a condição nas medicinas humana e veterinária (LOSCHER e SCHMIDT, 2011; TIPOLD et al., 2014; CHARALAMBOUS et al., 2020).

Nesse contexto, popularizou-se recentemente a utilização medicinal da *Cannabis* em pacientes humanos com epilepsias não controladas (MAA e FIGI, 2014). Atualmente, estão bem estabelecidas diversas propriedades terapêuticas da planta (NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE, 2017), sendo que o maior nível de recomendação e evidência científica (classe I) foi relatado no tratamento de pessoas com síndromes epiléticas de difícil controle (DEVINSKY et al., 2017; DEVINSKY et al., 2018b ; ARZIMANOGLU et al., 2020).

A veiculação de tratamentos com aparente sucesso na medicina humana tem contribuído para o crescente interesse por esse tipo de terapia também na medicina veterinária (NOLEN, 2013; KOGAN et al., 2016; KOGAN et al., 2018). As pesquisas envolvendo o potencial para uso terapêutico da *Cannabis* em diferentes doenças nos animais encontram-se ainda em fases iniciais (HARTSEL et al., 2019). Há, até o momento, indícios de benefícios com a utilização de derivados da planta no tratamento de cães com osteoartrite (GAMBLE et al., 2018; VERRICO et al., 2020) e epilepsias (MCGRATH et al., 2019). Portanto a investigação da segurança e eficácia no controle de crises epiléticas em cães de um produto derivado da *Cannabis* disponível no mercado brasileiro é de extrema importância por seu potencial no auxílio ao tratamento das

epilepsias caninas no país, condição clínica prevalente e frequentemente refratária aos fármacos convencionais.

### **OBJETIVOS GERAIS**

- Avaliar a segurança da utilização de extrato de *Cannabis* em monoterapia e associado ao fenobarbital em cães.
- Analisar o efeito clínico da utilização do extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital no tratamento de cães epiléticos.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar se a utilização de extrato de *Cannabis* em monoterapia ou associado ao fenobarbital pode gerar efeitos positivos ou deletérios em cães saudáveis, por meio do acompanhamento de parâmetros clínicos e laboratoriais (exames físico e neurológico, avaliações do sistema cardiovascular eletrocardiograma, aferição de pressão arterial sistólica e determinação de frequência cardíaca média, peso, temperatura retal, número de eritrócitos, níveis de hemoglobina, volume globular, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, plaquetas, leucócitos totais, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, monócitos, atividade sérica das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase e fosfatase alcalina e níveis séricos de uréia e creatinina).
- Analisar se a utilização de extrato de *Cannabis* altera os níveis séricos de fenobarbital em cães.
- Avaliar se a associação de extrato de *Cannabis* ao fenobarbital reduz a ocorrência de crises epiléticas e pode auxiliar no tratamento de cães com epilepsias.

## **1. REVISÃO DE LITERATURA**

### **1.1 CONTEXTO HISTÓRICO DA UTILIZAÇÃO MEDICINAL DA CANNABIS**

Há indício de interações da espécie humana com plantas do gênero *Cannabis spp.* com aplicações variadas há pelo menos 12 mil anos (BACKES, 2014). Sua utilização

medicinal parece ter tido início na China há quase 5 mil anos, havendo na primeira farmacopeia chinesa citações de emprego da planta no tratamento de mais de 100 diferentes condições como gota, reumatismo e malária. Há evidência de que, ainda em tempos remotos, a cultura de utilização medicinal da *Cannabis* tenha alcançado outros países da Ásia, do Oriente Médio e da África. Papiros egípcios e livros sagrados da Índia fazem menção a seu uso religioso e propriedades medicinais, especialmente no tratamento da inflamação, dores de cabeça, febre, infecções bacterianas, diarreia, dor reumática, epilepsia, ansiedade, raiva, asma, bronquite e malária (KALANT, 2001). Já no ocidente, a *Cannabis* parece ter ganhado notoriedade como opção terapêutica na idade contemporânea, a partir de 1838, com o relato médico de William O'Shaughnessy. Ele afirmou, em importante jornal científico da época, desconhecer medicamento com efeito ansiolítico, antiepilético e antinociceptivo tão eficaz quanto tinturas alcólicas da planta utilizadas em sua prática clínica na Índia (TURNER, 2011). A partir dessa publicação foi criada comissão conduzida pelo governo britânico com a finalidade de conhecer as terapias com *Cannabis*. Baseado em questionários aplicados em mais de mil pacientes, o arquivo oficial do estudo indicou que o uso da planta em doses moderadas poderia trazer benefícios, devendo ser considerado medicinal (KALANT, 1972).

Essa opção terapêutica foi plenamente aceita pela classe médica brasileira na época. Até meados do século XX formulações de *Cannabis* eram citadas em compêndios médicos e catálogos de produtos farmacêuticos, sendo facilmente encontradas em farmácias brasileiras (CARLINI, 2006). As medidas proibicionistas internacionais que tiveram início na Europa e Estados Unidos a partir de 1920 passaram a dificultar o acesso a planta em todo o mundo. Diante disso, a percepção sobre a *Cannabis* mudou de possível tratamento médico para uma substância ilícita (BACKES, 2014). Essa visão da sociedade sobre a planta interfere até hoje em suas aplicações terapêuticas, apesar da existência de evidências sobre sua eficácia e segurança (MACK e JOY, 2001).

Até a década de 1960 os estudos envolvendo a *Cannabis* eram focados no contexto de droga de abuso (BACKES, 2014). O isolamento e caracterização de importantes substâncias presentes na planta, o canabidiol (CBD) (MECHOULAM e SHVO, 1963) e  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) (GAONI e MECHOULAM, 1964; MECHOULAM e GAONI, 1967), despertaram novamente o interesse da comunidade científica para o estudo da *Cannabis* após tempo de esquecimento. Na década de 1970 foi demonstrado efeito anticonvulsivante do CBD em camundongos e ratos (CARLINI et al., 1973) e, mais tarde, em pessoas com epilepsias (CUNHA et al., 1980). A partir da década de 1980 foram

descobertos, respectivamente, receptores no cérebro de ratos nos quais o THC se ligava (mais tarde denominados receptores canabinoides 1 ou CB1) (DEVANE et al., 1988), substância endógena extraída de cérebros de porcos que se ligava a estes mesmos receptores (DEVANE et al., 1992), e um segundo receptor canabinoide (CB2) detectado em células do baço humano (MUNRO et al., 1993).

A partir de então criou-se o conceito de sistema endocanabinoide (SEC), que está presente em imensa gama de seres vivos e consiste em subtipos de receptores canabinoides (RCs), substâncias ligantes e enzimas envolvidas em sua síntese e degradação (VILELA et al., 2013; LANDA et al., 2016).

Até agora, os principais RCs descritos são CB1 e CB2. Acreditava-se que CB1 era especialmente expresso no cérebro e CB2 era encontrado principalmente em tecidos e células do sistema imune (AMERI, 1999). As publicações atuais demonstraram uma maior complexidade de distribuição desses receptores: além do sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP) (MACKIE, 2005), CB1 também parece estar presente em outros tecidos como ovários, testículos, glândulas salivares, sistema cardiovascular e gastrointestinal (PERTWEE, 1997; CROCI et al., 1998; SZABO et al., 2001; WAGNER et al., 2001), enquanto CB2 também foi detectado no SNC em células da micróglia e neurônios (ASHTON et al., 2006). RCs semelhantes foram identificados em praticamente todos os seres vivos, desde primatas a espécies primitivas como celenterados (MACK e JOY, 2001). Isso indica que o SEC vem sendo mantido evolutivamente há centenas de milhões de anos provavelmente por sua importância biológica. Acredita-se que seja um dos maiores sistemas de receptores do corpo humano, que influencia a comunicação sináptica e modula funções diversas como controle do peso (HORN et al., 2018), motilidade e secreção do trato gastrointestinal (SANGER, 2007), homeostase cardiovascular (KUNOS et al., 2000) e do sistema nervoso em geral (equilíbrio de neurotransmissores, dor, apetite, função motora e cognitiva, sono, ansiedade, controle da temperatura) (FRIDE, 2002; WENGER e MOLDRICH, 2002; DEVINSKY et al., 2014), controle glicêmico (CHWALBA e OTTO-BUCZKOWSKA, 2019), resposta imune e inflamação (BARRIE e MANOLIOS, 2017), defesa antioxidante (LIPINA e HUNDAL, 2016), sistema hematopoiético (AERTS-KAYA et al., 2019), entre outros.

Os canabinoides são substâncias químicas que agem primariamente em RCs. Se dividem em três grupos principais: canabinoides endógenos ou endocanabinoides, canabinoides de plantas ou fitocanabinoides e canabinoides sintéticos (FISAR, 2009).



Existem diversos compostos endocanabinoides identificados e caracterizados até o momento, dos quais os três mais estudados são: N-araquidonil-etanolamina ou anandamida, 2-araquidonil-glicerol ou 2-AG e 2-araquidonil-glicerol-éter (VILELA et al., 2013). Acredita-se que esses ácidos graxos polinsaturados endógenos participam da regulação de diversos processos fisiológicos, em geral atuando no sentido pró-homeostase com efeitos bimodais de acordo com o estado metabólico do organismo. No SNC, tais substâncias são liberadas na fenda sináptica em resposta ao influxo de cálcio em neurônios pós-sinápticos e determinam a ativação de receptores pré-sinápticos CB1 que modulam a liberação de neurotransmissores (neuromodulação retrógrada) (VILELA et al., 2013; LANDA et al., 2016). Os endocanabinoides são sintetizados por demanda, atravessam membranas e são degradados por enzimas endógenas, atuando na modulação de funções para manutenção da homeostase (HARTSEL et al., 2019). Há ainda mais de 100 compostos endógenos de ácidos graxos ligados a aminoácidos denominados canabimiméticos que apresentam estrutura química semelhante aos endocanabinoides e parecem modular a atividade do SEC apesar de não se ligarem diretamente a RCs, como a N-palmitoiletanolamida (PEA) e a oleiletanolamida (OEA) (ABRAMO et al., 2014; VALASTRO et al., 2017).

Os fitocanabinoides são substâncias presentes em plantas capazes de interagir com o sistema endocanabinoide mimetizando a ação dos endocanabinoides. Sabe-se que a *Cannabis* é constituída de mais de 400 substâncias, das quais pelo menos 150 são consideradas fitocanabinoides (HANUŠ et al., 2016). Os dois principais componentes farmacologicamente ativos da *Cannabis* são os fitocanabinoides THC e CBD (DEVINSKY et al., 2014). Na verdade, a planta sintetiza precursores ácidos desses compostos (THCA e CBDA) que são descarboxilados e convertidos em THC e CBD quando expostos ao calor por combustão, vaporização ou extração em calor ou em menor quantidade ainda na planta quando há mudança no pH, por exemplo (RUSSO, 2011). O THC é o principal responsável pelas alterações neurocomportamentais observadas após consumo de *Cannabis*[3], sobretudo por meio da ativação direta de receptores CB1 no encéfalo (DEVANE et al., 1988; MATSUDA et al., 1990). Já CBD é o componente dito não psicoativo da planta. No entanto, por seus conhecidos efeitos ansiolítico, antipsicótico, antidepressivo e antiepiléptico pode-se inferir que certamente o composto atua no cérebro e, assim, pode ser considerado psicoativo, porém não intoxicante como o THC (RUSSO, 2017). Seu mecanismo de ação ainda não foi completamente elucidado. Acredita-se que a substância não determina ativação de receptores canabinoides, mas

modula o sistema de maneira indireta por diversos mecanismos (como a inibição alostérica de receptores CB1, por exemplo), além de interagir com outros sistemas de sinalização não-endocanabinoide (DEVINSKY et al., 2014; LANDA et al., 2016).

Além da *Cannabis*, outras plantas denominadas canabimiméticas como a *Echinacea* spp. parecem apresentar compostos capazes de interagir com o SEC (GERTSCH et al., 2010; KUMAR et al., 2019). Há ainda esforços no sentido de sintetizar substâncias exógenas que sejam capazes de interagir com esse sistema (HOURANI e ALEXANDER, 2018). Nabilona e Dronabinol (Marinol ®) são análogos sintéticos do THC aprovados principalmente para tratamento de vômitos e náuseas associados a quimioterapia nos Estados Unidos (FDA, 2020). SR141716A ou Rimonabant é um antagonista/agonista inverso do receptor CB1 com efeito clínico de redução do apetite. A droga parece ser eficaz no controle de peso, porém pode induzir ansiedade e depressão provavelmente por sua ação no SNC, motivo pelo qual foi retirada do mercado (MOREIRA e CRIPPA, 2009). Ainda nesse sentido, uma linha de pesquisa em fase experimental é a de utilização terapêutica de análogos de endocanabinoides, como a metanandamida para controle de náusea (WOOLDRIDGE et al., 2020). A modulação de enzimas relacionadas a síntese ou degradação de endocanabinoides também é considerada uma alternativa interessante (HUGGINS et al., 2012). ABHD11, por exemplo, é uma enzima que parece participar da síntese e da hidrólise do 2-AG e pode auxiliar no tratamento de doenças metabólicas como a obesidade (ESCOUBET et al., 2020). Assim, pode ser possível realizar manipulação terapêutica do SEC com menor influência de entraves culturais, sociais e legais envolvidos com o uso da *Cannabis*.

Segundo Piomelli e Russo (2016) as variedades de *Cannabis* se diferenciam, entre outros fatores, por seus níveis de fitocanabinoides (THC, CBD e outros), hidrocarbonetos, carboidratos, flavonoides, ácidos graxos, fenóis e terpenos. Além dos fitocanabinoides, a combinação das substâncias supracitadas determinam os diferentes efeitos no organismo do uso da *Cannabis*. Assim, a simples distinção entre as quimiovariedades *Cannabis sativa* L. rica em THC e *Cannabis indica* Lam abundante em CBD é bastante simplista. Ainda, o cruzamento entre estirpes com produção de espécies híbridas e o emprego de diferentes técnicas de cultivo também favorecem as variações na composição da planta.

Apesar disso, espécies de *Cannabis* têm sido geneticamente manipuladas na tentativa de gerar composições específicas desejadas. No contexto de uso medicinal da planta, a prática clínica tem demonstrado que pacientes com algumas doenças podem se beneficiar de formulações com níveis mais elevados de THC, enquanto que em outras

condições há melhor resposta quando predomina o CBD (RUSSO e GUY, 2006). No entanto há, de maneira geral, maior aceitação de terapias com CBD devido a ausência de efeitos intoxicantes, alta tolerabilidade, baixa toxicidade e aparente menor potencial de gerar dependência (TZADOK et al., 2016). As alterações comportamentais geradas pelo consumo de THC parecem ser o principal fator responsável pela desaprovação do uso medicinal da *Cannabis*. Essa substância passou a ser “vilanizada”, enquanto o CBD tem sido considerado um tratamento altamente promissor. Nesse contexto, tem se popularizado a utilização de isolados de CBD (PAMPLONA et al., 2018). Sabe-se, porém, que os diferentes compostos presentes na planta parecem interagir com o sistema endocanabinoide de maneira sinérgica, favorecendo sua ação terapêutica e reduzindo efeitos indesejáveis quando presentes em conjunto – conceito conhecido como *entourage effect* ou efeito comitiva. Assim, sugere-se que é improvável que se possa explorar todo o potencial terapêutico da *Cannabis* com produtos que contenham um único composto isolado. Nesse sentido, produtos *full spectrum* (produzidos a partir de extratos da planta contendo THC, CBD, terpenos, flavonoides e etc) poderiam trazer mais benefícios aos pacientes (RUSSO, 2011; PAMPLONA et al., 2018).

Por estar envolvido na modulação de diversas funções orgânicas, o SEC tem demonstrado vasto potencial de exploração terapêutica (BACKES, 2014). Acredita-se que variações nos níveis de endocanabinoides e/ou na expressão de RCs – conceito conhecido como alteração do tono endocanabinoide - possam gerar disfunções ou compreendam mecanismo de resposta orgânica a injúrias. Baixos níveis de endocanabinoides ou sub-expressão de RCs poderiam participar da patofisiologia de algumas doenças – princípio que compreende a teoria da deficiência clínica de endocanabinoides (RUSSO, 2008). De fato, isto foi demonstrado em pacientes humanos com enxaqueca, fibromialgia, síndrome da bexiga dolorosa e desordem de estresse pós-traumático. Apesar de haver evidências de que o aumento do tono endocanabinoide também possa estar relacionado a condições orgânicas desfavoráveis (LEWEKE et al., 1999; PERTWEE, 2005; DI MARZO, 2008), predomina até o momento a hipótese de que, por se tratar de um sistema voltado para modulação de funções e manutenção da homeostase, com síntese de ligantes por demanda, o aumento na atividade do SEC tem caráter preponderantemente compensatório em busca do estado de homeostase frente a uma condição patológica prévia (TOCZEK e MALINOWSKA, 2018).

Somente recentemente o uso medicinal da *Cannabis* passou a ser amplamente conhecido. Apesar de haver evidências científicas de sua ação terapêutica desde décadas

atrás, relatos anedóticos de pais de crianças com doenças crônicas até então não controladas – principalmente epilepsias refratárias - que trocavam informações em fóruns na internet foram os responsáveis pela disseminação dessas terapias. Criou-se um movimento crescente de uso da *Cannabis* para tratamento de seus filhos, e os bons resultados reportados favoreceram a popularização do emprego empírico da planta no tratamento de doenças (MAA e FIGI, 2014) e, subsequentemente, o *boom* de pesquisas científicas envolvendo seu uso medicinal (PORTER e JACOBSON, 2013).

Atualmente, estão bem estabelecidas as propriedades anti-inflamatória, antiemética, antiepiléptica, antiespasmódica, antinociceptiva e anti-psicótica da *Cannabis* (NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE, 2017). Há bom nível de evidência científica de seus efeitos benéficos no tratamento de pacientes humanos com neuropatia pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (PHILLIPS et al., 2010), dor crônica, náusea, vômito e anorexia induzidos por quimioterapia, espasmos em pacientes com esclerose múltipla, transtornos do espectro autista (NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE, 2017), além de algumas síndromes epiléticas refratárias – doença em que se tem até agora maior nível de evidência de benefício do uso medicinal da planta: classe I – condições para as quais há evidências conclusivas ou consenso geral de que o procedimento é eficaz (DEVINSKY et al., 2017; DEVINSKY et al., 2018b; ARZIMANOGLU et al., 2020).

## **1.2 EMPREGO MEDICINAL DA CANNABIS EM CÃES**

A utilização medicinal da *Cannabis* nos animais é área de interesse crescente nos últimos anos, sobretudo por conta da ampla veiculação na mídia de casos de aparente sucesso na medicina humana (HARTSEL et al., 2019).

Até pouco tempo, o conhecimento a respeito da utilização de canabinoides na medicina veterinária era praticamente restrito a experimentos focados em avaliações de toxicidade ou estudos pré-clínicos em animais de laboratório voltados para a medicina humana (GYLES, 2016). Atualmente diversos estudos clínicos avaliando segurança e possíveis efeitos terapêuticos desses compostos em animais encontram-se em andamento (HARTSEL et al., 2019). No entanto, pouco ainda se sabe sobre o potencial de utilização medicinal da *Cannabis* nas diferentes espécies, doses e composições indicadas e os riscos associados a longo prazo. Ainda assim, esse tipo de terapia vem sendo realizada em cães

e gatos há alguns anos, muitas vezes por iniciativa de seus tutores, sem prescrição ou acompanhamento médico veterinário (NOLEN, 2013). Pesquisa realizada com 632 pessoas que acessaram sites americanos de comércio de produtos derivados da *Cannabis* destinados a *pets* demonstrou que mais de 50% ofereciam esses compostos a seus cães diagnosticados com epilepsias, câncer, ansiedade e artrite. Destes, mais de 90% relataram percepção de que o CBD havia gerado resposta terapêutica semelhante ou superior a tratamentos previamente utilizados em seus animais (KOGAN et al., 2016). Em outro estudo, as principais motivações informadas para utilização medicinal da *Cannabis* em mais de 1000 cães foram: alívio de dor, redução de ansiedade, modulação de inflamação, controle de crises epiléticas, auxílio no tratamento de câncer, artrite e alergias (KOGAN et al., 2018). Há relatos individuais de percepção de benefícios em redução de ansiedade, controle de dor, redução no tamanho de tumores, melhora de apetite, auxílio no manejo de diabetes, modulação de inflamação, melhora de função gastrointestinal e controle de crises epiléticas em cães e gatos (HARTSEL et al., 2019).

Sabe-se que praticamente todos os vertebrados apresentam sistema endocanabinoide (MACK e JOY, 2001). MECHOULAM et al. (1995) descreveram o isolamento do endocanabinoide 2-AG no intestino de cães e sua capacidade de se ligar a receptores CB1 e CB2 *in vitro*. Outro estudo observou aumento dos níveis séricos de anandamida em cães e seres humanos após realização de exercício físico de alta intensidade (RAICHLIN et al., 2011). FREUNDT-REVILLA et al. (2017) identificaram receptores CB1 com sequência de nucleotídeos semelhante as de outras espécies de mamíferos plenamente distribuídos no SNC (encéfalo e medula espinhal) e periférico de cães com idade entre quatro semanas e dez anos. Além disso, glândulas salivares, epitélio intestinal, folículos pilosos e pele também apresentam estes receptores (DALL'AGLIO et al. 2010; CAMPORA et al. 2012; MERCATI et al. 2012; GALIAZZO et al., 2018). PIRONE et al. (2015) demonstraram que embriões de cães com 30 dias de idade gestacional já apresentam receptores CB1 em tecidos epiteliais, SNC, SNP, olhos e tireóide. Já os RCs CB2 de cães apresentam estrutura divergente em relação aos mesmos receptores de ratos e seres humanos (NDONG et al., 2011), tendo sido detectados na pele, glândulas sebáceas, mastócitos, fibroblastos, baço, linfonodos (GALIAZZO et al., 2018; HARTSEL et al., 2019), células de Schwann e células do endotélio dos gânglios cervicais (CHIOCCHETTI et al., 2019).

Acredita-se que possa haver alteração do tono endocanabinoide em algumas condições em cães, assim como foi descrito em seres humanos. Foi demonstrado aumento

da expressão de receptores CB1 e CB2 (CAMPORA et al., 2012) e elevação nos níveis do canabimimético PEA (ABRAMO et al., 2014) na pele de cães com dermatite atópica, nível de anandamida aumentado no líquido cerebrospinal de cães com epilepsia idiopática - o que foi ainda mais significativo naqueles com doença crônica e histórico de crises severas ou frequentes (GESELL et al., 2013), aumento nos níveis de 2-AG e do canabimimético OEA no líquido sinovial em articulação do joelho com alterações degenerativas em cães (VALASTRO et al., 2017), elevação na expressão de receptores CB2 em astrócitos da medula espinhal de cães com mielopatia degenerativa (FERNANDÉZ-TRAPERO et al., 2017), variações nas concentrações de anandamida e 2-AG no soro e líquido cerebrospinal de cães com meningite arterite responsiva a esteroides e espirocercose intraespinhal (FREUNDT-REVILLA, 2018). Os autores sugeriram que o aumento do tono endocanabinoide nesses cães tivesse caráter compensatório na tentativa de combater a progressão da inflamação na dermatite atópica, reduzir a excitação neuronal excessiva que predispõe a ocorrência de crises epiléticas na epilepsia idiopática, conter os mecanismos relacionados a degeneração articular na osteoartrite, reduzir a neurodegeneração e manter homeostase e integridade neuronal na mielopatia degenerativa, controlar mecanismos de inflamação e neurodegeneração na meningite arterite responsiva a esteróides e na espirocercose intraespinhal. Dessa forma, a manipulação terapêutica do sistema endocanabinoide poderia ser benéfica no tratamento de cães acometidos por essas doenças.

### **1.2.1 ESTUDOS CLÍNICOS E RELATOS DE CASO**

CBD foi a principal substância envolvida nos estudos e relatos de caso envolvendo emprego clínico de derivados de *Cannabis* em cães. Tais compostos foram utilizados principalmente para tratamento de epilepsias e osteoartrite (GAMBLE et al., 2018; DE ÁLAVA, 2019; MCGRATH et al., 2019; MOGI e FUKUYAMA, 2019; VERRICO et al., 2020).

Há referência ao emprego de canabinoides ácidos (THCA e CBDA) na medicina veterinária com ação antibiótica há mais de 50 anos (MECHOULAM, 2005). Em estudo realizado ainda na década de 70, observou-se redução de comportamentos indicativos de dor com a utilização de THC em cães com exposição de pulpa dentária (KAYMAKGALAN et al., 1974). RE et al. (2007) chamaram atenção para o potencial

terapêutico do PEA na medicina veterinária. Trata-se de substância imunorregulatória, que reduz liberação de mediadores inflamatórios e parece influenciar mecanismos de inflamação, prurido e dor. De fato, CERRATO et al. (2012) observaram redução da resposta inflamatória alérgica de cães hipersensíveis a *Ascaris* tratados com PEA por via oral e posteriormente desafiados com injeções intradermais de alérgenos.

Para avaliação do CBD no tratamento de osteoartrite, GAMBLE et al. (2018) conduziram estudo clínico controlado duplo cego com 16 cães acometidos pela doença tratados com a substância. Todos os animais foram submetidos a dois protocolos de tratamento: 2 mg/kg de óleo de CBD e placebo (óleo de oliva). Cada tratamento foi mantido por quatro semanas, com intervalo de *wash out* de duas semanas. Quando tratados com CBD, os animais exibiram redução dos scores de dor e aumento do nível de atividade com diferença estatisticamente significativa em relação ao tratamento placebo. DE ÁLAVA (2019) descreveu relato de caso de cão com osteoartrite crônica tratado com 1 mg/kg de CBD por VO a cada 12 horas durante 30 dias. A partir de questionários respondidos pela tutora para avaliar dor e qualidade de vida do animal, observou-se efeito analgésico com consequente melhora da mobilidade e qualidade de vida do cão após terapia. Após constatação do efeito anti-inflamatório do CBD *in vitro* e em roedores, VERRICO et al. (2020) conduziram estudo controlado duplo-cego randomizado para avaliação do efeito do emprego de duas formulações distintas, administradas por via oral por quatro semanas em 20 cães com osteoartrite. Notou-se melhora significativa da dor e mobilidade dos animais sem qualquer evidência clínica ou laboratorial de toxicidade.

Quanto a utilização do composto no tratamento de epilepsias, MCGRATH et al. (2019) avaliaram o potencial do CBD a curto prazo no tratamento de cães epiléticos por meio de estudo controlado duplo cego randomizado. Neste, os 17 animais foram aleatoriamente divididos em dois protocolos de tratamento, que se deram em associação a terapia antiepilética prévia (fenobarbital, brometo de potássio, levetiracetam e/ou zonisamida) durante 12 semanas: 2,5 mg/kg de CBD por VO a cada 12 horas (9 animais) ou placebo constituído por óleo de diluição livre de CBD administrado por VO a cada 12 horas (8 animais). Três dos cães tratados com CBD foram excluídos deste estudo por apresentação de efeitos colaterais e necessidade de descontinuação da terapia. Dois cães de cada grupo apresentaram redução de mais de 50% na frequência de crises epiléticas. A mediana de frequência de crises epiléticas do grupo tratado com CBD apresentou redução estatisticamente superior em relação ao grupo placebo. Ainda, nos animais que receberam CBD, a redução na frequência de crises epiléticas foi diretamente

proporcional à concentração sérica da substância. Já MOGI e FUKUYAMA (2019) descreveram relato de caso de três cães com histórico de episódios semelhantes a crises epiléticas tratados com produto derivado de *Cannabis full spectrum* em diferentes protocolos (dose de CBD de 0,51 mg/kg em um deles, 1,24 – 1,25 mg/kg no outro e 5,00 mg/kg no terceiro, ambos a cada 12 horas) por oito semanas. Os tutores referiram redução considerável da frequência de crises epiléticas e melhora de outros sintomas como comportamentos indesejáveis em um dos cães, melhora discreta das crises em outro e ausência de resposta a terapia no terceiro.

### **1.2.2 TOXICOLOGIA, SEGURANÇA E FARMACOLOGIA**

Diante da crescente popularização dos tratamentos com canabinoides é importante conhecer os riscos relacionados ao emprego dessas terapias em cães. A ausência de controle oficial sobre os produtos comercializados e de previsão legal da prescrição dos mesmos são alguns deles.

No Reino Unido, os derivados da *Cannabis* para uso em humanos ou animais são considerados medicamentos, devendo ser fiscalizados como tal. Porém, nenhum produto veterinário disponível no mercado local foi até agora aprovado nos testes das agências regulatórias. Assim, médicos veterinários da região são autorizados a prescrever os compostos humanos validados (WESSMANN et al., 2021).

No Brasil observa-se um limbo na regulação de produtos derivados da *Cannabis* no setor veterinário (APPLE, 2020). Diante da demanda crescente dos tutores, importante farmácia de manipulação de produtos veterinários nacional identificou essa lacuna na legislação e passou a disponibilizar CBD manipulado para utilização em animais. Porém a ausência de previsão de procedimentos de fiscalização, comercialização e prescrição médica veterinária dos derivados da *Cannabis* pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) impede até o momento atual a comercialização deste produto. Não há, por outro lado, posicionamento oficial desses órgãos no sentido de proibição à prescrição desses tratamentos por médicos veterinários. Assim, é crescente o número de profissionais médicos veterinários prescritores de tratamentos com canabinoides em animais, se respaldando na ausência de proibição oficial pelo MAPA ou CFMV. Já nos Estados Unidos, onde o mercado de extratos de *Cannabis* destinados a *pets* mobiliza milhões de



dólares anuais, não há aprovação da prescrição dessas substâncias por médicos veterinários (NOLEN, 2019) e nem diretrizes claras de regulação desses produtos (PRINOLD, 2019). Os compostos não são considerados medicamentos mas sim suplementos alimentares, o que atualmente não proíbe sua comercialização porém exige a *Food and Drug Administration* (FDA) de responsabilidade de fiscalização (FDA, 2020). Como consequência não há garantia de qualidade desse tipo de produto, sendo ele derivado ou não de *Cannabis*, indicado para uso em seres humanos ou animais (GIL et al., 2016; PAVLOVUC et al., 2018).

RABER et al. (2015) avaliaram a composição de 57 concentrados da planta vendidos na Califórnia e observaram que mais de 80% das amostras apresentavam contaminação por solventes residuais ou pesticidas, além de haver incompatibilidade entre os níveis de canabinoides encontrados e os níveis previstos no rótulo. DE AGUIAR (2018) analisou extratos de *Cannabis* nacionais e importados, artesanais e industrializados, utilizados por pacientes humanos com epilepsias refratárias no Brasil. O autor referiu importante incongruência entre as informações descritas nos rótulos e a verdadeira composição dos produtos. Mais recentemente, WAKSHLAG et al. (2020) avaliaram os níveis de fitocanabinoides, terpenos e metais pesados de 29 extratos de *Cannabis* anunciados como suplementos para uso em cães. Destes, apenas 18 seriam aprovados segundo as diretrizes da FDA. Nos demais, os níveis de fitocanabinoides foram bastante variáveis e foi detectada contaminação por metais pesados em quatro deles.

Outro fator relevante é a potencial toxicidade dos fitocanabinoides para os cães e ausência de antídoto para as intoxicações. Segundo BRUTLAG e HOMMERDING (2018), apesar de as intoxicações por *Cannabis* serem mais comuns com a ingestão inadvertida da planta ou produtos comestíveis, preparações destinadas ao uso medicinal podem estar relacionadas com até 9% dos casos de intoxicação por canabinoides em *pets*. A Associação Americana de Combate a Crueldade Animal (ASPCA) registrou 1486 casos de intoxicação por produtos derivados da *Cannabis* em cães e gatos no ano de 2017. Nestes, 97% das formulações envolvidas continham THC isolado ou associado ao CBD, 3% continham CBD isolado e 2% eram produtos destinados a *pets* (alguns utilizados em overdose e outros na dose sugerida pela empresa). Ainda que os casos tenham sido mais frequentes envolvendo produtos que continham THC, os sinais de intoxicação foram semelhantes com a exposição a isolados de CBD e compostos de THC (POWERS E GOLAB, 2018).

Estudos clínicos em seres humanos e animais demonstraram, até agora, que o uso do CBD é relativamente seguro (MCGRATH et al., 2018; WHO, 2018; DEABOLD et al., 2019; FDA, 2019; VAUGHN et al., 2020). Quanto ao THC, quando comparados a seres humanos, os cães apresentam maior densidade de receptores CB1 no rombencéfalo, região embriológica compreendida pelas estruturas do tronco encefálico ponte e medula oblonga e pelo cerebelo (HERKENHAM et al., 1990). Isso os torna mais susceptíveis a apresentar os efeitos tóxicos da substância (FITZGERALD et al., 2013). Os produtos envolvidos nas intoxicações registradas pela ASPCA não foram analisados quanto a sua composição (POWERS e GOLAB, 2018). É possível que as formulações comercializadas como isolados de CBD pudessem apresentar também níveis importantes de THC, que teria sido responsável pela sintomatologia apresentada. VAUGHN et al. (2020) observaram menor tolerabilidade a produtos contendo THC em relação às formulações de CBD isolado em cães, enquanto FERNANDÉZ-TRAPERO et al. (2020) não relataram alterações clínicas ou laboratoriais importantes com a utilização de produto comercial contendo ambos os fitocanabinoides. Os extratos de *Cannabis* artesanais disponíveis no mercado nacional analisados por DE AGUIAR (2018) apresentaram níveis mais elevados de THC quando comparados aos produtos industrializados. Tais compostos teriam, então, maior potencial de toxicidade se utilizados em cães.

A toxicidade por *Cannabis* em cães geralmente se manifesta até 60 minutos após contato por ingestão ou inalação (FITZGERALD et al., 2013). A sintomatologia é variada e multissistêmica, possivelmente por conta das diferentes composições dos produtos envolvidos e da ação diversa do sistema endocanabinoide no organismo (NOBLE et al., 2019). São descritos principalmente sinais neurológicos, gastrointestinais e cardiovasculares. O sinal mais frequente parece ser incontinência urinária. Trata-se de condição relativamente rara em outras intoxicações (BRUTLAG e HOMMERDING, 2018), que é observada em aproximadamente 50% dos animais intoxicados pela planta (BISCHOFF, 2018) e tem mecanismo ainda não elucidado para a espécie (MARTIN et al., 2000). Além disso, ataxia provavelmente associada a ativação de receptores CB1 no cerebelo (SILVER, 2019) é um sinal clássico descrito há mais de um século em cães expostos a *Cannabis* (DIXON, 1899). Referem-se também depressão do nível de consciência, letargia ou agitação, alterações comportamentais, vocalização, tremores, vômito, diarreia, hiperreatividade a estímulos ambientais, midríase, hiperestesia, sialorréia, hipotensão, taquicardia ou bradicardia, polifagia (BATES, 2020), e hipotermia, que parece ser diretamente proporcional a dose ingerida (THOMPSON et al, 1973).

Menos de 5% dos mais de 1000 tutores entrevistados por KOGAN et al. (2018) relataram ter percebido qualquer alteração clínica com o uso medicinal de extratos de *Cannabis* em seus *pets*. Para esses, os sinais mais frequentes foram sedação, xerostomia e polidipsia. Estudos clínicos ou relatos de caso que avaliaram potencial toxicidade, farmacocinética e efeitos terapêuticos do CBD em cães não referiram observação de efeitos colaterais (VERRICO et al., 2020), ou relataram alterações leves sem repercussão clínica importante. Foram citados como efeitos colaterais principalmente diarreia não relacionada a dose utilizada (MCGRATH et al. 2018; DEABOLD et al., 2020) e aumento dose dependente da atividade sérica da enzima fosfatase alcalina (FA) (GAMBLE et al., 2018; MCGRATH et al. 2018; DE ÁLAVA, 2019; MCGRATH et al. 2019). Quanto a terapias envolvendo também o THC, FERNANDÉZ-TRAPERO et al. (2020) não observaram alterações clínicas relevantes em cães com a utilização de produto comercial contendo associação de ambos os fitocanabinoides, enquanto VAUGHN et al. (2020) referiram observação de efeitos colaterais mais intensos (letargia, hiperestesia, hipotermia, tremores, ataxia) nos animais tratados com formulações que continham THC (isolado ou associado ao CBD) em relação aos que receberam CBD isolado.

As doses máximas consideradas seguras em cães após única administração foram de aproximadamente 60 mg/kg de CBD em formulação de óleo de *Cannabis* predominante em CBD, 19 mg/kg de THC em formulação de óleo de *Cannabis* predominante em THC, 8 mg/kg de CBD + 6 mg/kg de THC em óleo com proporção de uma e meia partes de CBD para uma parte de THC (VAUGHN et al., 2020). Já MCGRATH et al. (2018) indicaram que a utilização de 20 mg/kg/dia de CBD isolado por seis semanas foi segura em cães.

Há poucos registros de óbitos após intoxicação por *Cannabis* em animais, sendo considerada uma condição clínica de bom prognóstico contanto que não haja complicações como pneumonia por aspiração ou ingestão associada de outras substâncias potencialmente tóxicas para a espécie como chocolate, álcool ou xilitol (DONALDSON, 2002; BATES, 2020). DL50 (dose letal média) do THC administrado por via oral em cães parece ser superior a 3000 mg/kg (THOMPSON et al., 1973). Ainda não há dados relativos a DL50 do CBD utilizado por via oral em cães. Quando administrada por via intravenosa, a substância apresentou DL50 superior a 254 mg/kg (LOEWE, 1946) na espécie. JANCZYK et al. (2004) descreveram 213 casos de intoxicação pela planta em pequenos animais com 100% de recuperação, a maioria tendo ocorrido em 24 horas. Já CULLER E VIGANI (2018) descreveram relato de caso de cão que apresentou *status*

*epilepticus* refratário ao tratamento convencional relacionado a exposição recente a *Cannabis*, tendo apresentado melhora somente com utilização de terapia extracorporea. O emprego de canabinoides sintéticos comercializados de maneira ilegal nos Estados Unidos está associado a cursos clínicos mais graves com pior prognóstico nos cães (KELMER et al., 2017), sendo contra-indicado (BRUTLAG e HOMMERDING, 2018).

Os fitocannabinoides apresentam natureza altamente lipofílica. Por isso, suas preparações são frequentemente administradas em formulações oleosas (ZGAIER et al., 2016). Os produtos derivados da *Cannabis* destinados a *pets* têm como principais apresentações veículo oleoso/”tintura”, gel/creme transdérmico, biscoito, comprimido mastigável, emulsão oral e cápsula (CANNACOMPANION®; GREEN GORILLA®). Quanto a este fator, BARTNER et al. (2018) e MCGRATH et al. (2018) observaram melhor perfil farmacocinético do CBD administrado por via oral em óleo em relação a cápsula e creme transdermal (maiores níveis séricos com menor variação interindividual), enquanto DEABOLD et al. (2019) referiram concentração sérica mais elevada em cães tratados com comprimidos mastigáveis em relação àquela relatada por GAMBLE et al. (2018) com o emprego da mesma dosagem em veículo oleoso, e VERRICO et al. (2020) relataram melhora da dor e mobilidade com a utilização de doses inferiores de formulação lipossomal de CBD em relação ao óleo “livre”.

Há relatos de utilização de derivados da *Cannabis* na medicina humana por vias oral, inalatória (por combustão ou vaporização), retal, transdermal, orotransmucosa (por via sublingual, por exemplo) e intranasal (BRUNI et al., 2018). As aplicações por via intravenosa foram descritas de maneira experimental em seres humanos e espécies animais (ENGLUND et al., 2012). Em cães, a farmacocinética de compostos canabinoides foi avaliada em estudos que envolveram administração de diferentes doses de THC ou CBD por vias oral, transdérmica, intravenosa e sublingual (SAMARA et al., 1988; BARTNER et al., 2018; GAMBLE et al., 2018; GREB E PUSCHNER, 2018; DEBOLD et al., 2019; FERNANDÉZ-TRAPERO et al., 2020). A maioria dos compostos derivados da *Cannabis* destinados a cães deve ser administrada por via oral, visando principalmente a praticidade para o tutor. Nessa via de administração, a absorção parece ser o componente de maior limitação, sendo influenciada principalmente por aspectos relacionados ao produto (características do veículo como lipofilicidade, acidez e etc), integridade do tecido gastrointestinal e volume administrado (DEABOLD et al., 2019). Foi demonstrado que a presença de alimento pode interferir na farmacocinética dos produtos em cães retardando/ antecipando a fase de absorção e reduzindo/potencializando

a concentração plasmática de fitocanabinoides (LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA et al., 2019; CHICOINE et al., 2020; BOOTHE et al., 2020). Além da absorção gastrointestinal, infusões oleosas podem apresentar absorção transmucosa na cavidade oral (HARTSEL et al., 2019). Acredita-se que o CBD possa apresentar absorção mais lenta que o THC quando administrados por via oral (VAUGHN et al., 2020). A baixa solubilidade em água dos fitocanabinoides pode limitar sua absorção gastrointestinal (SAMARA et al., 1988). A inalação desses compostos parece permitir melhor titulação de dose (por dose e efeito) por seu rápido início de ação e maior biodisponibilidade nas diferentes espécies (RUSSO, 2016). No entanto, tal via de administração parece demonstrar pouca aplicabilidade clínica no cães (HARTSEL et al., 2019).

CBD e THC apresentam propriedades farmacocinéticas semelhantes, provavelmente devido à similaridade de suas estruturas (GRED e PUSCHNER, 2018). As substâncias apresentaram baixa biodisponibilidade após administração oral, sendo relatados níveis de inferiores a 19% em cães (SAMARA et al., 1988; GAMBLE et al., 2018) e seres humanos (MCGILVERAY, 2005). Quando aplicadas por essa via, as substâncias passam por intenso metabolismo de primeira passagem. A administração intravenosa do CBD demonstrou maior biodisponibilidade em relação a via oral, provavelmente por evitar tal efeito de primeira passagem (SAMARA et al., 1988). Seu metabolismo hepático no cão e em outras espécies envolve mecanismos de fase 1 (com participação de diversas subfamílias do citocromo p450, especialmente CYP2C9, CYP2C19 e CYP3A4) e fase 2 (HARVEY et al., 1991). São formadas substâncias ativas e inativas que parecem diferir entre as espécies e ter relevância clínica ainda não esclarecida (MCGILVERAY, 2005; UJVARY e HANUS, 2016; GREB e PUSCHNER, 2018). Há evidência de que THC e CBD geram inibição da atividade de diversas famílias de enzimas do citocromo p450 hepático em seres humanos (YAMAORI et al., 2012). Assim, a associação de fitocanabinoides a terapias prévias pode resultar em interação medicamentosa com aumento nos níveis séricos de outras substâncias metabolizados pelo fígado (ANDERSON et al., 2019). GAMBLE et al. (2019) não observaram alteração nos níveis séricos dos fármacos antiepilépticos fenobarbital e brometo de potássio com a co-administração de CBD em cães epiléticos. Ainda assim, HARTSEL et al. (2019) recomendaram realização de mensuração sérica dessas drogas após as duas primeiras semanas de tratamento com o CBD na espécie.

CBD atingiu pico plasmático aproximadamente a partir de uma hora e meia da administração oral em veículo oleoso em cães, com níveis séricos variáveis entre 100 e

600 ng/mL com a utilização de doses entre 2 e 10 mg/kg (BARTNER et al., 2018; GAMBLE et al., 2018; DEABOLD et al., 2019). FERNANDÉZ-TRAPERO et al. (2020) relataram pico plasmático de THC e CBD duas horas após administração sublingual de dose única de composto contendo ambos os fitocanabinoides em cães e de uma hora após utilização de doses diárias por 14 dias consecutivos, administradas pela mesma via nos mesmos animais. Diferenças individuais quanto a absorção, metabolismo e distribuição podem contribuir para a variação nos níveis séricos observados em cães submetidos a mesmos protocolos de tratamento com fitocanabinoides (BARTNER et al., 2018; LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA et al., 2019; MCGRATH et al., 2019; VAUGHN et al., 2020). Por sua intensa lipofilicidade, THC e CBD apresentaram alto índice de ligação a proteínas plasmáticas (HUESTIS, 2007; DEVINSKY et al., 2014), rápida distribuição tecidual e boa passagem pela barreira hematoencefálica (SHARMA et al., 2012). Além disso, demonstraram intenso armazenamento e acumulação em tecido adiposo, hepático, pulmonar, esplênico, encefálico e muscular (BRUNET et al., 2006), com posterior liberação continuada após redução de seus níveis séricos (HARTSEL et al., 2019). As substâncias parecem atingir estado de equilíbrio farmacológico com tratamento contínuo (FERNANDÉZ-TRAPERO et al., 2020) ou utilização de altas doses em curto período (terapia de ataque) (VAUGHN et al., 2020).

A eliminação desses compostos se dá preferencialmente por via fecal (com excreção biliar) e, em menor nível, renal, podendo haver recirculação enterohepática (GARRETT e HUNT, 1977; BRUTLAG e HOMMERDING, 2018). Os metabólitos urinários de CBD e THC em cães diferiram daqueles identificados em seres humanos (SAMARA et al., 1990; FRASER, 1998; TEITLER, 2009). VAUGHN et al. (2020) foram capazes de detectar níveis séricos de CBD e THC até uma semana após descontinuação dos tratamentos com as substâncias em cães.

Quando comparado ao CBD, THC exibiu maior biodisponibilidade (CHICOINE et al., 2020) e meia-vida plasmática mais longa (30 horas) após administração oral em cães (FITZGERALD et al., 2013). Sugere-se que a administração de compostos contendo CBD com finalidade terapêutica em cães deve se dar, no mínimo, a cada 12 horas devido a meia-vida plasmática mais curta da substância, entre uma e cinco horas (BARTNER et al., 2018; GAMBLE et al., 2018; DEABOLD et al., 2019; CHICOINE et al., 2020). A associação de THC ao CBD pode tornar necessária a utilização de doses mais baixas (por seus efeitos intoxicantes) (VAUGHN et al., 2020), assim como de maiores intervalos de administração (por sua meia-vida mais longa).

### 1.3 EPILEPSIAS EM CÃES

As epilepsias são um conjunto de desordens crônicas cerebrais caracterizadas por predisposição a apresentar crises epiléticas espontâneas e recorrentes (CHANDLER, 2006). Trata-se do distúrbio neurológico crônico mais frequente em cães (GALUCCI et al., 2017), com incidência estimada de 0,75% na espécie (HESKE et al., 2014). Segundo Consensos Internacionais de Epilepsia Humana e Veterinária, considera-se epilético o paciente que tenha apresentado pelo menos duas crises epiléticas não-reativas – ou seja: descartados fatores desencadeantes de origem tóxica ou metabólica - intervaladas em, no mínimo, 24 horas (MARIANI et al., 2013; BERENDT et al., 2015; FISHER et al., 2017).

As epilepsias caninas podem ser classificadas em idiopáticas ou estruturais quanto a sua origem etiológica (BERENDT et al., 2015). Nas epilepsias idiopáticas alterações genéticas são consideradas as prováveis causas da doença quando se tem confirmação por análises genéticas, histórico familiar ou incidência racial superior a 2% (HULSMEYER et al., 2015). Além disso, ainda que não haja indício de herança genética pode-se estabelecer diagnóstico de epilepsias idiopáticas de origem desconhecida após exclusão de possíveis causas estruturais, metabólicas ou tóxicas (MARIANI, 2013). Já as epilepsias estruturais, de menor prevalência em cães (HALL et al, 2020), são aquelas em que a presença de lesão cerebral, principalmente de origem degenerativa, anômala, infecciosa, inflamatória, neoplásica, traumática ou vascular confirmada por exames complementares, é responsável por gerar crises epiléticas recorrentes e déficits neurológicos (BERENDT et al., 2015).

As crises epiléticas ocorrem em decorrência de alteração na atividade elétrica cerebral por excitação anormal e/ou ativação sincronizada de neurônios (DE RISIO e PLATT, 2014). Nas crises epiléticas focais os neurônios acometidos se localizam em um foco específico limitado em um dos hemisférios cerebrais, enquanto nas crises epiléticas generalizadas o estímulo epilético é difusamente distribuído pelo parênquima cerebral em ambos os hemisférios. Há ainda crises de início focal que evoluem para generalização, o que parece ser a apresentação mais comum em cães (BERENDT e GRAM, 1999; BERENDT et al., 2002; PATTERSON et al., 2003; HULSMEYER et al., 2010; FREDSON et al., 2017). A distinção entre crises epiléticas simples ou complexas de acordo com o nível de consciência não é mais indicada na medicina veterinária (BERENDT et al., 2015).

De maneira geral, os eventos podem se apresentar como sinais paroxísticos e estereotipados de duração de segundos a poucos minutos, com manifestação motora, autonômica ou comportamental, focal ou generalizada, que podem ser precedidos por sinais pré-ictais e seguidos por sinais pós-ictais (BERENDT e GRAM, 1999 ; BERENDT et al., 2015). Síncope, distúrbios do sono REM, narcolepsia/cataplexia, fraqueza neuromuscular, colapso metabólico, alteração vestibular, desordem do movimento, tremor, dor e alterações comportamentais também podem se apresentar como eventos episódicos e, por isso, são considerados diferenciais ou imitadores de crises epiléticas em cães (DE RISIO et al., 2015).

Quanto ao diagnóstico, o primeiro passo na abordagem de cão com histórico de alteração transitória deve ser tentar determinar se o evento provavelmente teve ou não origem epilética, o que nem sempre é tarefa simples (especialmente para as crises focais) (DE RISIO e PLATT, 2014). A observação de descargas epileptiformes no eletroencefalograma (EEG) é considerada o padrão ouro no diagnóstico de crises epiléticas na medicina humana (SMITH, 2005) e veterinária (DE RISIO et al., 2015). Há, no entanto, dificuldades práticas na realização e interpretação desse exame em cães, além de uma aparente menor sensibilidade na detecção dos marcadores eletrográficos de crises epiléticas na espécie (BRAUER et al., 2012; KURAL, 2020). Assim, o diagnóstico acaba sendo clínico, baseado na filmagem dos episódios ou, na impossibilidade do registro, na descrição detalhada dos eventos pelos tutores (MUÑANA et al., 2020). Para tanto, é necessário conhecer as principais características clínicas das crises epiléticas em cães e de seus diferenciais e levantar informações relevantes no histórico e anamnese como: estado clínico do animal entre os eventos, presença de fator precipitante ou de alteração que anteceda ou suceda os episódios, descrição completa dos eventos principalmente quanto ao nível de consciência, sinais autonômicos, tônus muscular, duração e simetria dos sinais (DE RISIO e PLATT, 2014) (Quadro 1). Segundo PACKER et al., (2015), diagnóstico e classificação de crises epiléticas em cães podem estar relacionados a baixos níveis de concordância mesmo entre médicos veterinários especializados em neurologia.

**Quadro 1 - Apresentações clássicas de crises epiléticas e de seus diferenciais em cães (Adaptado de DE RISIO et al., 2015)**



Parâmetro clínico	Crise epiléptica	Outros eventos
-------------------	------------------	----------------

<p>Descrição do evento</p>	<p>Apresentação clínica variável de acordo com a região cerebral envolvida e extensão do foco epileptogênico (crise epiléptica focal ou generalizada).  Pode ser precedida por alterações pré-ictais e seguida por alterações pós-ictais.  Início agudo de sinais motores, autonômicos e/ou comportamentais que podem ser estereotipados. Pode ou não haver perda da consciência, porém nas crises generalizadas geralmente há algum nível de alteração de consciência. O envolvimento de musculatura orofacial é bastante frequente.  Duração média de segundos a 2-3 minutos.</p>	<p>Síncope e colapso metabólico: colapso agudo e súbito, geralmente com redução de tônus postural e perda de consciência, recuperação rápida ao estado normal, podendo ou não haver cianose, micção/defecação e tremores (síncope convulsiva).  Frequentemente relacionados a exercício.  Distúrbios do sono REM: manifestações não usuais como movimentos bruscos, vocalização, mastigação, mordeduras durante o sono que cessam com o despertar.  Narcolepsia/cataplexia: colapso súbito com perda de tônus postural e de consciência, de duração breve (segundos a minutos), precedido por agitação, brincadeira, alimentação.  Fraqueza neuromuscular: colapso súbito relacionado a exercício, que melhora com descanso e é precedido por andar rígido ou passadas curtas. Altrações geralmente têm início em membros pélvicos, evoluindo para membros torácicos e musculatura cervical (ventroflexão do pescoço).  Alteração vestibular aguda: Início agudo de <i>Head tilt</i>, nistagmo,</p>
----------------------------	---	---

		<p>desequilíbrio, ataxia vestibular, quedas, andar em círculos. Pode ter duração breve.</p> <p>Desordem do movimento, Tremor: distonia, coréia, balismo, atetose, tremores de cabeça (direção horizontal ou vertical), alterações posturais, incapacidade em se manter de pé ou deambular. Pode durar minutos a horas. Em alguns casos o tutor é capaz de interromper o episódio (por exemplo oferecendo alimento ou brinquedo durante o evento em cães com tremor de cabeça idiopático).</p> <p>Dor: apresentação aguda de vocalização, sialorréia, midríase, tremores, fasciculações musculares, postura antálgica, lambertura excessiva, agressividade, “corridas pela casa”. Duração de minutos a horas. O animal pode urinar ou defecar durante o episódio.</p> <p>Alteração comportamental: andar compulsivo, vocalização, lambertura excessiva, aparentes alucinações ou perseguição de objetos imaginários ou da cauda, mastigação. Podem durar minutos a horas e podem ser precedidos por situações estressantes.</p>
--	--	--

<p>Estado clínico entre os eventos</p>	<p>Normal em epilepsias idiopáticas, histórico de sinais clínicos de síndromes cerebrais nas epilepsias estruturais ou normal ou presença de sinais sistêmicos em crises epiléticas reativas (alterações metabólicas ou intoxicações).</p>	<p>Síncope:normal ou presença de alterações sugestivas de alteração cardiovascular (cianose, tosse, intolerância à exercício, dispnéia e etc)</p> <p>Dístrbios do sono REM, Narcolepsia/cataplexia, Desordem do movimento, Tremores: normal</p> <p>Alteração vestibular aguda: normal ou persistência de sinais sutis de desordem vestibular (<i>head tilt</i>, nistagmo e etc)</p> <p>Fraqueza neuromuscular: normal ou resistência à exercício, paresia, hipotrofia, dor muscular, redução de reflexos espinhais, disfagia, regurgitação, disфонia, dispnéia.</p> <p>Colapso metabólico: normal ou sinais sugestivos de alteração metabólica (perda de peso, prostração, mucosas hipocoradas, fraqueza, etc)</p> <p>Dor: normal ou manifestação de dor sutil ou evidente (resistência à manipulação, dor à palpação, agressividade, vocalização, agitação, prostração, estresse, postura antálgica, comportamento antisocial, tremores,taquipnéia/taquicardia, lambadura excessiva localizada e etc).</p>
--	--	---

		Alteração comportamental: normal ou histórico de ansiedade, agitação, medo, agressividade
--	--	---

<p>Presença de evento precipitante? Ocorre com animal calmo ou agitado/em exercício?</p>	<p>Podem existir gatilhos específicos como estresse, ansiedade, medo, sons ou luzes, mas geralmente ocorre quando animal está calmo, em repouso ou dormindo.</p>	<p>Síncope, colapso metabólico: exercício/movimentação/agitação</p> <p>Distúrbios do sono REM:</p> <p>Sono</p> <p>Narcolepsia/cataplexia: excitação/alimentação</p> <p>Fraqueza neuromuscular: atividade/exercício</p> <p>Colapso metabólico: frequentemente relacionado a atividade/exercício</p> <p>Alteração vestibular aguda: não há evento precipitante</p> <p>Desordem do movimento, tremor: Pode não haver evento precipitante ou ocorrer com exercício, excitação, estresse, movimentação</p> <p>Dor: movimentos ou posturas específicas, toque, manipulação</p> <p>Alteração comportamental: gatilhos específicos (medo, por exemplo)</p>
--	--	--

<p>Apresentação após o evento</p>	<p>Alterações pós ictais como desorientação, agressividade, sede ou apetite exagerados, déficit visual, agitação, andar compulsivo, letargia, sonolência, incoordenação, déficit proprioceptivo podem se manter por minutos ou horas.</p>	<p>Pode haver agressividade, agitação ou sonolência após os eventos, o que, no entanto, não é comum.</p>
-----------------------------------	---	--

<p>Nível de consciência durante o evento</p>	<p>O animal pode ou não apresentar-se alerta/responsivo durante o evento. Nas crises generalizadas frequentemente haverá perda de consciência. Mesmo quando há manutenção de consciência o tutor não é capaz de cessar ou interferir no curso do evento (oferecendo alimento, brinquedo etc)</p>	<p>Síncope e colapso metabólico: nível de consciência rebaixado. O tutor geralmente não é capaz de interferir no curso do evento.</p> <p>Distúrbios do sono REM: estado de sono. O tutor geralmente é capaz de despertar o animal e, assim, cessar o evento facilmente.</p> <p>Narcolepsia/cataplexia: se somente cataplexia, animal apresenta perda de tônus postural e sonolência, porém mantém o nível de consciência. Na narcolepsia, animal apresenta perda de tônus e estado de sono durante os eventos.</p> <p>Fraqueza neuromuscular: nível de consciência mantido.</p> <p>Alteração vestibular aguda, dor, alteração comportamental: geralmente normal ou desorientação.</p> <p>Desordem do movimento e tremor: normal. Em alguns casos o tutor pode ser capaz de interferir no curso do evento oferecendo alimento ou brinquedo.</p>
--	--	--



<p>Presença de sinais autonômicos?</p>	<p>Podem ou não estar presentes salivação, micção, defecação, midríase, piloereção.</p>	<p>Síncope, colapso metabólico e dor:          Pode haver micção, defecação, taquicardia ou arritmias transitórias (síncope).          Alteração vestibular aguda:          Pode haver vômito.          Distúrbios do sono REM,          Narcolepsia/cataplexia,          Fraqueza neuromuscular,          Alteração comportamental,          Desordem do movimento,          Tremor: ausência de sinais autonômicos.</p>
--	---	---

<p>Tônus muscular, presença de movimentos involuntários durante o evento?</p>	<p>Tônus muscular aumentado (crises tônicas), hipertonidade alternada com movimentos clônicos (crises tônico-clônicas), Mioclonias (crises mioclônicas) ou perda de tônus postural (crises atônicas).</p>	<p>Síncope, Colapso metabólico, Narcolepsia/cataplexia, Fraqueza neuromuscular: geralmente tônus flácido sem movimentos involuntários</p> <p>Distúrbios do sono REM: tônus normal ou aumentado com movimento involuntários</p> <p>Alteração vestibular aguda: redução unilateral do tônus muscular extensor</p> <p>Alteração comportamental: normal com ou sem movimentos involuntários</p> <p>Desordem do movimento, Tremor: tônus normal ou aumentado (focal ou generalizado) e presença de movimentos involuntários</p> <p>Dor: geralmente espástico, podendo apresentar tremores ou fasciculações.</p> <p>Alteração comportamental: tônus normal com ou sem movimentos compulsivos.</p>
---	---	---

<p>Presença de sinais lateralizados ou simétricos?</p>	<p>Possível que hajam sinais simétricos ou assimétricos nas crises.</p>	<p>Síncope, Colapso metabólico, Narcolepsia/cataplexia, Fraqueza Neuromuscular:  Simétricos  Alteração vestibular:  Geralmente assimétricos  Distúrbios do sono REM,  Desordem do movimento,  Tremor,  Dor,  Alteração comportamental:  Possível que haja manifestação simétrica ou assimétrica</p>
<p>Duração do evento</p>	<p>Mais comum: segundos a 3 minutos  Possível mais de 5 minutos (<i>status epilepticus</i>)  Extremamente incomum: duração de horas a dias</p>	<p>Síncope, Colapso metabólico, Segundos Narcolepsia/cataplexia, Dor, Distúrbios do sono REM:  Segundos a minutos  Fraqueza neuromuscular,  Alteração comportamental:  minutos a horas  Alteração vestibular aguda,  Desordem do movimento,  Tremor: segundos a horas</p>

<p>Resposta a medicamentos antiepilépticos? (Tentativa de diagnóstico terapêutico)</p>	<p>Geralmente sim</p>	<p>Síncope, Colapso metabólico, Síndrome vestibular aguda, Fraqueza neuromuscular, Narcolepsia/cataplexia: não Dor: geralmente responsiva a antiepilépticos com propriedade analgésica como gabapentina e pregabalina Distúrbios do sono REM, Alteração comportamental, Desordem do movimento, Tremor: possível/infrequente.</p>
<p>Outras observações</p>	<p>Dias a 30 minutos antes da ocorrência dos eventos, podem ser observadas alterações pré-ictais como ansiedade, agitação, apego exagerado ao tutor, medo, sono agitado, comportamento antissocial, agressividade e vocalização Cianose pode ou não ocorrer durante o evento</p>	<p>Geralmente não se observam alterações que precedem os eventos não epiléticos. Caso seja observada cianose é importante investigar eventos cardiovasculares como síncope, em que essa observação é comum.</p>

Uma vez determinado que tratam-se de crises epiléticas, o próximo passo deve ser confirmar ou excluir possíveis origens intra ou extracranianas que, caso presentes, também devem ser tratadas (HALL et al., 2020). Para tanto, a correlação dos dados obtidos no histórico e anamnese com achados de exames físico, neurológico e

complementares é essencial (Quadro 2). A suspeita de crises epiléticas acompanhada por histórico ou observação ao exame neurológico de alterações relacionadas a síndromes cerebrais é condição sugestiva de epilepsia estrutural (FREDSO et al., 2017). Já o diagnóstico de epilepsia idiopática pode ser dado nos cães com histórico de crises epiléticas, avaliações física e neurológica inalteradas e exames complementares normais (PODELL et al., 2015). Segundo consenso em epilepsia veterinária (DE RISIO et al., 2015), são considerados exames de triagem hemograma, perfil bioquímico hepático e renal, avaliação de íons cálcio, potássio, sódio, cloro, fósforo, urinálise e glicemia em jejum, devendo ser solicitados em todos os cães com histórico de crise epilética. Já os exames complementares mais complexos como mensuração de ácidos biliares pré e pós prandiais, aferição de pressão arterial, fundoscopia, perfil infeccioso, investigação toxicológica, ressonância magnética de encéfalo, exame do líquido cerebrospinal e EEG são recomendados para aqueles animais com suspeita de etiologia específica (epilepsia estrutural ou crises epiléticas reativas) ou que demonstrem resposta insatisfatória ao tratamento farmacológico já instituído.

**Quadro 2 - Características das epilepsias idiopáticas, estruturais e crises epiléticas reativas em cães** (Adaptado de DE RISIO et al., 2015 e HALL et al., 2020)

Origem das crises	Histórico e anamnese	Exame físico	Exame neurológico	Exames complementares
-------------------	----------------------	--------------	-------------------	-----------------------

Epilepsias idiopáticas	Início dos eventos geralmente entre 6 meses e 6 anos de idade; Ausência de histórico de sinais indicativos de síndromes cerebrais; Pertencentes a raças com predisposição a apresentar epilepsias idiopáticas.	Normal	Normal *pode estar alterado em animais com histórico de medicação ou crises epilépticas recentes (geralmente apresentando déficits simétricos)	Normais
---------------------------	--	--------	--	---------

<p>Epilepsias estruturais</p>	<p>Os eventos podem ocorrer em qualquer idade, porém há maior suspeita quando os episódios têm início em animais com menos de 6 meses ou mais de 6 anos de idade ou que apresentem como primeira manifestação crises epiléticas em <i>cluster</i> ou <i>status epilepticus</i>;</p> <p>Histórico de alterações sugestivas de síndromes cerebrais (depressão de estado mental, andar em círculos, andar compulsivo, <i>head turn, head pressing</i>, alteração do</p>	<p>Pode estar alterado de acordo com a causa primária (por exemplo sinais sistêmicos de infecção como hipertermia em encefalites infecciosas).</p>	<p>Alterado, geralmente apresentando déficits assimétricos. *caso a lesão cerebral esteja localizada em áreas silenciosas do cérebro o exame neurológico poderá estar normal; *algumas lesões cerebrais podem gerar déficits simétricos</p>	<p>Alterados de acordo com a causa primária.</p>
-------------------------------	--	--	---	--

	ciclo sono/vigília, alteração comportamental e etc)			
--	---	--	--	--



<p>Crises epilépticas reativas</p>	<p>Os eventos podem ocorrer em qualquer idade, porém há maior suspeita quando os episódios têm início em animais com menos de 6 meses ou mais de 6 anos de idade ou apresentam como primeira manifestação crises epilépticas em <i>cluster</i> ou <i>status epilepticus</i>;; Histórico de alterações clínicas (vômito, diarréia e tremores em caso de intoxicação ou perda ou ganho de peso nas doenças metabólicas, por exemplo).</p>	<p>Alterado de acordo com a causa primária.</p>	<p>Normal ou apresentando déficits simétricos.</p>	<p>Alterados de acordo com a causa primária.</p>
------------------------------------	---	---	--	--

	Histórico de possível intoxicação.			
--	------------------------------------	--	--	--

### 1.3.1 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO NO BRASIL

O histórico de uma única crise epiléptica não implica necessariamente no diagnóstico de epilepsia ou em grande chance de recorrência do evento e, assim, na necessidade de iniciar tratamento (MARSON, 2008). A decisão de quando instituir a terapia e de que fármaco utilizar deve ser tomada de maneira individualizada levando-se em conta intensidade e frequência dos episódios, raça, idade, histórico de crises em *cluster* ou *status epilepticus*, possível etiologia da epilepsia ou das crises epiléticas, saúde geral e comorbidades, eficácia e efeitos adversos dos fármacos, experiência do médico veterinário e características do tutor como estilo de vida, condição financeira e preferência pessoal (DE RISIO e PLATT, 2014). As recomendações gerais para início de tratamento em cães com histórico de crises epiléticas estão sumarizadas no Quadro 3.

#### **Quadro 3 - Indicações para início de terapia em cães com histórico de crise epilética** (Adaptado de BHATTI et al., 2015).

- Ter apresentado no mínimo duas crises epiléticas não reativas em um período de seis meses;
- Estar apresentando piora progressiva na frequência ou intensidade das crises epiléticas;
- Ter histórico de *status epilepticus* (crise de duração superior a 5 minutos ou ocorrência de duas crises em 24 horas sem que haja recuperação total do nível de consciência) ou crises em *cluster* (ocorrência de pelo menos duas crises epiléticas em 24 horas);
- Histórico de alterações pós-ictais graves ou de duração superior a 24 horas;
- Diagnóstico de doença estrutural cerebral (recente ou antigo);
- Cão de raça relacionada à epilepsia de difícil controle (Border Collie, Pastor Alemão e Bull Terrier, entre outras)

A terapia pode ser subdividida em: tratamento emergencial do *status epilepticus* ou das crises epiléticas em *cluster*, manejo de crises epiléticas reativas e tratamento crônico das epilepsias (DE RISIO e PLATT, 2014), sendo o último o foco desta revisão.

O tratamento crônico das epilepsias visa principalmente reduzir frequência e intensidade de crises epiléticas com o mínimo de efeitos colaterais possível. É realizado sobretudo por meio da utilização de fármacos antiepiléticos – atualmente denominados medicamentos anti-crise, pois têm em sua maioria o objetivo de suprimir crises epiléticas sem tratar os mecanismos que contribuem para a epileptogênese (FRENCH e PERUCCA., 2020). O tratamento geralmente tem início em monoterapia por seu custo inferior, melhor adesão do tutor, menos efeitos colaterais e menor potencial para interações medicamentosas (DE RISIO e PLATT, 2014). A escolha do fármaco a ser empregado como primeira linha deve ser individualizada (porém, embasada cientificamente) e levar em conta fatores relacionados ao animal (tipo e frequência de crises epiléticas, possível etiologia da epilepsia, presença de comorbidades e utilização crônica de outros medicamentos), ao tutor (preferência pessoal, estilo de vida, situação financeira, nível de instrução, habilidade de suportar efeitos colaterais e adesão ao tratamento) e ao fármaco (legislação, disponibilidade, segurança, tolerabilidade, mecanismo de ação, eficácia, metabolismo, farmacocinética, interações, formulação, valor, frequência de administração) (DE RISIO e PLATT, 2014; BHATTI et al., 2015).

Uma vez instituído, o tratamento antiepilético é frequentemente mantido por toda a vida do cão, uma vez que trata-se de terapia sintomática e não curativa (DE RISIO e PLATT, 2014). Casos específicos de animais que apresentam crises epiléticas reativas intensas ou histórico de trauma cranioencefálico podem requerer tratamentos agudos ou preventivos por período determinado (ZIMMERMAN et al., 2009; FRIEDENBERG et al., 2012). Há, ainda, descrição de síndrome epilética “benigna” juvenil autolimitante (em que há remissão espontânea das crises epiléticas independente de tratamento) na raça canina Lagotto Romagnolo (JOKINEN et al., 2007).

A descontinuação gradual da terapia pode ser sugerida em cães que estejam livres de crises há no mínimo um a dois anos, com risco de recorrência dos episódios. GESEL et al. (2015) avaliaram a suspensão do tratamento antiepilético em 11 cães com epilepsia presumida idiopática tratados com fenobarbital, brometo de potássio, zonisamida ou imepitoína (10 deles em monoterapia e um em politerapia) livres de crises epiléticas por três meses a cinco anos. Destes, quatro (36.4%) permaneceram livres de crises epiléticas por sete anos e sete (63.6%) apresentaram recorrência dos episódios, sendo que dois destes (25.6%) foram eutanasiados pois não foi possível obter o controle de crises com a nova terapia instituída. Ainda, o desenvolvimento de efeitos colaterais graves pode

determinar a necessidade de suspensão ou alteração do tratamento (DE RISIO e PLATT, 2014).

O objetivo primário do tratamento crônico das epilepsias é erradicar os episódios, o que é alcançado em menos de um terço dos pacientes humanos (KWAN e BRODIE, 2000) e caninos (BERENDT et al., 2002; HULSMEYER et al., 2010; GULLOV et al., 2012). Já o objetivo secundário (ou sucesso terapêutico parcial) pode ser alcançado na maioria dos casos e é caracterizado por redução superior a 50% na frequência e gravidade das crises epiléticas e prevenção da ocorrência de *status epilepticus* ou crises epiléticas em *cluster* (DE RISIO e PLATT, 2014).

Fatores individuais genéticos e/ou clínicos podem influenciar a responsividade ao tratamento de cães epiléticos. As raças collies e pastoras podem exibir resposta reduzida a fármacos anticonvulsivantes relacionada a diversas condições, entre elas mutação do gene ABCB1 (MDR1) que codifica a glicoproteína P (ALVES et al., 2011). Acreditava-se que iniciar o tratamento precocemente, logo após a primeira crise epilética, aumentava as chances de sucesso terapêutico (HEYNOLD et al., 1997). Sabe-se atualmente que outros fatores clínicos estão correlacionados com o índice de controle de crises epiléticas. Histórico de apresentação de crises focais, *status epilepticus*, crises em *cluster* e alta frequência de crises indicam fenótipos graves de epilepsias com maior chance de farmacoresistência em cães e outras espécies (HEYNOLD et al., 1997; KWAN e BRODIE, 2000; VOLK et al., 2008; HULSMEYER et al., 2010; LOSCHER e BRANDT, 2010; WEISSL et al., 2012; NORONA e VOLK, 2020). São considerados farmacoresistentes ou refratários a terapia os cães que apresentam redução da frequência dos episódios inferior a 50% mesmo quando tratados com duas drogas antiepiléticas escolhidas e empregadas adequadamente (fármacos seguros e eficazes para a espécie, administrados com intervalo correto, em nível terapêutico adequado) (MUÑANA, 2013; POTSCHKA et al., 2015). Acredita-se que aproximadamente um a cada três cães com epilepsias idiopáticas tratados com as drogas de primeira escolha (fenobarbital e brometo de potássio) possam ser considerados farmacoresistentes (PODELL e FENNER, 1993; PATTERSON, 2013; POTSCHKA et al., 2015). Não se deve, no entanto, atribuir farmacoresistência àqueles animais com falha no tratamento. A baixa adesão dos tutores à terapia prescrita parece ser causa comum de insucesso terapêutico. Assim, promover sua conscientização pode ser determinante no desfecho clínico (DE RISIO e PLATT, 2014). Os tutores devem entender, por exemplo, que é comum a ocorrência de efeitos colaterais principalmente nos primeiros dias de tratamento, que a suspensão dos fármacos

sem indicação profissional pode resultar na recorrência de crises epiléticas de difícil controle e que a permanência de crises epiléticas esporádicas não é necessariamente sinônimo de ineficácia da terapia. Além disso, são causas de pseudo farmacoresistência a não identificação e tratamento de causa primária para as crises epiléticas (NORONA e VOLK, 2020), utilização de fármacos inapropriados para a espécie ou em esquemas terapêuticos inadequados e ausência de monitorização por meio de checagem de nível sérico das drogas (POTSCHKA et al., 2015).

### **1.3.1.1 FENOBARBITAL**

Fenobarbital é um medicamento barbitúrico com propriedades hipnótica e sedativa cujo efeito antiepilético foi descrito pela primeira vez em 1912 (HAUPTMANN, 1912). Logo se revelou mais eficaz e menos tóxico que os brometos, único fármaco antiepilético disponível à época, tendo rapidamente se tornado a nova medicação de escolha no tratamento das epilepsias em seres humanos (GUERREIRO e GUERREIRO, 2014). Seu principal mecanismo de ação parece se dar por meio do aumento do tempo de abertura de canais de cloreto em receptores GABA-A (ácido gama-aminobutírico - A) na membrana pós sináptica em neurônios do SNC. Além disso, pode aumentar a afinidade do GABA por seus receptores e reduzir a excitação mediada por glutamato por meio da inibição de canais de cálcio voltagem-dependentes em terminais pré-sinápticos (NARDOU et al., 2011). É considerado medicamento antiepilético de primeira geração, sendo a droga com histórico mais longo de utilização para tratamento das epilepsias na medicina veterinária (PODELL et al., 2016).

Apesar de não haver formulação comercial direcionada especificamente aos animais, encontra-se disponível no Brasil para prescrição médico veterinária em apresentações para uso oral (comprimidos e solução) e injetável (aplicações intramuscular e endovenosa). Após administração oral em cães, o ácido 5-etil-5-fenilbarbitúrico apresenta absorção dentro de duas horas, podendo ser comprometida quando acompanhado de alimento. Demonstra boa biodisponibilidade (aproximadamente 90%) e máxima concentração plasmática entre três a cinco horas (DE RISIO e PLATT, 2014). Aproximadamente 45% do fármaco parece se ligar a proteínas plasmáticas. A maior parte do medicamento é metabolizada pelo fígado, sendo até 25% eliminado por via renal em sua forma não metabolizada (PODELL et al., 2016). A droga é potente indutora da síntese e atividade de enzimas hepáticas, incluindo FA, glucoronil e glutaciona-transferases e

componentes do citocromo p450 hepático, particularmente das isoformas CYP1A, CYP2B, CYP2C, CYP3A (GASKILL et al., 2004; STABILE et al., 2017). Sua meia-vida de eliminação em cães adultos é de 37 a 73 horas após múltiplas administrações orais (RAVIS et al., 1984).

Segundo DE RISIO e PLATT (2014), a dose recomendada para início de terapia antiepiléptica na espécie canina é de 2,5 a 3,0 mg/kg por via oral a cada 12 horas. Sua estabilização farmacocinética é atingida após duas a três semanas de início de terapia (ou alteração de dose), quando deve-se realizar mensuração de seus níveis séricos. Até então, seu efeito terapêutico pode ser limitado. Após mensuração plasmática a dose de manutenção do fármaco deve ser ajustada para cada paciente de acordo com nível sérico, controle de crises e efeitos colaterais. O intervalo de referência de nível plasmático do fenobarbital para cães tradicionalmente citado na literatura e utilizado por muitos laboratórios é de 15 a 45 µg/mL (FARNBACH, 1984; SCHWARTZ-PORSCHE et al., 1985; LEVITSKI e TREPANIER, 2000). Referências mais atuais sugeriram que se busque nível sérico entre 20 - 25 e 35 µg/mL para controle adequado das crises epiléticas (DE RISIO e PLATT, 2014; BHATTI et al., 2015). Ainda, cães tratados em associação ao brometo de potássio podem ter seus episódios controlados com níveis séricos de fenobarbital inferiores a 23 µg/mL (TREPANIER et al., 1988).

A relevância do horário de coleta de sangue para avaliação de nível sérico é controversa. Teoricamente, a partir do momento em que se alcança a estabilização farmacocinética a droga deve apresentar flutuações diárias mínimas em seus níveis séricos. Porém, em cães que receberam doses acima de 5 mg/kg do fenobarbital a cada 12 horas pareceu haver variação importante nesses valores, tendo sido recomendada realização de coleta de sangue sempre em horário fixo (MONTEIRO et al., 2009). Além disso, alguns cães em terapias crônicas podem apresentar redução progressiva da meia-vida plasmática do fármaco, principalmente por conta de auto-indução de seu metabolismo hepático (MUÑANA, 2013). Nesses pacientes, a mensuração dos maiores e menores valores de níveis séricos diários por meio de coletas de sangue após quatro e doze horas de administração pode permitir essa constatação (LEVITSKI e TREPANIER, 2000). STABILE et al. (2017) relataram administração de doses de 2,7 a 5,5 mg/kg do fenobarbital a cada oito horas em cães em tratamentos crônicos com fenobarbital com indício laboratorial de redução de sua meia-vida plasmática. Nesses animais, a redução dos intervalos de tratamento foi relacionada a melhora importante dos efeitos colaterais e redução da frequência de crises epiléticas.

Segundo BHATTI et al. (2015), em cães com histórico de crises epiléticas em *cluster*, *status epilepticus* ou crises epiléticas frequentes pode-se iniciar a terapia empregando-se doses mais elevadas do fármaco visando atingir estabilização sérica mais precocemente e assim, efeito terapêutico no controle de crises mais rapidamente (terapia de ataque). Uma opção descrita é a administração de 15–20 mg/kg do fenobarbital por via endovenosa, intramuscular ou oral dividida em múltiplas doses de 3-5 mg/kg em 24 horas. Após, a terapia deve permanecer em dose de manutenção, com coleta de sangue para mensuração dos níveis séricos após quatro dias.

A indução da atividade microsomal dos hepatócitos implica em risco aumentado de desenvolvimento de lesão hepática e na possibilidade de aumento na velocidade de metabolização de xenobióticos e compostos endógenos (VILLENEUVE e PICHETTE, 2004). Assim, a principal contraindicação da terapia com fenobarbital se dá em animais com disfunções hepáticas (DE RISIO e PLATT, 2014). Hepatotoxicidade reversível é relatada em cães recebendo doses altas da droga por longos períodos (níveis séricos superiores a 40 µg/mL por 39 meses) (DAYRELL-HART et al., 1991). Para acompanhamento sugere-se monitorar bioquímica sérica hepática e níveis séricos do fenobarbital a cada três a seis meses.

A droga pode apresentar interação farmacológica com diversas substâncias. Entre estas, alguns medicamentos empregados também na prevenção de crises epiléticas em cães como benzodiazepínicos e levetiracetam que têm suas concentrações plasmáticas reduzidas quando associados ao fenobarbital (BHATTI et al., 2015). Por outro lado, substâncias que inibem a atividade das enzimas do citocromo p450 hepático como omeprazol, trimetoprim, silimarina (DE RISIO e PLATT, 2014) e fitocanabinoides têm potencial para reduzir seu metabolismo e gerar toxicidade. Assim, a utilização de politerapia em cães epiléticos requer o conhecimento das potenciais interações farmacológicas e acompanhamento dos níveis séricos do fenobarbital.

Segundo CHARALAMBOUS et al. (2016), o fármaco geralmente é bem tolerado quando empregado dentro do nível terapêutico de referência. Nas primeiras semanas de tratamento, o cão pode apresentar sinais temporários de sedação, ataxia, polifagia, polidipsia/poliúria, excitação, agitação e agressividade. Hepatotoxicidade, anemia/trombocitopenia/neutropenia, dermatite necrolítica superficial, pancreatite, hipoalbuminemia e discinesias são alterações relatadas como idiossincráticas, com resolução após descontinuação da droga. A utilização do fenobarbital em cães está frequentemente relacionada a elevação das enzimas hepáticas, hipercolesterolemia,



hipertrigliceridemia e redução dos hormônios tireoidianos não necessariamente relacionados a condições patológicas (DE RISIO e PLATT, 2014).

Dentre as drogas disponíveis no Brasil, o fenobarbital é indicado como primeira escolha no tratamento crônico de cães epiléticos devido a seu perfil farmacocinético que permite duas administrações diárias, segurança, baixo custo e robusta evidência científica de eficácia no controle das crises epiléticas na espécie (CHARALAMBOUS et al., 2014; DE RISIO e PLATT, 2014; BHATTI et al.; 2015). PODELL et al. (2016) revisaram oito estudos envolvendo 311 cães epiléticos tratados com a droga, tendo sido observada redução global de 50% na frequência de crises epiléticas (objetivo secundário da terapia ou sucesso terapêutico parcial) em 82%, supressão absoluta de crises (objetivo primário) em 31% e ausência de resposta em 15%. Quando empregado em monoterapia, o fenobarbital parece reduzir a frequência de crises epiléticas em 60 a 93% dos cães quando seus níveis séricos se encontram entre 25 e 35 µg/mL (DE RISIO e PLATT, 2014). Não há estudos que avaliem o fenobarbital como droga de associação no tratamento das epilepsias em cães, por sua recomendação atual de primeira linha de tratamento na espécie (PODELL et al., 2016). Quando comparado com a droga de segunda linha, o brometo de potássio, o fenobarbital em monoterapia demonstrou maior eficácia no controle de crises epiléticas com menos efeitos colaterais (BOOTHE et al., 2102).

São considerados resistentes ao tratamento com fenobarbital cães que continuam a apresentar crises epiléticas excessivas (o que é conceito um tanto subjetivo) ou redução da frequência de crises inferior a 50% após no mínimo duas a três semanas de terapia, com níveis séricos da droga no limite superior (30 a 35 µg/mL) (CHANG et al., 2006; WESSMANN et al., 2012). Nestes pacientes a recomendação geral é a de manter terapia com fenobarbital e iniciar tratamento com segunda droga de escolha em associação (frequentemente brometo de potássio). Nos cães que apresentem efeitos colaterais graves deve-se avaliar a descontinuação da droga, se possível gradualmente, paralelamente à adição de novo medicamento. Nesses casos, um esquema sugerido é a redução de 50% da dose do fenobarbital por semana (DE RISIO e PLATT, 2014).

### **1.3.1.2 BROMETO DE POTÁSSIO**

Brometo de potássio foi o primeiro fármaco com propriedade antiepiléptica relatada, ainda em 1857 (EADIE, 2012), permanecendo como única opção terapêutica em pessoas com epilepsias até o advento do fenobarbital. É considerado, assim, medicamento antiepiléptico de primeira geração. O primeiro relato de seu emprego em cães data de 1907 (SWELL, 1907), porém a droga parece ter se popularizado na medicina veterinária somente na década de 1980 (PODELL et al., 2016). Acredita-se que o fármaco atue de maneira sinérgica ao fenobarbital, favorecendo o influxo de cloreto mediado por GABA em canais iônicos pós-sinápticos (TREPANIER e BABISH, 1995).

O brometo pode ser administrado em cães como sal de potássio ou de sódio, sendo o brometo de potássio a forma mais comumente utilizada (DE RISIO e PLATT, 2014). Não há formulação comercial disponível no Brasil, sendo necessária prescrição médica veterinária de manipulação do brometo de potássio (em geral em soluções ou cápsulas) para emprego por via enteral. Os sais de brometo apresentam boa biodisponibilidade (46%) e pico de absorção independente do estado prandial no intestino delgado uma hora e meia após administração de solução oral (VAN DYKE e HASTINGS, 1931). O brometo de potássio não se liga a proteínas plasmáticas, apresentando livre difusão através das membranas orgânicas. Se distribui no espaço extracelular, atingindo equilíbrio com íons cloreto na maioria dos tecidos do organismo (WALLACE e BRODIE, 1939). O fármaco não é metabolizado pelo fígado, sendo uma boa alternativa terapêutica em cães hepatopatas. Apresenta meia-vida de eliminação longa, de 25 a 46 dias após administração oral, o que permite a administração de uma ou duas doses diárias em cães. É excretado inalterado principalmente na urina, com reabsorção glomerular em competição com íons cloreto (DE RISIO e PLATT, 2014).

Variações na ingestão diária de sal advindas de mudanças na dieta, ingestão de água do mar, administração endovenosa de solução de cloreto de sódio ou de formulações terapêuticas contendo cloreto podem influenciar a terapia. Há aumento na reabsorção glomerular de brometo de potássio, com elevação de níveis séricos e potencial para gerar toxicidade quando a ingestão de sal é reduzida. Por sua vez, haverá redução de sua reabsorção glomerular e de seus níveis séricos e potencial menor controle de crises epilépticas se houver incremento na ingestão de sal (TREPANIER e BABISH, 1995). Cães tratados com brometo de potássio devem, portanto, ser mantidos em dieta fixa. Havendo necessidade de alteração, o regime de alimentação deve ser modificado de maneira gradual (progressivamente em um período de cinco dias), com acompanhamento

de nível sérico caso haja suspeita de toxicidade (efeitos colaterais) ou de redução de sua concentração plasmática (ocorrência de crise epiléptica) (DE RISIO e PLATT, 2014).

A dose de manutenção recomendada é de 40 mg/kg/dia quando em monoterapia e 30 mg/kg/dia quando utilizado como terapia de associação, divididas em uma ou duas administrações diárias (BHATTI et al., 2015). Por exibir meia-vida longa, a droga leva três meses após início de terapia ou alteração da dose para atingir estado de equilíbrio farmacocinético. O horário da coleta de sangue para avaliação de seus níveis séricos não é relevante (BHATTI et al, 2015). Em cães que apresentem crises epilépticas frequentes ou efeitos colaterais importantes que tornem necessária a descontinuação do fenobarbital, pode-se empregar dose de carga do brometo de potássio. A administração de 625 mg/kg da droga por via oral ou retal dividida em, no mínimo, oito doses em 48 horas ou de 125 mg/kg/dia pelas mesmas vias de administração dividida em três ou quatro doses diárias por cinco dias consecutivos são alguns protocolos sugeridos na literatura. Nesses casos, a coleta de sangue para mensuração dos níveis séricos pode ser realizada após um mês (DE RISIO e PLATT, 2014).

Os níveis séricos terapêuticos relatados para o brometo de potássio são de 1000 mg/L a 2000 mg/L quando administrado em associação ao fenobarbital e 2000mg/L a 3000mg/L quando em monoterapia. Assim como para o fenobarbital, a dosagem do brometo de potássio em cães epilépticos deve ser ajustada de acordo com controle de crises epilépticas, efeitos colaterais e nível sérico (ROBAINA et al., 2020). A menor dosagem e nível plasmático do fármaco associada a redução mínima de 50% nas crises epilépticas deve ser identificada e empregada para o paciente de maneira individualizada (BHATTI et al., 2015).

O uso do brometo de potássio é contra-indicado em cães nefropatas ou que apresentem hipoadrenocorticismo (DE RISIO e PLATT, 2014). Caso não haja possibilidade de utilização de outros fármacos antiepilépticos, o emprego da droga em pacientes com disfunção renal deve ser iniciado com metade da dose de manutenção e acompanhamento de efeitos colaterais e de sua mensuração plasmática (TREPANIER e BABISH, 1995). Por não apresentar metabolismo hepático e não se ligar a proteínas plasmáticas, o brometo de potássio apresenta pouco potencial para interação farmacológica com outras drogas. Diuréticos de alça como a furosemida podem aumentar a excreção da droga e reduzir seus níveis séricos, o que não parece ocorrer com os diuréticos osmóticos (DE RISIO e PLATT, 2014). O emprego de halotano na anestesia de cães e pessoas que fazem uso do brometo de potássio pode estar relacionado a aumento

discreto no nível plasmático do fármaco, sendo sugerido que se preconize a utilização de outros agentes anestésicos nesses pacientes (PEDERSOLI, 1980).

Quanto aos efeitos adversos da terapia, segundo DE RISIO e PLATT (2014) a utilização de dose de ataque está frequentemente relacionada a ocorrência de sinais intensos, sendo por isso indicada a internação dos animais para realização desses protocolos. Sedação, ataxia, paraparesia, polidipsia/poliúria e polifagia são sinais relacionados à dose, que podem ser potencializados pela associação ao fenobarbital e apresentam resolução pelo menos parcial após estabilização farmacocinética da droga. Efeitos adversos gastrointestinais como náuseas, vômitos e diarreia podem ser minimizados pela administração do fármaco junto a alimento, divisão da posologia diária em duas doses e manipulação de soluções com concentração máxima de 200–250 mg/mL (BAIRD-HEINZ et al., 2012; PODELL et al., 2016). Reações idiossincráticas em cães epiléticos que fazem uso do brometo de potássio incluem alterações comportamentais como agressividade, irritabilidade e hiperatividade, pancreatite (especialmente em cães tratados com a droga em associação ao fenobarbital) e lesões dermatológicas associadas a prurido e paniculite. Há ainda a possibilidade de desenvolvimento de sinais clínicos graves como depressão do nível de consciência, midríase bilateral irresponsiva a luz, alterações comportamentais, cegueira bilateral, anisocoria e neuromiopatias em terapias crônicas com níveis séricos elevados (PODELL et al., 2016). Nesses casos é indicada redução da dose ou descontinuação da terapia com brometo de potássio e favorecimento de sua excreção pelo emprego de cloreto de sódio endovenoso e/ou diuréticos de alça (ROSSMEISL E INZANA, 2009). A utilização do fármaco em cães está relacionada a pseudohiperclorêmia (WOODY et al., 1990).

Trata-se de medicamento relativamente barato, seguro e eficaz no controle de crises epiléticas em cães (DE RISIO e PLATT, 2014). É recomendado preferencialmente em adição ao fenobarbital em cães epiléticos quando este se encontra dentro dos níveis séricos adequados e ainda assim, não se atingiu o controle de crises desejável (BOOTHE et al., 2012; BHATTI et al., 2015; PODELL et al., 2016). Essa associação está relacionada a resposta positiva (redução na frequência dos episódios em no mínimo 50%) em até 70% dos cães epiléticos (PODELL e FENNER, 1993). Nesses animais deve-se, a princípio, manter a mesma dosagem do fenobarbital pelo menos até que se atinja estabilização sérica do brometo de potássio (TREPANIER et al., 1998). Subsequentemente, pode-se reduzir 10 a 25% da dosagem do fenobarbital a cada quatro a seis semanas (DE RISIO e PLATT, 2014). O brometo de potássio é considerado, ainda, primeira escolha de monoterapia

dentre os fármacos disponíveis no Brasil para tratamento de cães epiléticos com contra-indicação de utilização do fenobarbital (TREPANIER et al., 1988; TREPANIER e BABISH, 1995; CHARALAMBOUS et al., 2014). Seu emprego em monoterapia em 23 cães foi relacionado a erradicação das crises epiléticas em pouco mais de 50% dos animais e controle parcial (redução de no mínimo 50% na frequência dos episódios) em mais de 60% destes (BOOTHE et al., 2012).

### **1.3.1.3 LEVETIRACETAM**

Levetiracetam é um fármaco com propriedades relatadas de controle de crises epiléticas (DE RISIO e PLATT, 2014), antinocicepção (MICOV et al., 2001) e neuroproteção (KOMUR et al., 2014). Foi licenciado para uso clínico na medicina humana como antiepilético em 2000, sendo apontado como o medicamento que surgiu na atualidade que provavelmente mais contribuiu para o tratamento das epilepsias em seres humanos (RÍOS-POHL, 2014). É considerado fármaco antiepilético novo, de terceira geração. Trata-se de molécula bastante distinta em relação aos medicamentos antigos, com mecanismo de ação antiepilética igualmente diferenciado, principalmente por redução de liberação de neurotransmissores por meio de ligação à proteína 2A da vesícula sináptica (YANG et al., 2009). Além disso, parece modular os níveis de cálcio intracelular, favorecer a neurotransmissão GABAérgica, antagonizar a hipersincronização neuronal, reduzir o espriamento de atividade elétrica excitatória de descargas epiléticas (DE RISIO e PLATT, 2014) e exercer atividade anti-epileptogênica (KLITGAARD e PITKANEN, 2003; LOSCHER et al., 1998; YAN et al., 2005). Esse ineditismo de mecanismo de ação pode favorecer sua eficácia no controle de crises epiléticas quando empregado em associação a outras substâncias.

O fármaco apresenta perfil farmacológico favorável em cães, que o aproxima da definição de um medicamento antiepilético ideal (PATSALOS, 2000): rápida e completa absorção após administração parenteral ou enteral mesmo com administração junto a alimento, elevada biodisponibilidade (> 95%), (BEASLEY, 2015), baixa ligação a proteínas plasmáticas (< 10%), rápida passagem pela barreira hematoencefálica, cinética linear (BENEDETTI et al., 2004), metabolismo hepático mínimo (BHATTI et al., 2015), rápido pico plasmático (em média 15 minutos a uma hora após administração oral) (DE RISIO et al., 2014) e elevado índice terapêutico (PODELL et al., 2016). O

levetiracetam é primariamente excretado na urina por filtração glomerular (BENEDETTI et al., 2004), sendo a maior parte inalterada e a fração restante metabolizada por hidrólise enzimática na corrente sanguínea, fígado e outros tecidos (PATSALOS, 2004). Apresenta meia-vida de eliminação curta em cães (três a seis horas), o que torna necessária a administração da droga pelo menos a cada oito horas, mas, por outro lado, determina rápida estabilização sérica e início de efeito terapêutico. Assim, compreende ferramenta especialmente interessante naqueles animais com crises epiléticas agudas de difícil controle (*status epilepticus* ou crises em *cluster*) (BHATTI et al., 2015).

O levetiracetam é geralmente bem tolerado e seguro no tratamento de cães epiléticos (BHATTI et al., 2015). Em cães nefropatas, deve-se considerar a utilização de doses inferiores (DE RISIO e PLATT, 2014). A droga apresenta pouco potencial para interação com outras substâncias por demonstrar baixa ligação a proteínas plasmáticas e metabolismo hepático mínimo. Por não interferir com os sistemas envolvidos na metabolização de outros fármacos antiepiléticos, não parece alterar suas concentrações plasmáticas (MUÑANA et al., 2012). No entanto, a administração concomitante com fármacos indutores do sistema microsomal hepático como o fenobarbital parece reduzir sua meia-vida, podendo ser necessário aumento da dose ou redução do intervalo de administração (MOORE et al., 2011; MUÑANA et al., 2015). A ocorrência de efeitos adversos em cães tratados com a droga parece rara e reversível com a redução da dose ou descontinuação da terapia. Os sinais mais comumente relatados são sedação, ataxia, redução de apetite e vômito (MUÑANA et al., 2012), de pouca gravidade mesmo quando da utilização do fármaco em sobredoses (PODELL et al., 2016). Em pacientes humanos tratados com levetiracetam – especialmente crianças – foi relatada manifestação de agressividade (HANSEN et al., 2018). ERATH et al. (2020) referiram possibilidade de intensificação de alterações comportamentais prévias com utilização do levetiracetam em cães com epilepsias idiopáticas e estruturais. Tais sinais se manifestaram até duas semanas após início da terapia e pareceram ser, em sua maioria, reversíveis. Não há relato de alterações em exames complementares hematológicos, bioquímicos ou urinários relacionadas ao uso de levetiracetam em cães, nem de interferência nos níveis séricos de fenobarbital e brometo de potássio (MUÑANA et al., 2012).

O fármaco é indicado para o tratamento de cães epiléticos em associação ao fenobarbital e/ou ao brometo de potássio, preferencialmente em esquema de pulsoterapia ou em uso contínuo (CHARALAMBOUS et al., 2014; BHATTI et al., 2016). No Brasil, é considerada droga de valor elevado na opinião da maioria dos tutores de cães

epilépticos. Assim, o custo compreende grande limitação para seu emprego clínico na espécie no país. Encontra-se disponível em formulação comercial humana em comprimidos de 250 mg e 750 mg, além de xarope de 100 mg/mL para administração por via oral ou retal. As formulações injetável e comprimidos de liberação prolongada (*extended-release* ou XR) não são comercializadas no país, o que limita sua utilização em condições emergenciais e torna frequentemente necessária a administração de pelo menos três doses diárias do medicamento.

Segundo BHATTI et al. (2015) a droga pode ser empregada em uso contínuo, com dose de manutenção recomendada para cães de 20 mg/kg por via oral a cada seis ou oito horas. Foi demonstrado, no entanto, que alguns cães desenvolvem tolerância quando o levetiracetam é utilizado continuamente em terapias crônicas (VOLK et al., 2008). Assim, em cães com histórico consistente de crises em *cluster* sugere-se a utilização da droga em pulsoterapia, ou seja: somente após observação de crise epiléptica ou identificação pelo tutor de sinais pré-ictais conhecidos para aquele animal. Para tanto, é sugerida dose inicial de 60 mg/kg por via oral seguida, após oito horas, de administrações de 20 mg/kg pela mesma via a cada oito horas até que o animal permaneça 48 horas sem apresentar crises epiléticas (BHATTI et al., 2015). Ainda, CAGNOTTI et al. (2019) referiram resposta satisfatória no controle de crises epiléticas em cães com crises em *cluster* com a utilização de 40 mg/kg de levetiracetam por via retal. PACKER et al. (2015) observaram controle de crise semelhante com a utilização de levetiracetam em pulsoterapia e em uso contínuo. No entanto, o grupo tratado em pulsoterapia apresentou efeitos colaterais de ataxia, sedação, polifagia e polidipsia mais frequentes. Ainda assim, a redução de custos com o tratamento e a menor propensão a desenvolvimento de tolerância podem embasar a recomendação de emprego do fármaco em pulsoterapia (DE RISIO e PLATT, 2014). O acompanhamento do nível sérico da droga não parece ser necessário na rotina clínica, não havendo ainda valor de referência estabelecido para cães (BHATTI et al., 2015). Ainda assim, DE RISIO e PLATT (2014) sugeriram que tal avaliação pode permitir individualização do tratamento, correlacionando níveis séricos do levetiracetam com resposta clínica no controle de crises para cada cão.

Quando comparado ao brometo de potássio em monoterapia, o levetiracetam apresentou efeito inferior no controle de crises epiléticas em cães em estudo conduzido por BOOTHE et al. (2012). Já KELLY et al. (2017) observaram redução em no mínimo 50% na frequência de crises epiléticas em 10 de 19 cães com epilepsias estruturais (53%) com a utilização do fármaco em monoterapia. NORONA e VOLK (2020) reportaram

achado semelhante: controle de crises epilépticas adequado em três de seis cães (50%) com epilepsias estruturais com a utilização do levetiracetam em monoterapia. Nesse estudo, o fármaco demonstrou efeito superior ao fenobarbital utilizado em monoterapia. Os achados indicaram que a utilização do fármaco em monoterapia pode se tratar de estratégia terapêutica interessante especialmente no tratamento de cães com epilepsias estruturais. Como droga de adição, o levetiracetam parece exercer efeito antiepiléptico sinérgico a outros fármacos (provavelmente por seu mecanismo de ação diferenciado) sem potencializar efeitos colaterais (KLITGAARD e MATAGNE, 1998; DE RISIO e PLATT, 2014). Estudos que avaliaram a associação da droga ao fenobarbital e/ou ao brometo de potássio demonstraram se tratar de estratégia interessante no controle de crises epilépticas em cães (MUÑANA et al., 2012; VOLK et al., 2008; STEINBERG e FAISSLER, 2004). Assim, o levetiracetam é considerado atualmente terceira escolha para tratamento de epilepsias em cães, após fenobarbital e brometo de potássio. Pode ser utilizado em uso contínuo ou em pulsoterapia, especialmente para tratamento de cães com histórico de crises em *cluster*. Segundo CHARALAMBOUS et al. (2014), há baixo nível de evidência para recomendação do levetiracetam em uso contínuo como monoterapia e moderado nível de evidência para recomendação de seu emprego como terapia de associação.

#### **1.3.1.4 OUTROS FÁRMACOS**

A imepitoína tem sido recentemente sugerida como primeira escolha para tratamento crônico de cães epilépticos em monoterapia em detrimento ao fenobarbital, por apresentar eficácia praticamente semelhante e maior tolerabilidade (TIPOLD et al., 2014). No entanto, a droga não se encontra disponível no Brasil. Ainda não há nível de evidência científica suficiente sobre eficácia e/ou segurança do uso crônico em cães dos seguintes fármacos (como monoterapia ou droga de associação) para tratamento das epilepsias: primidona, zonisamida, gabapentina, valproato de sódio, pregabalina, felbamato, topiramato, lacosamida, rufinamida, vigabatrina, lamotrigina, tiagabina e oxcarbamazepina (PODELL, 1998; LOSCHER, 2003; CHARALAMBOUS et al., 2014).

A longa história de tratamento das epilepsias na medicina humana gerou bastante conhecimento prático. Foi observado de maneira consistente que a adição de uma quarta droga tem pouca possibilidade de trazer benefício ao controle de crises epilépticas, além



de reduzir consideravelmente a adesão ao tratamento e aumentar o potencial para interação farmacológica (KWAN e BRODIE, 2006). Dessa forma, as maiores chances de auxílio no controle de crises epiléticas em pacientes humanos (e provavelmente também em cães) repousam sobre as três primeiras drogas empregadas. Assim, pelo menos até agora, o uso de qualquer fármaco que não fenobarbital, brometo de potássio ou levetiracetam como três primeiras escolhas estará em desacordo com os princípios de medicina baseada em evidencia.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) (Protocolo 403/2017).

Os frascos de extrato de *Cannabis* diluído em óleo de triglicérides de cadeia média (TCM) a 0,5% foram doados pela fabricante (Associação Abrace Esperança®). Foram adquiridos fenobarbital (Gardenal ® caixa com 20 comprimidos de 50 miligramas) e solução de TCM (Drogavet®). O estudo foi dividido em duas fases experimentais, conforme sumarizado no Quadro 4.

### Quadro 4 – Delineamento do estudo.

Fase	Grupos, tratamentos, avaliações
<b>1. Avaliação da segurança da utilização do extrato de <i>Cannabis</i> em monoterapia e associado ao fenobarbital em cães saudáveis</b>	12 cães divididos em três grupos (n=4), tratados por 60 dias, mantidos em condições experimentais, avaliados em três tempos G1 (SC) tratado com extrato de <i>Cannabis</i> G2 (SC+F) tratado com extrato de <i>Cannabis</i> + fenobarbital G3 (SF+P) tratado com fenobarbital + placebo (solução de TCM)
<b>2. Avaliação do efeito clínico da associação do extrato de <i>Cannabis</i> ao fenobarbital em cães epiléticos</b>	6 cães epiléticos atendidos na rotina do Hospital Veterinário da UFMG distribuídos em dois grupos, tratados em casa pelos tutores por 60 dias, com histórico de crises epiléticas e efeitos colaterais, avaliados clinicamente em três tempos G4 (EF+C) tratado com fenobarbital + extrato de <i>Cannabis</i> (n=4) G5 (EF+P) tratado com fenobarbital + solução placebo (solução de TCM) (n=2)

### 2.1 FASE 1

Foram utilizados 12 cães sem raça definida (SRD) provenientes do canil

municipal da cidade de Brumadinho – Minas Gerais, negativos para leishmaniose (teste DPP® leishmaniose visceral canina Biomanguinhos realizado pela prefeitura com sangue total), sem alterações em exame físico (composto por avaliação de estado geral, peso, coloração de mucosas, palpação de linfonodos, frequência cardíaca, ausculta cardiopulmonar e temperatura retal - TR) (ETTINGER, 2005) e exame neurológico (compreendido por avaliação de estado mental, postura, marcha, reações posturais - propriocepção e saltitamento, nervos cranianos: reflexo palpebral, resposta a ameaça, reflexo pupilar a luz direto e consensual, sensibilidade facial, sensibilidade do plano nasal, posicionamento ocular em repouso e após alteração da posição da cabeça, nistagmo fisiológico, simetria facial e dos músculos da mastigação, reflexos miotáticos – tônus dos quatro membros, reflexos flexores dos quatros membros e reflexos patelares nos membros pélvicos, reflexo perineal, reflexo cutâneo do tronco e palpação epaxial) (DEWEY et al., 2016), de ambos os sexos, pesando entre 5 e 35 quilogramas (kg), com idade estimada pela erupção completa de todos os dentes permanentes de no mínimo seis meses (KREMENAK JR, 1967). Os animais foram mantidos no Centro Experimental de Pequenos Animais da Escola de Veterinária da UFMG, alojados em canis individuais, recebendo por todo o período pré-experimental e experimental água *ad libitum* e ração comercial (Quatree®). Eram manejados duas vezes ao dia para limpeza dos canis, reposição de ração e água, passeio pelas áreas próximas (dentro do campus) e socialização. Foram medicados com Fluralaner (Bravecto®) em dose única por VO na dose sugerida pelo fabricante para eliminação de ectoparasitas; doxiciclina (Doxitrat ®) na dose de 10 miligramas por quilograma (mg/kg) por VO a cada 24 horas durante 28 dias para tratamento para hemoparasitose transmitida por carrapato identificada em esfregaço sanguíneo de um dos cães (HOSKINS et al., 1991); tratamento para verminoses anti-helmíntico pamoato de pirantel (144mg) associado a praziquantel (50mg) e febantel (150mg) (Duprantel Plus®) na dose de um comprimido para cada 10 kg de peso vivo por VO em dose única com repetição após 15 dias para eliminação de endoparasitos.

Após período de adaptação e tratamentos (30 dias), os cães foram submetidos à coleta de sangue para realização de hemograma e perfil bioquímico hepático e renal. Foram obtidos aproximadamente 3,0 mililitros (mL) de sangue por meio de punção na veia cefálica ou jugular com agulha descartável hipodérmica 22 G - 25 milímetros (mm) por 0,7 mm - acoplada a seringa de 5 mL. Aproximadamente 1,5 mL de sangue foram transferidos para tubos de coleta com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) a 10% para realização de hemograma e os 1,5 mL restantes foram acondicionados em tubos de

coleta sem anticoagulante para posterior separação do soro e realização de avaliações do perfil bioquímico.

Posteriormente, os animais foram submetidos a procedimentos cirúrgicos de ovariectomia (fêmeas) ou orquiectomia (machos) e medicados em protocolo de analgesia pós-cirúrgica com cloridrato de tramadol na dose de 1 mg/kg de peso vivo a cada oito horas, dipirona 25 mg/kg de peso vivo a cada oito horas e meloxicam na dose de 0,1 mg/kg de peso vivo a cada 24 horas, ambos por VO por três dias. Dez dias após os procedimentos cirúrgicos foi realizada remoção dos pontos de sutura com auxílio de tesoura de Spencer e pinça anatômica.

### **2.1.1. PERÍODO EXPERIMENTAL**

Os 12 animais foram aleatoriamente divididos em três grupos (n=4), conforme demonstrado no Quadro 5 e na Tabela 1. Além da numeração (G1, G2, G3), os grupos foram denominados de acordo com o tratamento para facilitar o entendimento do estudo: SC saudáveis tratados com óleo de extrato de *Cannabis* (G1), SC+F saudáveis tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital (G2) e SF+P saudáveis tratados com fenobarbital associado a placebo (G3).

Para garantir estabilização sérica do fenobarbital quando do início dos demais tratamentos iniciou-se, previamente às demais terapias, o tratamento com a droga. Assim, os cães de G2/ SC+F e G3/SF+P foram tratados com 3,2 – 4,2 mg/kg de fenobarbital (Gardenal ®) por VO a cada 12 horas, dosagem de início da terapia próxima àquela sugerida por DE RISIO (2014): de 2 a 3 mg/kg a cada 12 horas. Após 14 dias, os oito cães foram submetidos a coleta de sangue para mensuração sérica do fenobarbital. Para tanto, utilizou-se mesmo método de coleta anteriormente citado para obtenção de aproximadamente 1,5 mL de sangue venoso, que foram acondicionados em tubo de coleta sem anticoagulante e imediatamente submetidos a separação do soro para a análise. Após garantia de que os níveis séricos de fenobarbital encontravam-se dentro da faixa terapêutica nos oito cães de G2/SC+F e G3/SF+P, os 12 animais foram submetidos também a avaliações clínicas de exame físico, neurológico, aferição de pressão arterial sistólica (PAS) e eletrocardiograma (ECG) com aquisição de frequência cardíaca média (FCM), além de coleta de sangue para realização de hemograma, perfil bioquímico hepático e renal. Os dados adquiridos foram considerados como T0 – dia anterior ao início dos tratamentos.

No dia seguinte, foram iniciadas todas as terapias. Os animais do G1(SC) passaram a receber óleo de extrato de *Cannabis*. Na primeira semana, foi utilizada dose de 2 gotas (ou 0,1 mL) para cada 10 kg de peso vivo (ou 0,01 mL por kg) a cada 12 horas. Esse volume compreendia a dosagem de 0,015 mg/kg de CBD e 0,0019 mg/kg de THC. A partir da terceira semana, os cães passaram a receber a dosagem completa: 4 gotas (ou 0,2 mL) do óleo para cada 10 kg de peso vivo (ou 0,02 mL por kg), o que correspondia a 0,03 mg/kg de CBD e 0,0038 mg/kg de THC, a cada 12 horas. Os animais do G2 (SC+F) e G3 (SF+P) continuaram recebendo fenobarbital na mesma dosagem e frequência de administração, agora associado ao óleo de extrato de *Cannabis* (G2 ou SC+F) ou à solução placebo (G3 ou SF+P). A dose do extrato de *Cannabis* empregada foi a mesma entre os grupos. A solução de TCM foi utilizada como placebo na mesma dosagem e frequência de administração do óleo de extrato de *Cannabis*. Por conta da praticidade, os tratamentos (fenobarbital, óleo de extrato de *Cannabis* e óleo de TCM) eram oferecidos junto a patê comercial (Colosso®). As administrações dos óleos e de fenobarbital eram espaçadas em, pelo menos, meia hora. Os animais eram medicados e avaliados duas vezes ao dia, por meio de preenchimento de ficha de acompanhamento de possíveis efeitos colaterais. Após 30 dias (T1) e 60 dias (T2) do início do período experimental (T0), os animais foram novamente submetidos a avaliação por exame físico, neurológico, aferição de PAS, ECG e FCM e coleta de sangue para realização de hemograma, perfil bioquímico hepático e renal e mensuração sérica do fenobarbital. Ao fim do período experimental, os tratamentos foram gradualmente descontinuados conforme sugerido para terapias com fitocanabinoides em cães por HARTSEL et al. (2019). Para tanto, realizou-se redução inicial de 50% da dose, com manutenção da nova dosagem por duas semanas seguida de suspensão da terapia. Posteriormente, todos os animais foram submetidos a adoção responsável.

**Quadro 5 – Fase 1: grupos experimentais e seus respectivos tratamentos.**

<b>Grupo (n=4)</b>	<b>Tratamento</b>
<b>G1/SC: Extrato de <i>Cannabis</i></b>	Cães saudáveis tratados com óleo de extrato de <i>Cannabis</i> na dose de 4 gotas (ou 0,2 mL) para cada 10 kg de peso vivo* - o que correspondia a 0,03 mg/kg de CBD e 0,0038 mg/kg de THC - a cada 12 horas por 60 dias.

<b>G2/SC+F: Extrato de <i>Cannabis</i> + fenobarbital</b>	Cães saudáveis tratados com óleo de extrato de <i>Cannabis</i> na dose de 4 gotas (ou 0,2mL) para cada 10 kg de peso vivo* - o que correspondia a 0,03 mg/kg de CBD e 0,0038 mg/kg de THC - a cada 12 horas + fenobarbital na dose indicada pela mensuração sérica prévia (3,2 – 4,2 mg/kg a cada 12 horas) por 60 dias.
<b>G3/SF+P: Fenobarbital + placebo</b>	Cães saudáveis tratados com fenobarbital na dose indicada pela mensuração sérica prévia (3,2 – 4,2 mg/kg a cada 12 horas) + placebo na dose de 4 gotas (ou 0,2 mL) para cada 10 kg de peso vivo* a cada 12 horas por 60 dias.

\*Dose estabelecida após realização de esquema de titulação (utilização de metade da dose por 14 dias).

**Tabela 1 – População canina estudada na fase 1 (cães saudáveis).** Todos os cães eram SRD, castrados, de idade superior a seis meses.

Identificação	Sexo	Peso (kg)	Tratamento*
1	Fêmea	24,0	10 gotas do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> a cada 12 horas
2	Fêmea	23,7	100 mg de fenobarbital a cada 12 horas + 10 gotas do óleo placebo a cada 12 horas
3	Macho	12,6	50 mg de fenobarbital a cada 12 horas + 5 gotas do óleo placebo a cada 12 horas
4	Fêmea	15,3	6 gotas do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> a cada 12 horas
5	Fêmea	17,0	7 gotas do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> a cada 12 horas
6	Macho	35,0	14 gotas do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> + 150 mg de fenobarbital a cada 12 horas
7	Fêmea	13,3	6 gotas do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> + 50 mg de fenobarbital a cada 12 horas
8	Fêmea	6,5	25 mg de fenobarbital a cada 12 horas + 3 gotas do óleo placebo a cada 12 horas

9	Fêmea	7,7	3 gotas do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> a cada 12 horas
10	Fêmea	12,3	50 mg de fenobarbital a cada 12 horas + 5 gotas do óleo placebo a cada 12 horas
11	Macho	6,4	2 gotas do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> + 25 mg de fenobarbital a cada 12 horas
12	Fêmea	7,7	3 gotas do óleo de extrato de <i>Cannabis</i> + 25 mg de fenobarbital a cada 12 horas

\* Dose completa de óleo de extrato de *Cannabis* (estabelecida após titulação): 0,03 mg/kg de CBD e 0,0038 mg/kg de THC

### 2.1.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram executadas utilizando-se o software estatístico R versão 4.0.2. Os gráficos exibidos foram criados utilizando-se os softwares R versão 4.0.2 e GraphPad Prism versão 8.4.3. Os resultados foram apresentados através de gráficos, tabelas e boxplots, em sua maioria como medianas e desvio padrão. Foi considerado intervalo de confiança 95%.

Nas variáveis obtidas em três tempos, os valores de T0 foram considerados os basais, enquanto T1 e T2 foram testados para avaliar o efeito dos tratamentos. Para tanto, tais variáveis (PAS, FCM, peso, TR, mensuração sérica do fenobarbital, número de eritrócitos, níveis de hemoglobina, volume globular, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, plaquetas, leucócitos totais, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, monócitos, atividade das enzimas AST, ALT e FA, níveis séricos de uréia e creatinina) foram submetidas ao teste de Kruskal Wallis. Naquelas em que foi constatada diferença estatística aplicou-se posteriormente o teste post-hoc de Dunn. Os registros de efeitos colaterais dos tratamentos foram somados em cada grupo para todo o período estudado e avaliados quanto a porcentagem de registro. Os exames de eletrocardiograma foram submetidos a análise descritiva (considerados normais ou alterados para a espécie).

## 2.2 FASE 2

### 2.2.1 SELEÇÃO DOS ANIMAIS

Para inclusão no estudo, os cães deveriam apresentar sintomatologia sugestiva de

epilepsias idiopáticas (nível 1 de confiança): histórico de apresentação recorrente de alterações paroxísticas compatíveis com a descrição de crises epiléticas generalizadas, com registro de filmagem de pelo menos um episódio; início dos eventos entre seis meses e seis anos de idade; exame neurológico normal e ausência de histórico de sinais indicativos de lesão prosencefálica em período interictal; ausência de comorbidades ou alterações em exames físicos ou complementares que justificassem a ocorrência de crises epiléticas (DE RISIO et al., 2015). Além disso, o cão deveria apresentar a doença há, no mínimo, dois anos; estar sendo tratado adequadamente com o fenobarbital há pelos menos quatro semanas - administrações a cada 12 horas e nível sérico entre 15 e 45 µg/mL (FARNBACH, 1984; SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1985; LEVITSKI e TREPANIER, 2000) - e ainda assim apresentar no mínimo uma crise epilética por mês com comprovação por registro de histórico de crises nos dois meses que antecederam o início dos tratamentos experimentais.

Tutores de cães epiléticos entraram em contato via *e-mail* demonstrando interesse em incluir seus animais no estudo após divulgação em redes sociais. Foram avaliados 17 cães, dos quais somente seis atenderam aos critérios de inclusão do estudo após realização de entrevista, análise de histórico e exames prévios, avaliação dos registros de crises epiléticas e realização de exames físico e neurológico. Os tutores dos cães selecionados foram instruídos a manter a terapia prévia com o fenobarbital e seguir registrando histórico detalhado de crises epiléticas de seus animais nos dois meses seguintes (para a determinação de frequência de crises pré-tratamentos). Além disso, estes tutores receberam uma cópia do resumo do estudo e do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Outra cópia dos documentos foi retida após assinatura pelos tutores e por uma testemunha.

### **2.2.2 POPULAÇÃO ESTUDADA**

O cão 1 era macho, SRD, de 12 anos de idade, castrado há no mínimo cinco anos, e pesava 10,2 kg. Desde os quatro anos de idade o animal apresentava alterações episódicas recorrentes, de duração de poucos minutos e compatíveis com a descrição de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas com envolvimento autonômico (salivação) e crises focais de mastigação - principalmente na presença de fatores desencadeantes específicos, como o som do liquidificador. Nos últimos seis meses, o cão vinha apresentando, em média, quatro crises epiléticas (principalmente focais) por mês. Nos dois meses que antecederam o tratamento, o animal apresentou média de 3,5 crises

epilépticas generalizadas por mês (quatro no primeiro mês e três no segundo mês). O animal era tratado com 50 mg de fenobarbital a cada 12 horas há mais de seis meses, com mensuração sérica em T0 de 30 µg/mL.

O cão 2 era macho, da raça Poodle, de sete anos de idade, inteiro, e pesava 4 kg. Desde os dois anos de idade o animal apresentava episódios compatíveis com a descrição de crises epilépticas generalizadas tônico-clônicas. Tinha histórico de duas internações por *status epilepticus*, a última tendo ocorrido quatro meses antes do início do tratamento experimental. Nos dois meses que antecederam o início da terapia experimental, o animal apresentou uma crise epiléptica generalizada por mês. Era tratado com 25 mg de fenobarbital a cada 12 horas, com mensuração sérica em T0 de 36 µg/mL.

O cão 3 era macho, da raça Dálmata, de quatro anos de idade, castrado desde filhote e pesava 29 kg. Desde os oito meses de idade o animal apresentava alterações episódicas de duração de poucos minutos compatíveis com a descrição de crises epilépticas generalizadas tônico-clônicas e atônicas. A tutora referia agitação pós-ictal frequente. O animal havia sido submetido a exame de tomografia computadorizada de encéfalo e coleta de líquido, ambos sem alteração. No último ano vinha apresentando frequência de dois a quatro episódios de crises epilépticas por mês. Nos dois meses que antecederam o tratamento experimental, o animal apresentou três crises epilépticas generalizadas por mês. Era tratado com 150 mg de fenobarbital a cada 12 horas, com mensuração sérica em T0 de 32 µg/mL.

O cão 4 era fêmea, da raça yorkshire, de oito anos de idade, inteira e pesava 5,4 kg. Desde um ano de idade o animal apresentava episódios compatíveis com a descrição de crises epilépticas generalizadas tônico-clônicas, sempre durante a noite. Nos seis meses que antecederam o início do tratamento experimental, o animal apresentou de um a dois episódios de crises epilépticas por mês. Nos dois meses anteriores o animal apresentou uma crise epiléptica generalizada por mês. Recebia 16 mg de fenobarbital a cada 12 horas, com mensuração sérica em T0 de 15 µg/mL.

O cão 5 era fêmea, da raça Yorkshire, de seis anos de idade, castrada desde filhote e pesava 4,7 kg. Desde os quatro anos de idade, o animal apresentava episódios compatíveis com a descrição de crises epilépticas generalizadas tônico-clônicas com envolvimento autonômico (micção) e crises epilépticas focais (tremor de cabeça). Tutoras referiam que os episódios ocorriam geralmente quando o animal encontrava-se em estado de sono leve. Além disso, observavam agitação pré-ictal e déficit visual pós-ictal. No último ano, vinha apresentando duas crises epilépticas por mês. Apresentava histórico de



internações por ocorrência de *status epilepticus* e crises em *cluster*, tendo a última ocorrido dois meses antes do início do tratamento experimental. Nos dois meses anteriores apresentou duas crises epilépticas generalizadas por mês. Recebia 20 mg de fenobarbital a cada 12 horas, com mensuração sérica em T0 de 16 µg/mL.

O cão 6 era macho, SRD, de oito anos de idade, castrado há mais de cinco anos e pesava 14,9 kg. Há 3 anos o animal vinha apresentando episódios recorrentes compatíveis com a descrição de crises epilépticas generalizadas tônico-clônicas, na frequência de pelo menos dois episódios por mês. Tutores referiam agitação pós-ictal. Nos dois meses que antecederam o tratamento experimental o animal apresentou média de 2,5 crises epilépticas generalizadas por mês (duas no primeiro mês e três no segundo mês). Era tratado com 50 mg de fenobarbital a cada 12 horas, com mensuração sérica em T0 de 19 µg/mL.

### **2.2.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTOS**

O estudo foi realizado no período de agosto de 2019 a março de 2020. Dois meses após a avaliação inicial para seleção dos animais, os tutores compareceram ao Hospital Veterinário da UFMG acompanhados de seus cães para avaliação dos seguintes parâmetros: levantamento de histórico completo (principalmente no que dizia respeito a frequência de crises epilépticas nos dois meses anteriores), exames físico e neurológico, aferição de pressão arterial sistólica, eletrocardiograma e coleta de sangue para realização de hemograma, perfil bioquímico hepático e renal e mensuração do fenobarbital sérico. Os dados obtidos foram considerados aqueles de T0 e os tutores foram instruídos a iniciar a terapia experimental no dia seguinte, caso autorizados por telefone.

O estudo foi inicialmente planejado em delineamento duplo-cego randomizado controlado, para comparar o efeito do óleo de extrato de *Cannabis* ao de solução placebo, ambos em associação ao fenobarbital, no controle de crises epilépticas. Por dificuldades práticas (não obtenção de oito cães que atendessem aos critérios de inclusão – número mínimo previamente determinado no delineamento estatístico), foi utilizado delineamento simples-cego, sem o número ideal de cães no grupo controle. Esperava-se que mais animais pudessem ser incluídos no estudo, principalmente no grupo controle, até a finalização do período experimental. Os seis cães foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos de tratamento. Após certificação de que todas as análises de T0

encontravam-se dentro da normalidade, os tutores foram contactados por telefone e as terapias experimentais foram iniciadas (um dia após as coletas de T0). Durante todo o período experimental os tratamentos com fenobarbital foram mantidos no esquema previamente utilizado (2,9 mg/kg – 6,2 mg/kg a cada 12 horas). Os animais do G4/EF+C ou ECF – epiléticos tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital - (n=4) passaram a receber óleo de extrato de *Cannabis* na prescrição de duas gotas (ou 0,1 mL) por cada 10 kg de peso vivo - o que correspondia a 0,015 mg/kg de CBD e 0,0019 mg/kg de THC – a cada 12 horas, associado ao fenobarbital nas duas primeiras semanas. Já na terceira semana, seguindo mesmo esquema de titulação realizado nos animais da fase 1, foi solicitado aumento da dosagem do extrato de *Cannabis* para quatro gotas (ou 0,2 mL) por cada 10 kg de peso vivo - o que correspondia a 0,03 mg/kg de CBD e 0,0038 mg/kg de THC - a cada 12 horas, ainda associado ao fenobarbital. Os animais do G5 ou EF+P – epiléticos tratados com placebo associado ao fenobarbital - (n=2) passaram a receber solução placebo (TCM) na prescrição de duas gotas (ou 0,1 mL) por cada 10 kg de peso vivo a cada 12 horas nas duas primeiras semanas, com aumento para quatro gotas (ou 0,2 mL) para cada 10 kg de peso vivo a cada 12 horas a partir da terceira semana, sempre associado ao fenobarbital. Devido a praticidade, foi solicitado que o produto administrado (extrato de *Cannabis* ou placebo) fosse oferecido junto a patê comercial destinado a cães, espaçado em pelo menos meia hora da administração do fenobarbital. Os tratamentos foram mantidos por 60 dias (Quadro 6).

**Quadro 6 – Fase 2: grupos experimentais e seus respectivos tratamentos.**

<b>Grupo</b>	<b>Tratamento</b>
<b>G4/EF+C (n=4): Extrato de <i>Cannabis</i> associado ao fenobarbital</b>	Cães epiléticos tratados com óleo de extrato de <i>Cannabis</i> na dose de 4 gotas (ou 0,2 mL) para cada 10 kg de peso vivo* a cada 12 horas, o que correspondia a 0,03 mg/kg de CBD e 0,0038 mg/kg de THC a cada 12 horas, associado ao fenobarbital previamente utilizado por 60 dias.
<b>G5/EF+P (n=2): Placebo associado ao fenobarbital</b>	Cães epiléticos tratados com placebo (TCM) na dose de 4 gotas (ou 0,2 mL) para cada 10 kg de peso vivo* a cada 12 horas associado ao fenobarbital previamente utilizado por 60 dias.

\* Prescrição estabelecida após realização de titulação (utilização de metade da dose por 14 dias)

**Tabela 2 – População canina estudada na fase 2 (cães epiléticos).**

Identificação	Sexo	Raça	Peso (kg)	Idade (anos)	Tratamento* associado ao fenobarbital (dosagem do fármaco previamente utilizada - T0)
1	Macho Castrado	SRD	10,2	12	4 gotas de placebo (TCM) a cada 12 horas
2	Macho Inteiro	Poodle	4,0	7	2 gotas de óleo de extrato de <i>Cannabis</i> a cada 12 horas
3	Macho Castrado	Dálmata	29,0	4	12 gotas de óleo de extrato de <i>Cannabis</i> a cada 12 horas
4	Fêmea Inteira	Yorkshire	5,4	8	2 gotas de óleo de extrato de <i>Cannabis</i> a cada 12 horas
5	Fêmea Castrada	Yorkshire	4,7	6	2 gotas de óleo de extrato de <i>Cannabis</i> a cada 12 horas
6	Macho Castrado	SRD	14,9	8	6 gotas de placebo (TCM) a cada 12 horas

\*Dose completa extrato de *Cannabis* (correspondente a 0,03 mg/kg de CBD e 0,0038 mg/kg de THC a cada 12 horas) e placebo após titulação inicial (utilização de metade da dose por 14 dias).

#### **2.2.4 ACOMPANHAMENTO E CONDUTA APÓS FIM DO PERÍODO EXPERIMENTAL**

Foram previamente marcadas duas datas de retorno: 30 dias (T1) e 60 dias (T2) após início da terapia experimental (T0) para acompanhamento de frequência de crises epiléticas, avaliação de efeitos colaterais e reavaliação de exame físico e neurológico, aferição de PAS, ECG e coleta de sangue para realização de hemograma, perfil bioquímico hepático e renal e mensuração do fenobarbital sérico.

Foi solicitado que os tutores mantivessem registro por escrito e se possível por filmagem das crises epiléticas dos cães. Observações menos objetivas como tipo de crise, presença de alterações pré ou pós-ictais, duração e gravidade dos episódios também deveriam ser registradas e filmadas sempre que possível. As crises epiléticas foram contabilizadas como dias de crise, independente da apresentação de crise única ou de mais episódios em 24 horas (MCGRATH et al., 2019). Além disso, foram consideradas apenas crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas por sua maior facilidade de reconhecimento (PACKER et al., 2015). Para cada animal, determinou-se frequência de crises epiléticas por mês antes e após terapias experimentais por meio da média das frequências de crises epiléticas por mês registradas nos dois meses anteriores e dois meses posteriores ao início dos tratamentos, conforme realizado em estudo que avaliou a utilização do CBD em cães epiléticos (MCGRATH et al., 2019). Cães que apresentassem redução mínima de 50% na frequência de crises epiléticas (média mensal ao fim do estudo) seriam considerados responsivos ao tratamento (DE RISIO e PLATT, 2014; BHATTI et al., 2015).

Solicitou-se também que os tutores mantivessem registro de alterações clínicas ou comportamentais para acompanhamento de possíveis efeitos colaterais das terapias. No momento de inclusão do estudo os tutores foram informados dos efeitos colaterais mais frequentemente relatados com esse tipo de terapia em cães (GAMBLE et al., 2018; KOGAN et al., 2018; MCGRATH et al. 2018; DE ÁLAVA, 2019; MCGRATH et al. 2019) e, a cada reavaliação, eram questionados quanto a ocorrência desses sinais.

Somente ao final do estudo os tutores foram informados do tratamento recebido por seu cão. Os tutores de cães tratados com placebo, se desejaram, receberam óleo de extrato de *Cannabis* para tratamento posterior de seus cães sob orientação veterinária nos 60 dias posteriores. Coube aos tutores de cães tratados com óleo de extrato de *Cannabis* determinar se o tratamento seria mantido ou gradualmente descontinuado, sob acompanhamento veterinário. Assim como realizado para os animais da fase 1, o

desmame do medicamento consistiu na redução inicial de 50% da dose, com manutenção da nova dosagem por duas semanas seguida de suspensão da terapia, conforme sugerido HARTSEL et al. (2019). Os tutores de cães tratados com óleo de extrato de *Cannabis* foram procurados 60 dias após o fim do período experimental para *follow up*.

### **2.2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

As análises estatísticas foram executadas utilizando-se o software estatístico R versão 4.0.2. Os gráficos exibidos foram criados utilizando-se os softwares R versão 4.0.2 e GraphPad Prism versão 8.4.3. Os resultados foram apresentados através de gráficos, tabelas e boxplots, em sua maioria como medianas e desvio padrão. Está sendo considerado intervalo de confiança 95%.

Nas variáveis obtidas em três tempos, os valores de T0 foram considerados os basais, enquanto T1 e T2 foram testados para avaliar o efeito dos tratamentos. Para tanto, tais variáveis (PAS, FCM, peso, TR, mensuração sérica do fenobarbital, número de eritrócitos, níveis de hemoglobina, volume globular, volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, plaquetas, leucócitos totais, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, monócitos, atividade das enzimas AST, ALT e FA, níveis séricos de uréia e creatinina) foram submetidas ao teste de Kruskal Wallis. Naquelas em que foi constatada diferença estatística aplicou-se posteriormente o teste post-hoc de Dunn. Os registros de efeitos colaterais dos tratamentos foram somados, em cada grupo para todo o período estudado e avaliados quanto a porcentagem de registro. Os exames de eletrocardiograma foram submetidos a análise descritiva (considerados normais ou alterados para a espécie). A frequência mensal de crises epiléticas previamente a instituição dos tratamentos experimentais foi determinada individualmente pelo registro dos episódios nos dois meses que antecederam o estudo. A média dos valores foi determinada individualmente e para os grupos G4/EF+C e G5/EF+P. A mudança na média de frequência mensal de crises epiléticas entre o início e fim do estudo foi comparada para G4/EF+C e G5/EF+P por meio do teste de Wilcoxon. Foram considerados como responsivos os animais que apresentaram redução em 50% na frequência de crises epiléticas. A proporção de cães considerados respondedores foi comparada entre G4/EF+C e G5/EF+P por meio do teste exato de Fisher.

## **2.3 AVALIAÇÕES HEMATOLÓGICAS**

### **2.3.1 HEMOGRAMA**

Os 1,5 mL de sangue colhidos em tubo com EDTA foram adicionados a contador eletrônico POCH- Roche para apresentação de resultados de níveis de hemoglobina – HB, número total de hemácias - RBC, plaquetas e leucócitos com seus diferenciais de linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e monócitos, volume globular – VG, e índices hematimétricos: volume corpuscular médio - VCM, hemoglobina corpuscular média - HCM e concentração de hemoglobina corpuscular média – CHCM.

### **2.3.2 PERFIL BIOQUÍMICO**

O sangue total coletado em tubo siliconizado sem anticoagulante foi centrifugado por oito minutos a 4.000 rotações por minuto (rpm) para separação do soro, que foi adicionado ao aparelho analisador bioquímico Cobas Mira Plus® para realização de método colorimétrico cinético com kits laboratoriais comerciais (Kovalent). Foram obtidos resultados de atividade sérica de aspartato aminotransferase - AST, alanina aminotransferase - ALT, fofastase alcalina – FA (para avaliação de bioquímica hepática) e concentrações séricas de uréia e creatinina (para avaliação de bioquímica renal).

### **2.3.3 MENSURAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DE FENOBARBITAL**

As amostras de soro dos animais tratados com fenobarbital (G2/SC+F, G3/SF+P, G4/EF+C e G5/EF+P), obtidas após centrifugação do sangue total colhido em T0, T1 e T2, foram imediatamente encaminhadas para laboratório comercial terceirizado para determinação dos níveis séricos do fármaco. A análise foi realizada por meio da técnica de quimioluminescência ou imunoensaio enzimático competitivo - metodologia previamente validada para cães (MUÑANA et al., 2015), por meio de kit comercial Immulite 2000 PHE e leitura no aparelho Immulite 2000. As amostras foram conservadas por no máximo algumas horas, já que análises foram sempre realizadas no mesmo dia da coleta de sangue.

## **2.4 AVALIAÇÕES RELACIONADAS AO SISTEMA CARDIOVASCULAR**

#### **2.4.1 AFERIÇÃO DE PAS**

Aferição de PAS foi obtida pelo método indireto de mensuração por meio de equipamento Doppler Veterinário de fluxo vascular marca DV 610V, MEDMEGA, segundo recomendações do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (ACVIM) (ACIERNO et al., 2018). Todas aferições foram realizadas pelo mesmo profissional treinado quando os cães se apresentavam calmos. Os cães foram mantidos em decúbito lateral sem contenção química e os manguitos posicionados no mesmo membro anterior em todas as monitorações. O critério de seleção do manguito foi individual a partir da representação da largura de 40% da medida da circunferência do membro. O Doppler de fluxo vascular, conectado ao esfigmomanômetro, adicionado a gel transdutor foi posicionado na região palmar metacarpiana próxima ao coxim para auscultação do pulso. O manguito foi inflado até valor superior àquele capaz de obliterar o sinal de pulso audível e, em seguida, lentamente desinflado. A pressão sistólica foi estabelecida no momento em que o sinal de pulso se tornou audível novamente. O valor de pressão arterial sistólica registrado foi adquirido pela média dos valores de cinco aquisições consecutivas, sendo desconsiderado o primeiro valor obtido.

#### **2.4.2 ECG**

Os ECGs foram realizados pelo mesmo avaliador experiente utilizando-se equipamento InCardio Duo 2.5.2 (InPulse Animal Health). Os animais foram examinados em decúbito lateral direito com a cabeça e pescoço apoiados na superfície da mesa e alinhados com a coluna torácica e lombar sem contenção química. Os eletrodos cliques de jacaré de derivações bipolares e unipolares foram posicionados sem tricotomia prévia nos membros torácicos (região da articulação úmero-rádio-ulnar) e pélvicos (região da articulação fêmuro-tíbio-patelar) conforme recomendações de SANTILLI et al. (2018). Para determinar bom contato com a pele, os eletrodos foram posteriormente banhados em álcool 70%. Os traçados eletrocardiográficos foram registrados na velocidade de 50 mm/s e sensibilidade ajustada (10 mm = 1mV) durante cinco minutos. Foram avaliadas seis derivações simultaneamente: D1, D2, D3, AVR, AVL, AVF.

#### **2.4.3 AFERIÇÃO DE FCM**

A FCM foi automaticamente determinada pelo *software* em que se realizou o ECG durante o período de avaliação do exame (cinco minutos).



**Figura 1 – Cão devidamente posicionado para realização de exame de eletrocardiograma.**

## **2.5 AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DO EXTRATO DE CANNABIS**

O lote do extrato de *Cannabis* utilizado teve seus níveis de CBD, CBDA, THC e THCA determinados pela técnica separação de compostos HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) realizada no equipamento Thermo Fisher Scientific Ultimate 3000 com injeção automática acoplado a um detector UV-Vis, controlado pelo software Chromeleon 7.2.9. A eluição foi monitorada e o cromatograma obtido, ambos a 220 nm (nanômetros). Foram utilizados padrões CBD, CBDA, THC e THCA da empresa Cerilliant. Os fitocanabinoides foram identificados por seus espectros em comparação aos padrões e pelos tempos de retenção característicos. A análise foi realizada pelo setor farmacêutico da fabricante.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.1 EXTRATO DE CANNABIS: COMPOSIÇÃO E DOSAGEM EMPREGADA**

Os níveis de CBD, CBDA, THC e THCA, determinados HPLC estão mostrados na Tabela 3. Tal análise se fez imprescindível, dada a grande variação na composição dos produtos derivados de *Cannabis* comercializados no Brasil e no exterior (RABER et al., 2015; GIL et al., 2016; DE AGUIAR, 2018; PAVLOVUC et al., 2018; WAKSHLAG et al. 2020). O uso da técnica de HPLC foi previamente validado para análise de teor de



fitocanabinoides em extratos de *Cannabis* comercializados no Brasil por DE AGUIAR (2018) e CARVALHO et al. (2020).

Outras análises não apresentadas no presente estudo como pesquisa de pesticidas, metais pesados e resíduos de solventes de extração, análises microbiológicas de presença de mofo, bactérias e fungos e determinação dos níveis de terpenos e de outros fitocanabinoides como canabinol (CBN) também são citadas como relevantes para certificação da qualidade dos produtos derivados da *Cannabis* (SELTENRICH, 2019; WAKSHLAG et al. 2020). Tais avaliações foram realizadas previamente para os extratos de *Cannabis* da empresa em laboratório terceirizado para fins de controle de qualidade interno e regulatório (ANVISA) tendo apresentado resultados satisfatórios – tanto é que foi deferida autorização para sua produção e comercialização. A realização deste tipo de avaliação lote a lote encontra-se atualmente em implementação para garantir conformidade à Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da ANVISA de número 327, de 9 de dezembro de 2019 (informação verbal). Tal prática permitirá regular a composição, qualidade e inocuidade dos produtos derivados da *Cannabis* disponíveis no mercado brasileiro.

**Tabela 3 – Composição de fitocanabinoides do lote do produto utilizado no estudo (frascos de 60 mL de extrato de *Cannabis* contendo 20% CBD e 4% THC diluído em óleo de TCM a 0,5%). Análise realizada por técnica de HPLC. Resultado disponibilizado pela fabricante.**

**Resultados**

<b>Substância</b>	<b>Concentração (mg/g de extrato)</b>	<b>Proporção (% do extrato)</b>	<b>Concentração (mg/mL de óleo)</b>
THCA	0,00	0,00	0,00
THC	39,8	3,98	0,199
CBDA	18,2	1,82	0,091
CBD	288,7	28,87	1,44
THC total	39,8	3,98	0,199
CBD total	306,9	30,69	1,5345

A análise revelou tratar-se de óleo predominante em CBD, na proporção aproximada de oito partes deste para uma parte de THC. Como é comum para esse tipo de avaliação, os níveis de THCA e CBDA foram contabilizados na concentração final de THC e CBD (RUPPEL et al., 2013), pois as substâncias são transformadas em sua forma descarboxilada após processamento ou armazenamento (RUSSO, 2011). Além disso, a quantificação das formas ácidas é interessante, uma vez que os compostos também podem apresentar propriedades terapêuticas (MECHOULAM, 2005; SULAK et al., 2017; RUSSO, 2018).

O referido extrato de *Cannabis* foi utilizado por tratar-se de produto nacional, barato, com garantia de qualidade, de acesso possível aos tutores após período experimental - se desejassem manter o tratamento de seus cães – e cujo cultivo e comercialização se encontrava em conformidade com a legislação brasileira (MPF, 2017). É importante ressaltar que não houve conflito de interesse. A fabricante do óleo

de extrato de *Cannabis* utilizado apenas doou o produto, não tendo influenciado qualquer outro aspecto da pesquisa

A dose empregada foi recomendada pela Associação Abrace Esperança de acordo com a experiência clínica de médicos veterinários que prescrevem o referido extrato de *Cannabis* para tratamento de cães epiléticos em sua rotina. Na primeira semana de terapia, utilizou-se 0,01 mL do produto por kg do animal, o que corresponde a 0,015 mg de CBD por kg e 0,0019 mg de THC por kg, a cada 12 horas. Já a partir da terceira semana, os cães passaram a receber 0,02 mL do produto por kg do animal, o correspondente a 0,03 mg de CBD por kg e 0,0038 mg de THC por kg, a cada 12 horas. Tal dosagem encontra-se dentro do intervalo referido como seguro para cães - de até 60 mg/kg de CBD e 19 mg/kg de THC (VAUGHN et al., 2020). No entanto, é bastante inferior àquelas utilizadas em estudos publicados até o momento. Estudos clínicos e relatos de caso em que se utilizou CBD isolado para tratamento de cães com osteoartrite e epilepsias utilizaram dosagens entre 0,5 mg/kg e 50 mg/kg do referido fitocanabinóide a cada 12 horas (GAMBLE et al., 2018; MCGRATH et al., 2019; MOGI e FUKUYAMA, 2019; VERRICO et al., 2020).

A presença de THC pode ser limitante para aceitação da terapia por parte dos tutores ou mesmo ao emprego de doses mais elevadas em cães, que parecem ser mais sensíveis aos efeitos psicoativos da substância por apresentarem maior densidade de receptores CB1 no encefálo (HERKENHAM et al., 1990; FITZGERALD et al., 2013). Por esse motivo, Raphael Mechoulam, referência na pesquisa envolvendo utilização medicinal da *Cannabis* há décadas, informou em troca de *e-mails* acreditar não haver motivos para emprego clínico em cães de extratos de *Cannabis* que apresentem THC em sua composição mesmo em doses mínimas, mas sim de isolados de CBD (MECHOULAM, 2019). Já HARTSEL et al. (2019) referiram observação de melhores efeitos terapêuticos com a utilização de produtos *full spectrum* em relação a isolados de CBD em alguns cães, principalmente no tratamento de dor crônica, anorexia e condições oncológicas.

Ainda, sabe-se que a utilização de produtos derivados da *Cannabis full spectrum* está relacionada com o emprego dosagens de fitocanabinoides inferiores para obtenção de uma mesma resposta terapêutica em relação aos isolados de CBD (PAMPLONA et al., 2018). Isso se dá provavelmente por conta da ação sinérgica de diferentes fitocompostos (efeito comitiva).

Segundo HARTSEL et al. (2019), as doses de fitocanabinoides empregadas em

estudos clínicos em cães parecem ser cinco a quarenta vezes superiores às referidas por tutores ou médicos veterinários como eficazes em tratamentos na espécie. Tais dosagens são, em sua maioria, determinadas por extrapolação de experimentos pré-clínicos com animais de laboratório ou da prática clínica em pacientes humanos (VAUGHN et al., 2020).

Dessa forma, há embasamento para a utilização no presente estudo de baixas doses de fitocanabinoides. Não se pode negar, no entanto, que a realização de estudo-piloto prévio, a utilização de doses mais altas de fitocanabinoides associada ao acompanhamento de seus níveis séricos compreendem pontos relevantes a serem incluídos nos próximos estudos envolvendo o uso de *Cannabis* em animais.

Para garantir que CBD e THC tenham sido empregados em níveis suficientes para gerar efeito clínico poderia ter-se realizado nos cães pesquisa de níveis séricos destas substâncias – o que não se procedeu pelas dificuldades técnicas e econômicas da execução deste tipo de análise no Brasil.

Pode haver variação de sensibilidade aos fitocanabinoides, relacionada ao tono endocanabinoide de cada paciente (GOLDBERGER et al., 2010). Assim, tanto a composição (proporção de fitocanabinoides) ideal do produto quanto a dose a ser empregada são determinadas individualmente por tentativa e erro na prática clínica (MACCALLUM e RUSSO, 2018). HARTSEL et al. (2019) sugeriram que se realize em cães esquema posológico de titulação semelhante ao indicado na medicina humana (“*start slow, go slow, stay low*”): início em doses baixas e aumento gradual de acordo com dose e efeito após, no mínimo, 14 dias de tratamento.

Estudos clínicos e pré-clínicos que avaliaram o uso medicinal de fitocanabinoides em diferentes espécies referiram observação de padrão de dose-resposta em U invertido, caracterizada por ganho de efeito com aumento da dose até um ponto em que houve deflexão de resposta (CALABRESE e RUBIO-CASILLAS, 2018; HARTSEL et al., 2019; LINARES et al., 2019). Desse modo, um estudo-piloto poderia ter sido realizado para garantir a segurança em cães de diferentes dosagens de fitocanabinoides com a utilização do referido extrato de *Cannabis*. Porém, não necessariamente a utilização de macrodoses estaria relacionada à melhor resposta clínica possível. Para avaliação do efeito clínico no controle de crises epilépticas o ideal seria realizar a titulação de dose individual em cada cão epiléptico (após garantia de um intervalo de segurança em estudo-piloto prévio). Por conta da dificuldade de realizar-se tratamentos individualizados em um contexto experimental em que se busca sempre a padronização das terapias,

empregou-se dose fixa no estudo, que, no entanto, só foi plenamente administrada após realização de esquema de titulação.

### **3.2 POPULAÇÃO CANINA ESTUDADA**

Quanto a idade da população estudada, na fase 1 foram incluídos animais com idade estimada superior a seis meses, enquanto a fase 2 incluiu cães com mediana de idade de sete anos e meio (valores entre quatro e 12 anos de idade). Tratou-se, assim, de população canina de idade bastante heterogênea.

Sabe-se que adolescentes expostos a *Cannabis* parecem apresentar risco elevado de desenvolvimento de transtornos crônicos de psicose – seres humanos (KONINGS et al., 2008). Acredita-se que o sistema endocanabinoide tenha papel importante no processo de poda neuronal (maturação e refinamento de sinapses) que ocorre nesse período, e que a ação de fitocanabinoides exógenos - principalmente o THC - possa desorganizar esse mecanismo (BOSSONG e NIESINK, 2010). Em animais, foi demonstrado que a administração de THC em ratos jovens se relacionou a efeitos comportamentais mais graves do que em ratos maduros (STIGLICK e KALANT, 1985). Assim, postula-se que a exposição a *Cannabis* possa ter efeitos distintos de acordo com o estado de maturação cerebral do indivíduo (SCALLET, 1991), podendo interferir a longo prazo em funções diversas como plasticidade, comportamento, aprendizado e memória (HEIFETS e CASTILLO, 2009).

As fases de desenvolvimento cerebral do cão não são bem conhecidas, porém acredita-se que a poda neuronal ocorra na espécie aproximadamente entre dois e quatro meses de vida (WATSON et al., 2006; SEPPALA et al., 2011). Dessa forma, a utilização de produtos a base de *Cannabis* em cães com idade superior a seis meses teria menor possibilidade de interferir nesse processo. Ainda assim, o acompanhamento dos animais a longo prazo, a realização de estudos com padronização por idade e a execução de avaliações relacionadas a comportamento, aprendizado e memória poderiam permitir mensurar de maneira objetiva o efeito dos tratamentos com fitocanabinoides sobre a cognição de cães em diferentes etapas de desenvolvimento neuronal.

Para inclusão na fase 2 os animais deveriam apresentar suspeita diagnóstica de epilepsias idiopáticas, dada por apresentação recorrente de alterações paroxísticas de semiologia semelhante a crise epiléptica generalizada ou focal (com comprovação por

filmagem de pelo menos um episódio), com início dos episódios entre seis meses e seis anos de idade, após exclusão de possíveis causas extracranianas e intracranianas (por meio de exames físico, neurológico e complementares) (DE RISIO et al., 2015). A manifestação recorrente de crises epiléticas é a principal característica clínica das epilepsias (FISHER et al., 2017). O EEG é o exame considerado padrão-ouro para diagnóstico de crises epiléticas em cães e seres humanos (BERENDT et al., 1999). No entanto, o método é pouco difundido na medicina veterinária (BRAUER et al., 2012). Assim, segundo PACKER et al. (2015), o diagnóstico de crise epilética em cães é basicamente clínico, com reconhecimento de sinais clássicos (apresentação paroxística de duração de segundos a poucos minutos com manifestação estereotipada, possível observação de sinais pré ou pós-ictais, ocorrência dos episódios geralmente com o animal calmo ou em sono leve, possível presença de sinais autonômicos, envolvimento comum da musculatura orofacial e etc) e exclusão de diagnósticos diferenciais. Tem se tornado frequente a filmagem dos episódios para análise pelo médico veterinário (PRESTON et al., 2013), o que pode permitir melhor avaliação dos eventos.

O porte e peso dos animais foi variável, com mediana de peso de 12,45 kg (valor mínimo de 3,9 kg e valor máximo de 35,0 kg). Especificamente quanto as raças estudadas, foram incluídos cães SRD, Yorkshire, Poodle e Dálmata. Nenhum dos animais estudados pertencia a raça com alta predisposição a apresentar epilepsias farmacorresistentes (PACKER et al., 2014). Relata-se predisposição genética racial para epilepsias idiopáticas dada pela observação de incidência superior a 2% em diversas raças, dentre elas Poodle e Dálmata (HULSMEYER et al., 2015). Não há confirmação de herança genética para epilepsias idiopáticas na raça Yorkshire. Na verdade, ao lidar com cães dessa raça com histórico de crises epiléticas recorrentes, o médico veterinário deve sempre pensar em descartar causas primárias de origem metabólica (como *shunt* portossistêmico, por exemplo) ou estrutural (como hidrocefalia, meningoencefalites inflamatórias/infecciosas ou neoplasias, por exemplo) (BOLLINGER-SCHMITZ e KLINE, 2000), especialmente se o animal apresentar alterações ao exame neurológico. Sabe-se que ainda que não haja relato de herança genética pode-se estabelecer diagnóstico de epilepsias idiopáticas de origem desconhecida após exclusão de possíveis causas estruturais, metabólicas ou tóxicas (MARIANI, 2013) em outras raças ou mesmo em cães SRD (JAGGY e BERNARDINI, 1998; PAKOZDY et al., 2008; AIELLO et al., 2012).

Os critérios para inclusão no presente estudo estavam de acordo com as recomendações do consenso em epilepsia veterinária para diagnóstico de epilepsias

idiopáticas (DE RISIO et al., 2015). Assim, não foram pré-requisitos a realização de testes específicos para descartar as referidas condições, como ultrassonografia abdominal, mensuração de bilirrubinas, ultrassonografia transcraniana, tomografia computadorizada ou ressonância magnética de encéfalo e avaliação do líquido cerebrospinal. Porém, o longo histórico de recorrência de crises epiléticas sem o desenvolvimento de alterações clínicas, neurológicas ou laboratoriais torna bastante improvável a presença de doença primária metabólica - como *shunt* portossistêmico (GREENHALGH et al., 2010) ou estrutural – como meningoencefalites inflamatórias (TIPOLD et al., 1993) nos cães estudados.

### **3.3 DELINEAMENTO DO ESTUDO**

Efeito placebo é caracterizado por melhora dos sintomas em resposta a intervenções médicas inertes para a condição em questão, tendo sido descrito em seres humanos (TEIXEIRA, 2009) e animais (MCMILLAN, 1999; JAEGER et al., 2005; MALEK et al., 2012; TALBOT et al., 2013; GRUEN et al., 2017). MUÑANA et al. (2010) referiram observação de resposta importante a tratamentos placebo, caracterizada por redução superior a 50% na frequência de crises epiléticas em três estudos duplo-cego randomizados controlados que pretendiam avaliar a eficácia de diferentes tratamentos em cães epiléticos. MCMILLAN (1999) e MUÑANA et al. (2010) revisaram diversas hipóteses que tentaram justificar a observação desse efeito em cães, dentre elas: influência da expectativa do tutor e do pesquisador a respeito da terapia e necessidade de interpretação de parâmetros subjetivos como intensidade de manifestações clínicas; maior aderência ao tratamento quando da participação de estudos clínicos, inclusive quanto a administração de fármacos previamente prescritos; e assistência veterinária de melhor qualidade durante a execução das pesquisas.

A utilização de delineamento duplo-cego randomizado controlado visa avaliar ação terapêutica de determinada conduta minimizando-se o viés do efeito placebo, sendo considerado padrão ouro ou de maior qualidade de evidência para estudos clínicos como a fase 2 do presente estudo (DOS REIS et al., 2008). Além disso, a utilização de implante de eletrodos de avaliação contínua de traçados de EEG ou mesmo a realização pontual desse exame poderia trazer maior objetividade na avaliação de resposta a terapia anti-convulsivante testada (SIVAKUMAR et al., 2017) reduzindo, inclusive, a influência do efeito placebo.

No presente estudo, o extrato obtido após processamento laboratorial das inflorescências e frutos de *Cannabis* foi diluído em TCM para elaboração do produto utilizado. Assim como em outros estudos controlados que também pretenderam avaliar efeito da adição de fitocanabinoides à terapia convencional no controle de crises epiléticas, empregou-se como solução placebo (fase 2) o óleo utilizado na diluição do produto testado (DEVINSKY et al., 2017; DEVINSKY et al., 2018b; THIELE et al., 2018; MCGRATH et al., 2019;). A substância também foi empregada como controle negativo (ou sham) na fase 1 do estudo.

Sabe-se que a cetose relacionada a estado de jejum (LIVINGSTON, 1954; WILDER, 1921) ou ao consumo de dietas ricas em gorduras e pobres em carboidratos (MASINO e RHO, 2019) contribui para o controle de crises epiléticas por meio de complexos mecanismos. Os triglicérides de ácidos octanoicos e decanoicos (TCM) apresentam bom efeito cetogênico após absorção gastrointestinal em seres humanos (SILLS et al., 1986) e cães (PUCHOWICZ et al., 2000). A adição de doses elevadas dessas substâncias à dieta contribuiu para o controle de crises epiléticas em cães em diversos estudos clínicos (LAW et al., 2015; BERK et al., 2018; MOLINA et al., 2020). Além disso, postula-se que o consumo frequente de TCM possa estar relacionado a efeitos terapêuticos de auxílio para perda de peso (ST-ONGE et al., 2008), proteção cardiovascular (IEMITSU et al., 2008) e ação antioxidante (LI et al., 2015). No entanto, os referidos estudos empregaram o TCM como importante fonte calórica para demonstração desses efeitos, enquanto no presente estudo os animais fizeram uso de baixas doses da substância (0,02 mL por kg). Assim, dificilmente a dose empregada seria suficiente para observação de ação terapêutica e, ainda que houvesse algum efeito, este deveria se manifestar igualmente nos diferentes grupos experimentais. De fato, não observou-se resposta quanto a controle de crises epiléticas (dada por redução de 50% na frequência dos episódios) com a utilização da solução placebo em nenhum dos animais.

Estudos em cães (MCGRATH et al., 2019) e seres humanos (GASTON et al., 2017) com epilepsias não indicaram alteração relevante nos níveis séricos de fenobarbital, brometo de potássio e/ou levetiracetam após associação de CBD. Tal análise não foi realizada para o THC e outros fitocomponentes da *Cannabis*. Acredita-se que haja pouco potencial de interação dessas substâncias com o brometo de potássio e levetiracetam - fármacos que praticamente não se ligam a proteínas plasmáticas e apresentam metabolismo hepático mínimo (WALLACE e BRODIE, 1939; BENEDETTI et al., 2004; DE RISIO e PLATT, 2014; BHATTI et al., 2015). Porém, não se pode descartar essa



possibilidade. Assim, seria necessário utilizar diferentes grupos experimentais e aumentar o número de animais estudados ao incluir cães tratados com essas drogas. Por isso o presente estudo avaliou os efeitos da associação do óleo de extrato de *Cannabis* exclusivamente em cães tratados com o fenobarbital em monoterapia.

A princípio planejava-se incluir somente animais que apresentassem no mínimo duas crises epiléticas por mês, conforme realizado por MCGRATH et al. (2019). Após revisão de dados clínicos dos pacientes acompanhados pelo setor de neurologia do Hospital Veterinário da UFMG, observou-se um número mínimo de animais que atendiam a ambos os critérios de inclusão simultaneamente (duas crises por mês + tratamento em monoterapia com fenobarbital). Aparentemente tutores de cães epiléticos tendem a considerar aceitável a ocorrência de até uma crise epilética a cada três meses (CHANG et al.; 2006). A realização de eutanásia em pacientes que não apresentam controle adequado dos episódios é relativamente frequente e parece ser o principal fator responsável pela menor expectativa de vida desses animais (BERENDT et al., 2007; HULLSMEYER et al., 2010; GULLOV et al., 2012). Assim, é comum a associação de segunda linha de medicamento anti-criises (frequentemente brometo de potássio ou levetiracetam) ao lidar com cão tratado adequadamente com o fenobarbital, mas que continue apresentando dois episódios de crises epiléticas por mês (POTSCHKA et al., 2015) – motivo pelo qual não foi possível atender a ambos os critérios de inclusão inicialmente propostos e optou-se por avaliar cães tratados adequadamente com o fenobarbital em monoterapia e que, ainda assim, apresentassem no mínimo uma crise epilética por mês.

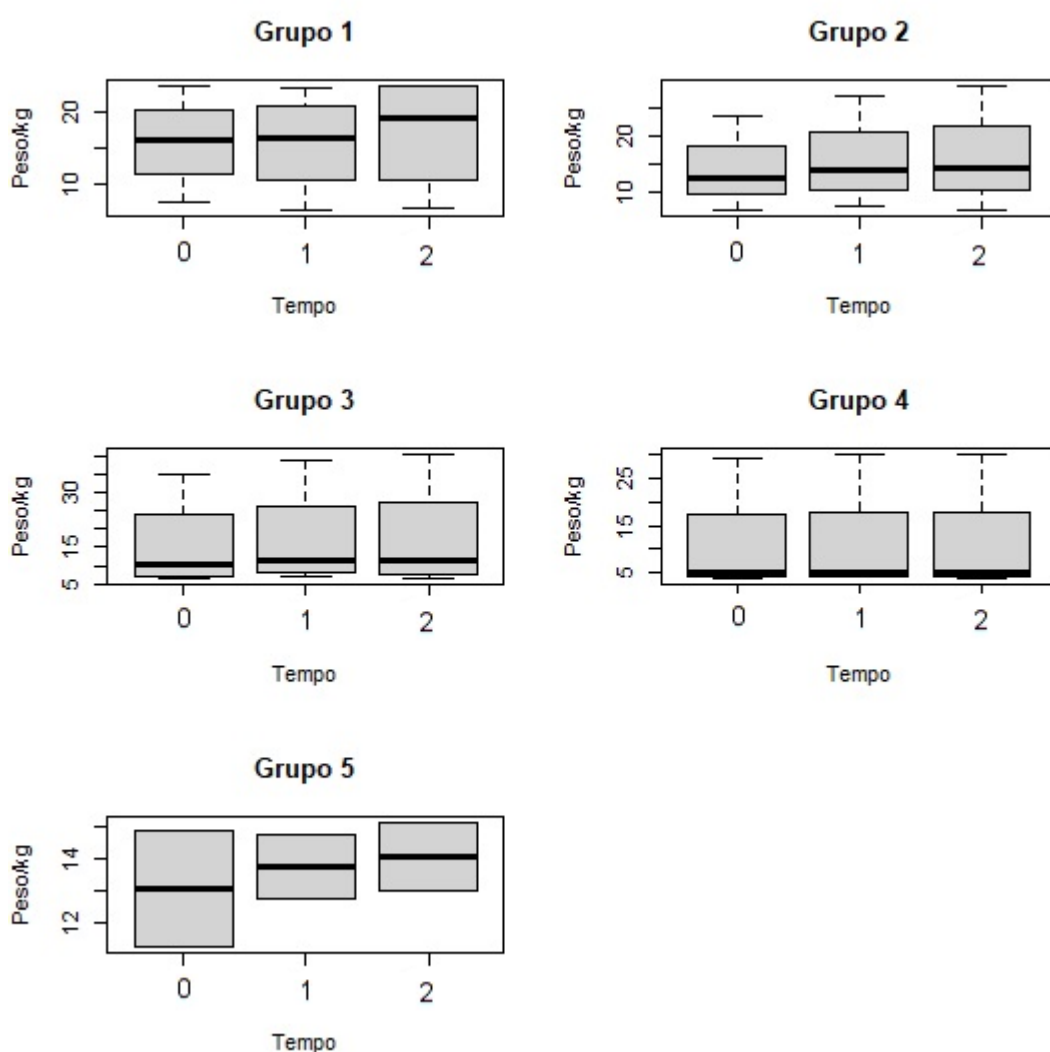
Estudos que avaliaram intervenções terapêuticas em epilepsias consideraram como responsivos os pacientes que apresentavam redução de no mínimo 50% na frequência de crises epiléticas (PERUCCA, 1997; DEVINSKY et al., 2017; MCGRATH et al., 2019). Dessa forma, os cães incluídos no estudo deveriam ser tratados e acompanhados por, no mínimo, dois meses para observação de possível efeito terapêutico, já que apresentavam uma crise epilética por mês. Os conceitos de ausência de crises epiléticas por no mínimo três meses (KRUMHOLZ, 2003) ou obtenção de período interictal três vezes superior (POTSCHKA et al., 2015) também são considerados indicadores de sucesso terapêutico. Sabe-se ainda que, assim como em outras doenças crônicas, as epilepsias tendem a apresentar períodos de piora - em que o tutor está mais propenso a procurar por métodos alternativos como terapias experimentais - seguidos de melhora independente da utilização de qualquer tratamento - o que pode ser

erroneamente interpretado como resultado positivo da terapia avaliada (MORTON e TORGERSON, 2005). Assim, avaliações mais longas, de no mínimo três meses, propiciariam a obtenção de dados de mais qualidade ao se mensurar efeito clínico da associação do óleo de extrato de *Cannabis* ao tratamento de cães epiléticos.

### 3.4 PARÂMETROS AVALIADOS NA MONITORIZAÇÃO CLÍNICA DOS ANIMAIS

#### 3.4.1 PESO

A instituição dos tratamentos experimentais não determinou alteração significativa de peso nos animais durante o período avaliado (Figura 2).



**Figura 2- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvio-padrão) de peso (kg) dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação. Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis não foi detectada diferença**

estatística ( $p>0,05$ ) nos diferentes tempos. G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.

Quanto a manutenção do peso corporal, o sistema endocanabinoide parece atuar, assim como para outras funções, no sentido pró-homeostase (estimulando o apetite e a gliconeogênese após período de jejum ou favorecendo a saciedade após alimentação, por exemplo) (DI MARZO e DESPRÉS, 2009). Alterações do tono endocanabinoide podem estar relacionadas a desordens metabólicas crônicas, como diabetes tipo 2 (DE FONSECA, 2004; DI MARZO et al., 2011).

Alguns estudos observaram relação inversa entre o consumo frequente de *Cannabis* e ocorrência de obesidade (PENNER et al., 2013; ALSHAARAWY e ANTHONY, 2019). É sabido que o consumo de pequenas doses de THC pode determinar efeito orexigênico (ABEL, 1971; WILLIAMS et al., 1998) - popularmente conhecido como “larica”-, enquanto o emprego de altas doses da substância pode estar relacionada a ação anorexigênica em estudos pré-clínicos (SOFIA e KNOBLOCH, 1976).

As substâncias OEA (canabimimético) e rimonabant (antagonista/agonista inverso de receptores CB1) têm demonstrado efeito relevante de auxílio na perda de peso por indução de saciedade em estudos pré-clínicos ou clínicos (RODRIGUEZ DE FONSECA et al., 2001 ; MOREIRA e CRIPPA, 2009; GAETANI et al., 2010). Além disso, a *Cannabis* tem sido indicada em alguns países como parte do arsenal terapêutico em pacientes oncológicos por demonstrar efeito clínico importante de redução de anorexia e náusea induzidas por quimioterapia (ABRAMS, 2016).

Em concordância com os achados citados, outros estudos clínicos/relatos de caso que avaliaram a utilização de fitocanabinoides em cães (CBD isolado ou associado ao THC) não citaram observação de alteração no peso dos animais (GAMBLE et al., 2018; MOGI e FUKUYAMA, 2018; DE ÁLAVA, 2019; MCGRATH et al. 2019).

Quanto a possíveis efeitos das demais substâncias utilizadas sobre a variável, a administração de fenobarbital em cães é sabidamente relacionada a polifagia - provavelmente devido a supressão de atividade do centro de saciedade no hipotálamo – com conseqüente ganho de peso (DE RISIO e PLATT, 2014), enquanto o consumo frequente de TCM pode estar relacionado a perda (MUMME e STONEHOUSE, 2015) ou ganho de peso (HALL e JEWELL, 2012). A administração das substâncias não se

relacionou, no entanto, a alteração significativa no peso dos animais.

Sabe-se ainda que o sistema endocanabinoide exerce influência sobre a manutenção do peso corporal por meio de outros mecanismos complexos que envolvem sensibilidade a insulina, metabolismo do tecido adiposo, atividade pancreática, digestão, absorção e transformação de nutrientes (PACHER et al., 2006; PAGOTTO et al., 2006; SANGER, 2007; HORN et al., 2018). Os indícios surgiram a partir da observação de que o consumo de *Cannabis* (GREENBERG et al., 1976) ou alteração experimental da atividade de receptores CB1 (COTA et al., 2003; RAVINET-TRILLOU et al., 2003; RAVINET-TRILLOU et al., 2004; OSEI-HYIAMAN et al., 2005) poderiam estar relacionados a alterações no peso sem correlação direta com a ingestão calórica.

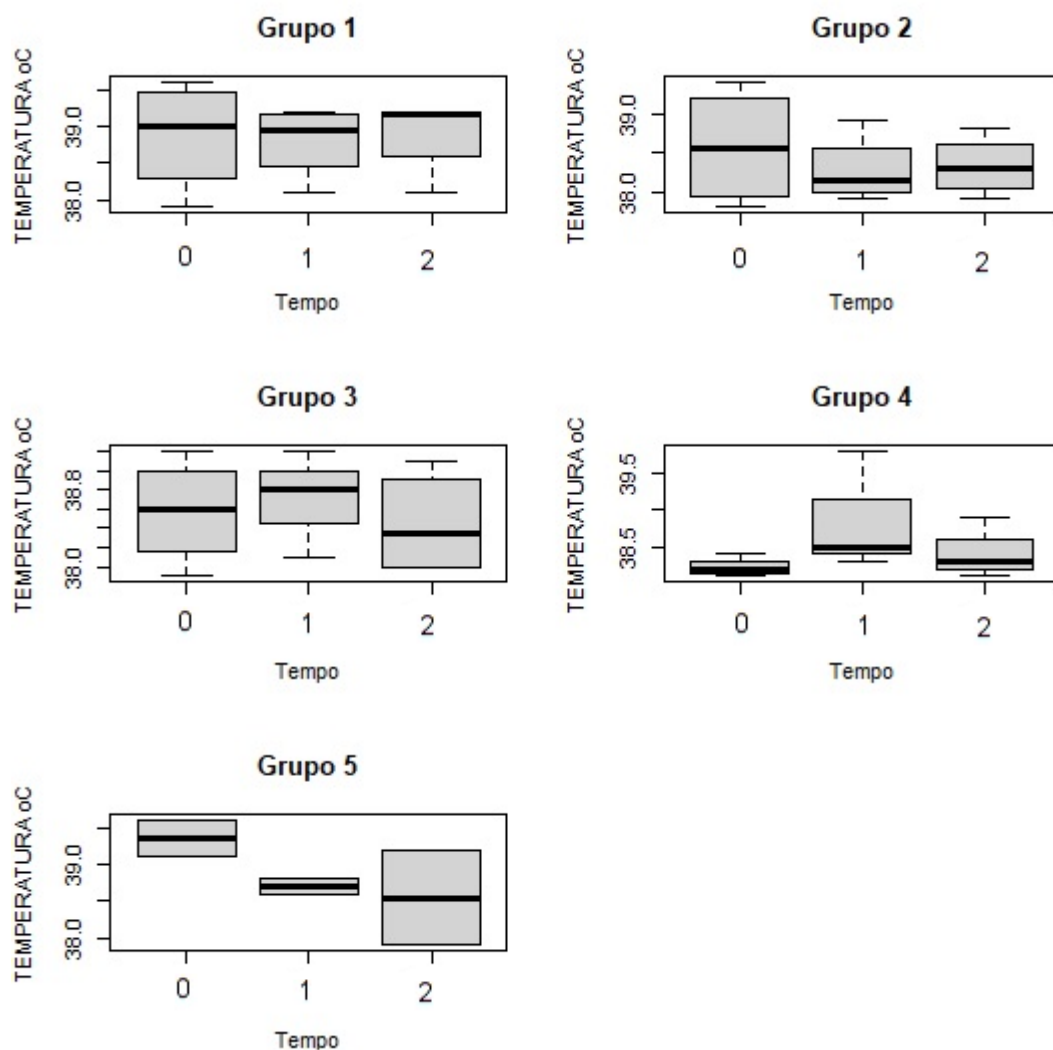
Registrou-se episódio de hipoglicemia (51 mg/dL) em um dos cães epiléticos tratados com o óleo de extrato de *Cannabis* (G4/EF+C) na primeira semana de tratamento. O animal não apresentava histórico recente de anorexia, diarreia, vômito ou qualquer alteração em sua rotina alimentar. Na ocasião, o animal foi atendido para reavaliação com a queixa de prostração após um rápido episódio de crise epilética generalizada tônico-clônica ocorrido poucas horas antes. A glicemia foi aferida com aparelho glicosímetro portátil após coleta de sangue por meio de punção da veia cefálica. Após alimentação realizou-se nova medição, que apontou valor normal para a espécie (104 mg/dL). O referido animal tinha mensurações de glicemia em jejum anteriores ao tratamento experimental com valores dentro da normalidade, porém sempre próximos ao limite inferior: a primeira realizada há dois anos como parte de investigação diagnóstica para a causa das crises epiléticas com valor de 68 mg/dL, e a segunda realizada há dois meses, quando animal foi internado devido a ocorrência de crises epiléticas em *cluster*, de valor 71 mg/dL. Posteriormente foram realizadas novas mensurações a cada 15 dias para acompanhamento, em que ainda foram observados resultados discretamente reduzidos ou no limite inferior para a espécie (69 mg/dL, 61 mg/dL, 63 mg/dL) (IDOWU E HEADING, 2018). Foram mensurados nível de insulina (21,61 µUI/mL) e razão insulina:glicemia (3,68), ambos os resultados apresentando-se dentro da normalidade para a espécie (GOUTAL et al., 2012). Além disso, foi realizado exame de ultrassonografia abdominal (ROBBEN et al., 2005), em que não observou-se qualquer alteração estrutural. O animal não apresentou mais episódios, mantendo-se clinicamente bem, se alimentando normalmente, com controle adequado das crises epiléticas. Por esse motivo os tutores preferiram não retirar o animal do estudo. Os demais tutores não apresentaram queixa semelhante.

Especificamente quanto ao efeito sobre a glicemia, após ocorrência de crise epiléptica pode-se observar inicialmente hipoglicemia – principalmente por aumento do consumo energético cerebral e muscular nas crises epilépticas generalizadas - seguida de hiperglicemia – sobretudo relacionada a liberação de catecolaminas e corticosteroides (DE RISIO e PLATT, 2014). Acredita-se que a ativação do sistema endocanabinoide (determinada fisiologicamente ou pela administração de fitocanabinoides) possa interferir no metabolismo de glicose gerando tendência à hipo ou hiperglicemia por meio de modulação da glicogênese (EL-SOUROGY et al., 1966) e da glicosíntese (MATIAS et al., 2006; LEVENDAL et al., 2012; NAKATA e YADA, 2012) e atividade da insulina nos tecidos (LIU et al., 2012), o que, no entanto, não foi observado no referido animal. Além disso, o valor de glicemia em jejum citado não diferiu tanto das mensurações prévias ao tratamento experimental, que sempre demonstravam tendência a se manter no limite inferior. Hipoglicemia não é um relato frequente nas intoxicações por *Cannabis* em cães (FITZGERALD et al., 2013; BRUTLAG e HOMMERDING, 2018; BATES, 2020). A condição não foi relatada em estudos e relatos de caso em que se utilizaram fitocanabinoides em cães (GAMBLE et al., 2018; MCGRATH et al. 2018; DE ÁLAVA, 2019; MCGRATH et al. 2019; VAUGHN et al., 2020; VERRICO et al., 2020).

A mensuração de glicemia não foi utilizada como pré-requisito para inclusão dos animais no estudo ou como exame de rotina no monitoramento dos cães. Assim, é difícil afirmar qual a relevância da discreta hipoglicemia pontualmente observada nesse animal, se estava ou não relacionada ao tratamento com óleo de extrato de *Cannabis* e, ainda, se outros animais do estudo apresentaram a mesma condição. Sugere-se, assim, que a realização de tal análise poderia ter sido interessante para avaliação de possível efeito do tratamento com óleo de extrato de *Cannabis* sobre o metabolismo da glicose nos cães.

#### **3.4.2 TEMPERATURA CORPÓREA**

Em nenhum momento houve registro de temperatura retal fora do intervalo de referência para a espécie (entre 37,8 °C e 39,6 °C) (MILLER, 2005; TAYLOR, 2005). Além disso, não foi observada alteração significativa na temperatura corporal dos animais com a instituição das terapias experimentais (Figura 3).



**Figura 3- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvio-padrão) de temperatura retal (°C) dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis não foi detectada diferença estatística ( $p > 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos experimentais (G1  $p = 0,87$ , G2  $p = 0,88$ , G3  $p = 0,57$ , G4  $p = 0,12$ , G5  $p = 0,36$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.

Acredita-se que o sistema endocanabinoide participe do controle da temperatura corpórea principalmente, mas não exclusivamente, pela ativação de receptores CB1 na região anterior do hipotálamo (RAWS e BENAMAR, 2011). Postula-se que as respostas de hipomotilidade e hipotermia classicamente relatadas com administração de THC (PERTWEE e TAVENDALE, 1977; FENNESSY e TAYLOR, 1997) e de outros agonistas canabinoides endógenos (COSTA et al., 2005) ou exógenos (COMPTON et al.,

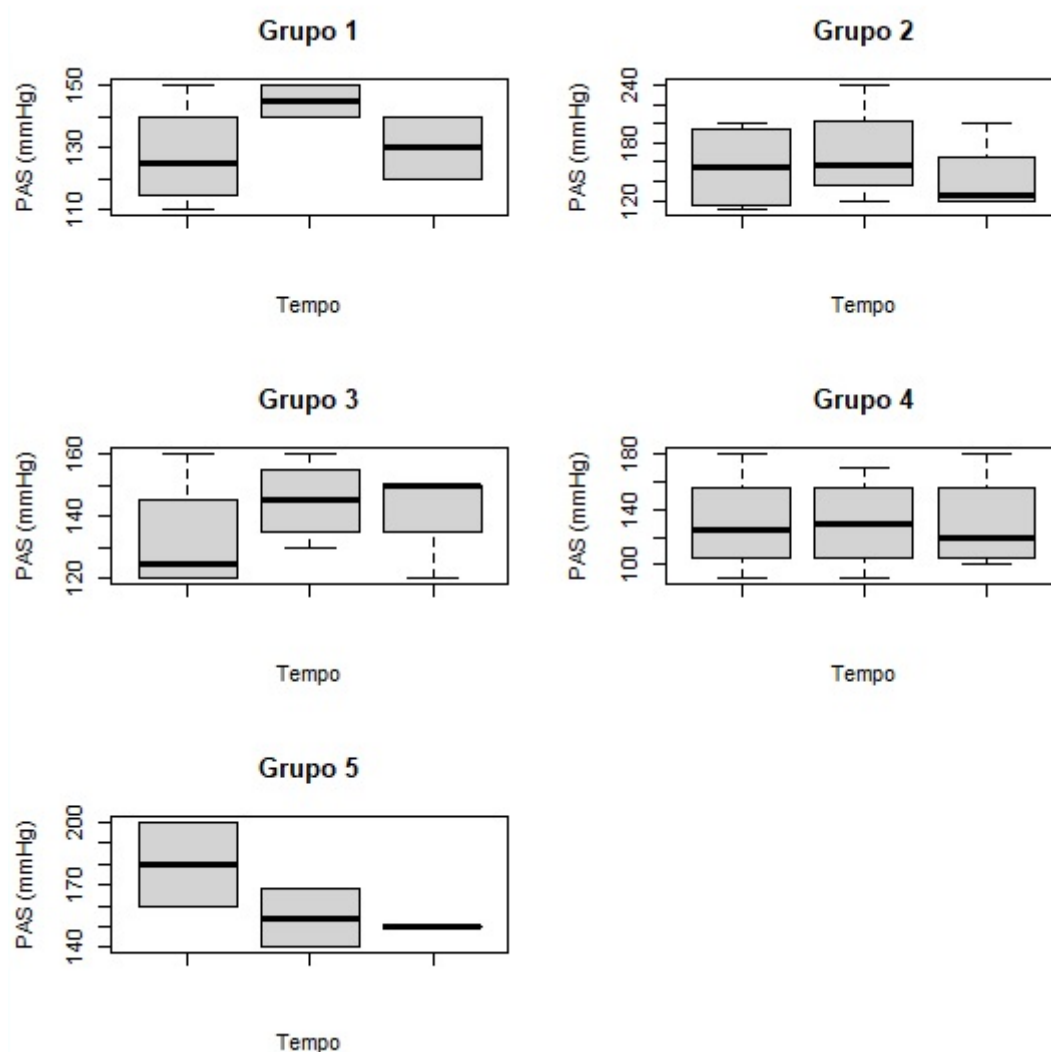
1992) estejam relacionadas a mecanismos evolutivos de conservação de energia em períodos de pouca disponibilidade de alimento, fisiologicamente modulados pelo sistema endocanabinoide (KUNOS et al., 2008). A hipotermia parece estar relacionada a redução da produção de calor aguda (de duração de, no máximo, poucas horas) e dose-dependente (FITTON e PERTWEE, 1982). De fato, há registros do emprego da *Cannabis* como agente antipirético desde o século X (LOZANO, 2001). Ainda, há indícios de que a planta possa exercer efeito bifásico dose-dependente sobre o controle da temperatura, com macrodoses relacionadas a hipotermia e microdoses relacionadas a hipertermia (PERTWEE, 1985).

MCGRATH et al. (2018) observaram hipertermia transitória em um dos 30 cães tratados com produtos predominantes em CBD (creme transdermal, cápsula ou óleo). Já hipotermia é sinal frequentemente relatado em cães intoxicados por *Cannabis* (THOMPSON et al, 1973; FITZGERALD et al., 2013) ou canabinoides sintéticos (KELMER et al., 2019). VAUGHN et al. (2020) referiram observação de hipotermia com a administração de doses mais elevadas de fitocanabinoides (3 mg/kg de CBD e 2 mg/kg de THC) em cães tratados com óleos predominantes em THC, mas não nos animais que receberam formulações predominantes em CBD. Os demais estudos clínicos/relatos de caso que avaliaram a utilização de fitocanabinoides em cães (CBD isolado ou associado ao THC) não citaram realização de aferição de temperatura na rotina de avaliação dos animais tratados (GAMBLE et al., 2018; MOGI e FUKUYAMA, 2018; DE ÁLAVA, 2019; MCGRATH et al. 2019).

Quanto ao possível efeito da administração das demais substâncias sobre a temperatura corporal, o emprego de altas doses de barbitúricos pode estar relacionado a hipotermia, sedação e depressão respiratória por redução da atividade metabólica encefálica (KIYATKIN e BROWN, 2005). Tal condição, no entanto, não é relatada para a utilização de doses de manutenção para controle de crises epiléticas em cães. Não há consenso quanto a relevância da influência da administração de TCM sobre a temperatura corporal: há estudos que indicaram que não há interferência (MASCIOLI et al., 1991), enquanto outros sugeriram observação de tendência de aumento da temperatura corporal com a utilização da substância (TELLIEZ et al., 1998). Não foi observada alteração significativa na temperatura corporal dos animais que receberam fenobarbital e/ou TCM.

### 3.4.3 AVALIAÇÕES RELACIONADAS AO SISTEMA CARDIOVASCULAR

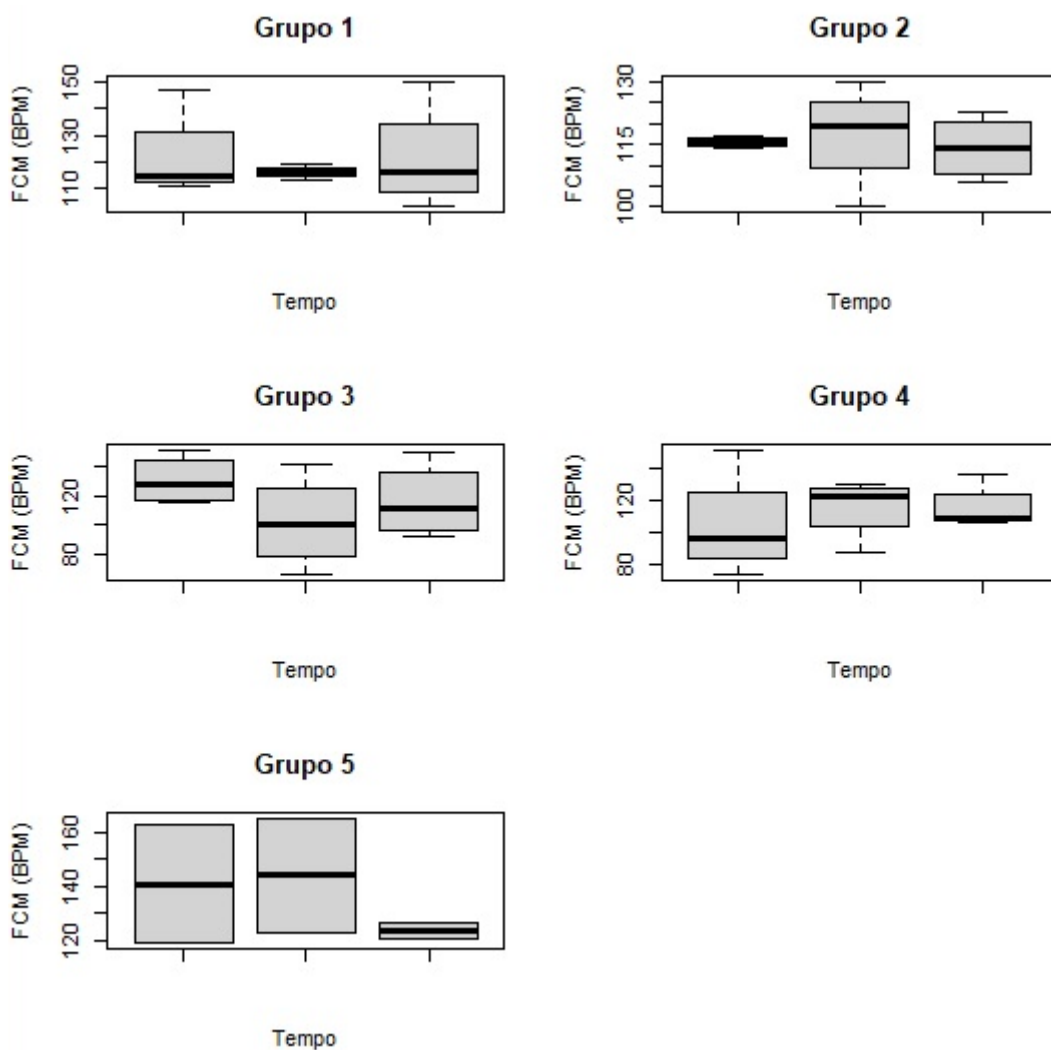
Foram registrados valores de PAS superiores a referência para a espécie canina (ACIERNO et al., 2018) em quatro dos 18 cães estudados. Somente um dos 18 animais apresentou alterações relevantes ao ECG e à ausculta cardíaca. Não foram identificadas alterações estatisticamente significativas de PAS e FCM com a instituição das terapias experimentais (Figura 4, Figura 5).



**Figura 4- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvio-padrão) de pressão arterial sistólica (mmHg) dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis não foi detectada diferença estatística ( $p > 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos experimentais (G1  $p=0.15$ , G2  $p=0.73$ , G3  $p=0.55$ , G4  $p=1.0$ , G5  $p=0.35$ ). G1/SC (n=4) tratados com



óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.



**Figura 5- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvio-padrão) da frequência cardíaca média (BPM) dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis não foi detectada diferença estatística ( $p > 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos experimentais (G1  $p=0.90$ , G2  $p=0.58$ , G3  $p=0.29$ , G4  $p=0.59$ , G5  $p=0.65$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.

Há indícios de que a utilização de fitocanabinoides possa interferir em parâmetros cardiovasculares como pressão arterial – no sentido pró ou antihipertensivo - e frequência cardíaca – também com efeito bifásico - em seres humanos (MENKES et al., 1991; TROUVE e NAHAS, 1999; ALSHAARAWY e ELBAZ, 2016; JADOON et al., 2017) e animais (BATES et al., 2020). Ainda não há consenso quanto ao efeito dessas substâncias sobre a atividade elétrica cardíaca: há registros de alterações importantes como bloqueios atrioventriculares após consumo de *Cannabis* (KEER, 2019), porém estudo recente com mais de 2000 voluntários humanos com histórico de utilização da *Cannabis* não demonstrou correlação entre o seu uso e alterações ao exame de ECG (JAKOB et al., 2020).

É provável que os valores elevados de PAS observados nos quatro cães tenham configurado hipertensão situacional (descarga autonômica por estresse ou ansiedade) (ACIERNO et al., 2018) e não resultado das terapias implementadas, uma vez que foram observados nos três tempos em dois animais (um pertencente a G2/SC+F e outro a G4/EF+C) e somente em T0 nos dois restantes (ambos pertencentes a G5/EF+P). Características individuais como temperamento, porte, raça e condição corporal podem ainda ter contribuído para variações nos valores PAS e FCM sem a ocorrência de cardiopatias correlacionadas (REMILLARD et al., 1991; KALLET et al., 1997). Tais observações vão ao encontro aos achados de FERNANDEZ-TRAPERO et al. (2020), que não observaram alterações significativas nos valores de PAS e FCM com a utilização de produto comercial contendo CBD e THC em cães.

Um único animal (pertencente a G5/EF+P) apresentou alterações relevantes ao ECG (aumento da duração da onda P e do complexo QRS) e à ausculta cardiopulmonar (sopros sistólicos em focos mitral – grau IV-VI e tricúspide – grau III-IV-VI) (NOSZCZUK-NOWAK et al., 2011). Tais alterações tampouco foram relacionadas ao tratamento implementado, uma vez que foram registradas nos três tempos para o referido cão. Foram citados nos laudos nos três tempos registros de arritmia sinusal (que configura uma variação fisiológica de ritmo em cães) (MILLER, 2013), marcapasso migratório (considerado achado benigno) (AZZOPARDI e WENNER, 2017), desvio a esquerda do eixo elétrico médio (que pode ser observado em cães saudáveis de acordo com o posicionamento para realização do exame ou com a conformação do tórax) (CARNABUCI et al., 2019), discreto aumento de onda T (que pode se correlacionar a distúrbios metabólicos) e momentos de bloqueio sinusal (observação frequente em cães braquicefálicos) (FRENCH, 2008) – observações que, na ausência de outras alterações

clínicas, têm relevância limitada uma vez que podem se tratar de manifestações fisiológicas para a espécie.

### 3.4.4 MENSURAÇÃO DO FENOBARBITAL SÉRICO

Durante todo o presente estudo os níveis séricos de fenobarbital se mantiveram dentro do intervalo terapêutico para tratamento de cães epiléticos (FARNBACH, 1984; SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1985; LEVITSKI e TREPANIER, 2000). Além disso, não foi observada alteração significativa desta variável com a instituição das terapias experimentais (Figura 6).

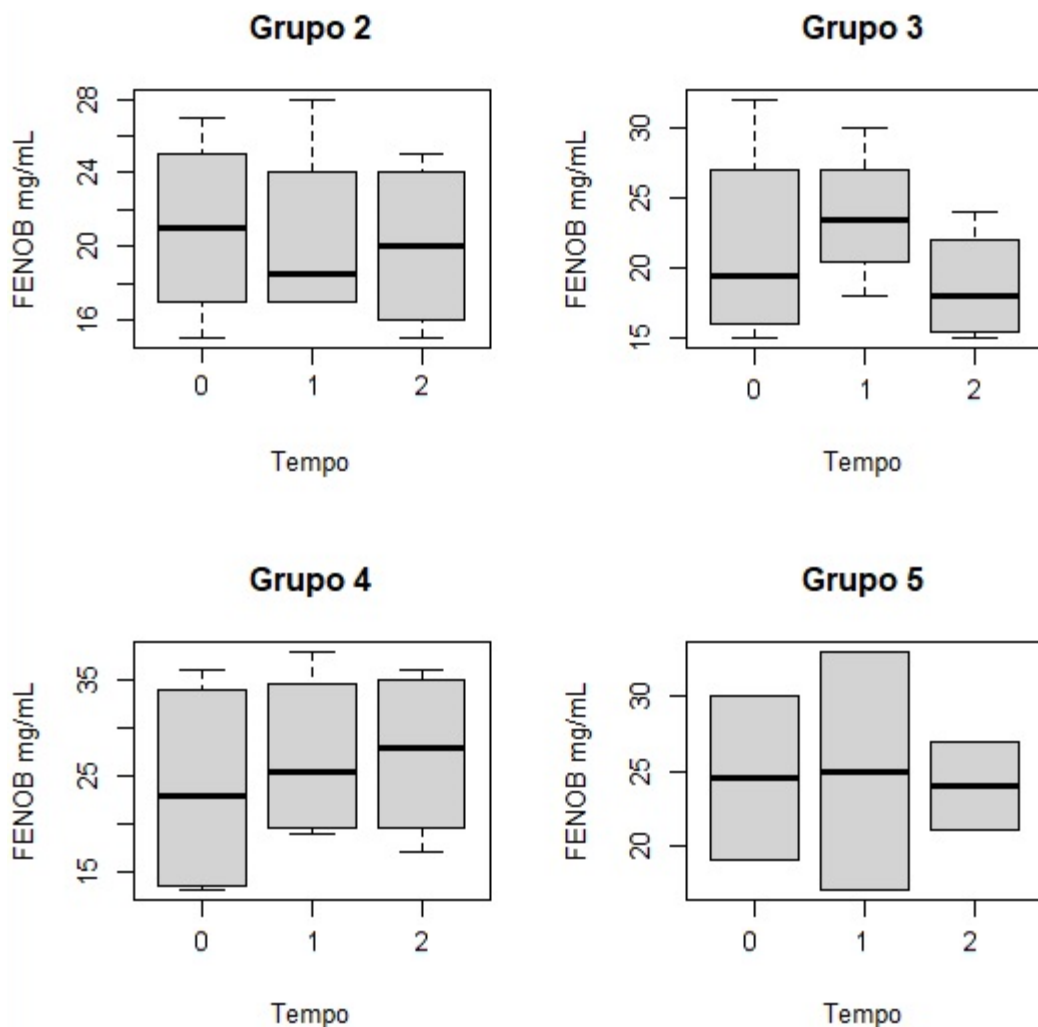


Figura 6- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e

**desvios-padrão) dos níveis séricos de fenobarbital dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis não foi detectada diferença estatística ( $p > 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos (G2  $p = 0,94$ , G3  $p = 0,40$ , G4  $p = 0,74$ , G5  $p = 1$ ). G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.

Ainda no século XIX a *Cannabis* foi citada como estratégia terapêutica interessante em pacientes humanos com epilepsias refratárias - à época chamadas de “resistentes aos brometos” (GOWERS, 1881). Há atualmente alto nível de evidência de que a adição de derivados da *Cannabis* (especificamente isolados de CBD) a tratamentos prévios com fármacos antiepilépticos “convencionais” pode auxiliar no controle de crises epiléticas em síndromes epiléticas farmacorresistentes em humanos (PERUCCA, 2017). Não há, no entanto, recomendação de utilização de derivados de *Cannabis* como monoterapia em pacientes humanos com epilepsias (KOLLMYER et al., 2019).

Sabe-se que as substâncias presentes na *Cannabis* e seus metabólitos são capazes de interferir no metabolismo hepático, o que pode alterar o perfil farmacocinético de outros xenobióticos administrados conjuntamente (NASRIN et al., 2020). THC e CBD podem gerar inibição da atividade das enzimas CYP2C9, CYP2C19 e CYP3A4 e das glucoroniltransferases hepáticas *in vitro* (YAMAORI et al., 2012). Desse modo, quando associados a fármacos metabolizados por essas vias, poderiam contribuir para o aumento de seus níveis séricos. Tal condição foi demonstrada para o CBD associado ao clobazam em pacientes humanos (GASTON et al., 2017), havendo inclusive autores que sugeriram que o aumento nos níveis do metabólito ativo do último possa ser o responsável pelo ganho no controle de crises epiléticas observado após associação ao CBD (PERUCCA, 2017). Corroborando os achados do presente estudo, a associação de CBD ao fenobarbital - fármaco antiepiléptico de primeira escolha em cães, metabolizado pelo CYP2C9 na espécie (CHEN et al., 2004) – não se relacionou a alterações significativas nos níveis séricos do último em humanos (GASTON et al., 2017) e cães com epilepsias (GAMBLE et al., 2019). Ainda assim, HARTSEL et al. (2019) recomendaram realização de mensuração sérica da droga pelo menos após as duas primeiras semanas de tratamento com fitocanabinoides em cães.

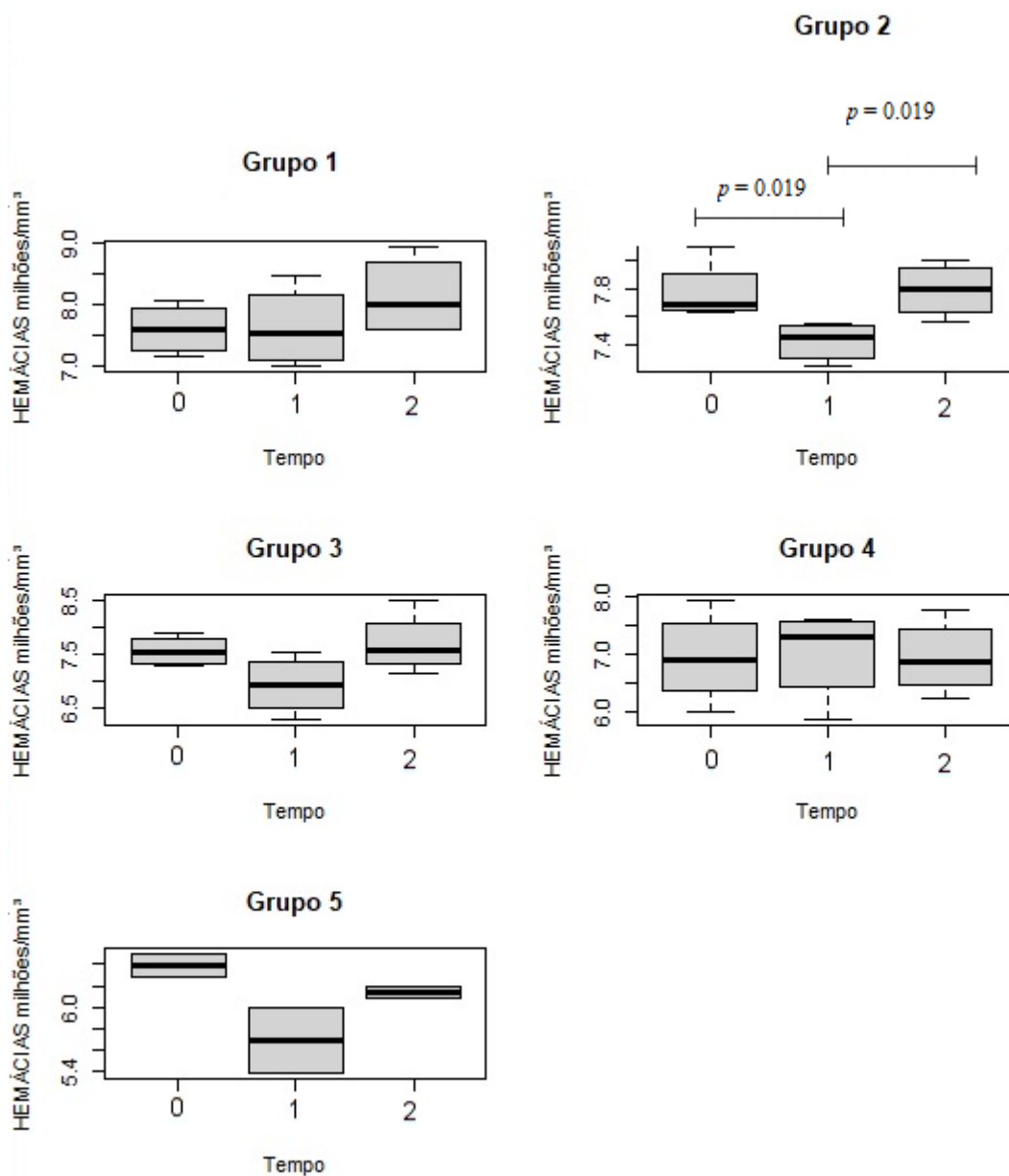
Quanto a possível influência do TCM sobre os níveis séricos do fenobarbital, MOLINA et al. (2020) não referiram alteração nesta variável com a utilização de dietas

cetogênicas ricas em TCM em cães epiléticos previamente tratados com a droga. Da mesma forma, a utilização da substância (empregada como controle negativo na fase 1 em G3/SF+P e placebo na fase 2 em G5/EF+P) não determinou alterações significativas nos níveis séricos de fenobarbital.

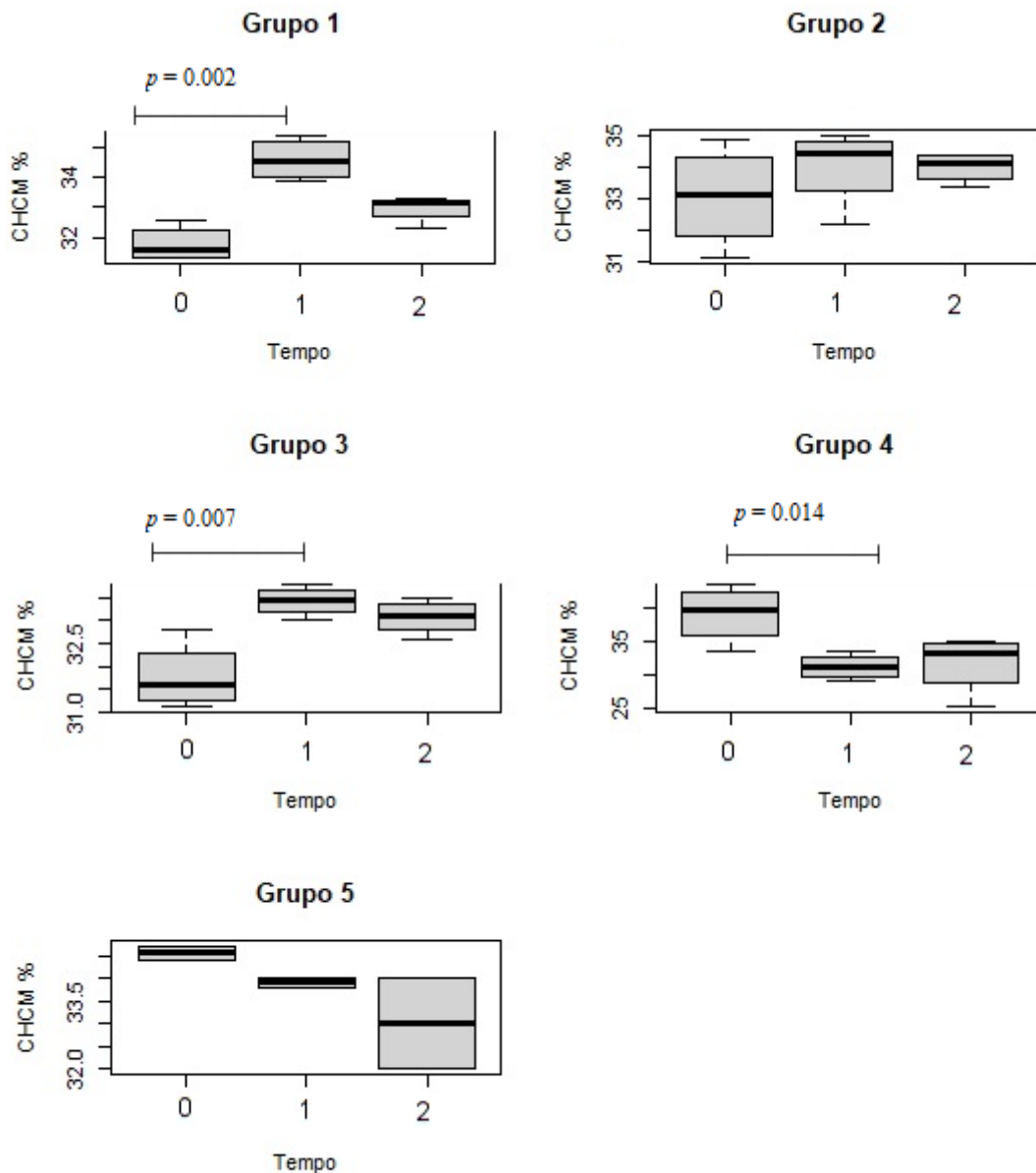
Realizando-se o raciocínio na via contrária, o fenobarbital é capaz de induzir a síntese e atividade de enzimas hepáticas, incluindo FA, glucoronil e glutatona-transferases e componentes do citocromo p450 hepático, particularmente das isoformas CYP1A, CYP2B, CYP2C, CYP3A (GASKILL et al., 2004; STABILE et al., 2017). Tais enzimas podem estar envolvidas no metabolismo hepático dos fitocanabinoides (WATANABE et al., 2007). Assim, a administração de fenobarbital associado a extrato de *Cannabis* tem potencial para alterar a farmacocinética dos fitocanabinoides principalmente aumentando seu metabolismo hepático, reduzindo seus níveis séricos e seu efeito terapêutico. Nesse sentido, a mensuração sérica ou urinária de CBD e THC poderia permitir a quantificação dessa influência nos cães no presente estudo.

#### **3.4.5 HEMOGRAMA**

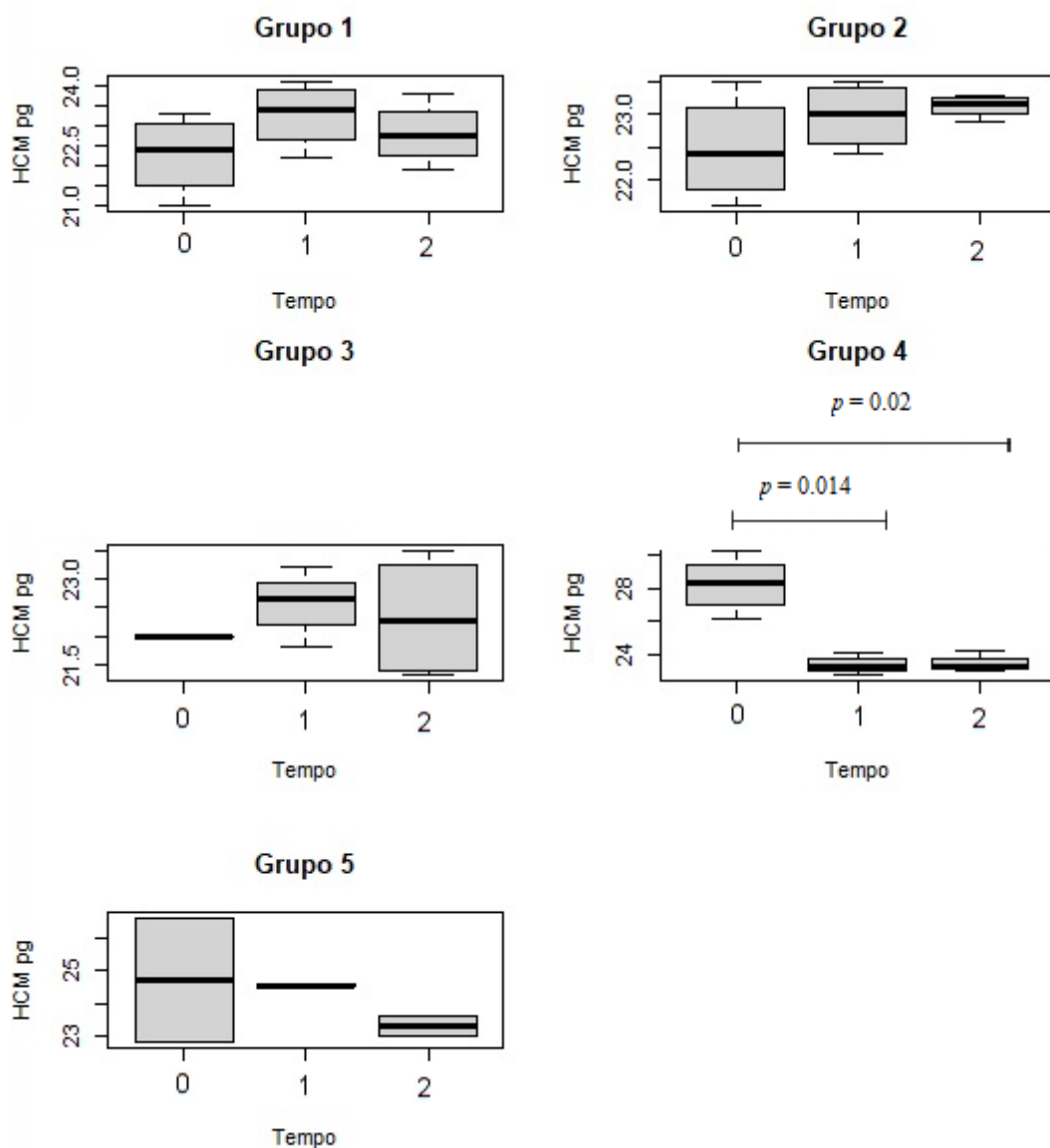
Os intervalos considerados de referência foram aqueles utilizados pelo Hospital Veterinário da UFMG. Os dados número de eritrócitos, HB, VG, plaquetas e diferencial de leucócitos (linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e monócitos) e os índices hematimétricos VCM, CHCM e HCM se mantiveram dentro dos níveis de referência para a espécie durante todo o período estudado. Um animal de G3/SF+P apresentou valores de leucócitos totais discretamente aumentados (entre 17.900 e 19.000) (WEISS e WARDROP, 2010) nos três tempos de avaliação. A instituição dos tratamentos determinou alterações estatisticamente significantes nos valores de número eritrócitos e nos índices hematimétricos CHCM e HCM ( $p < 0.05$ ) (Figura 7, Figura 8, Figura 9). Não foram observadas alterações estatisticamente significantes nos demais parâmetros.



**Figura 7- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) do número de eritrócitos dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis detectou-se diferença estatisticamente significativa com a instituição do tratamento em G2 ( $p=0,02$ ). (G1  $p=0.49$ , G3  $p=0.17$ , G4  $p=0.98$ , G5  $p=0.10$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.



**Figura 8- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) das porcentagens de CHCM dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis detectou-se diferença estatisticamente significativa com a instituição do tratamento em G1 ( $p=0.009$ ), G3 ( $p=0.02$ ) e G4 ( $p=0.04$ ). (G2  $p=0.50$ , G5  $p=0.16$ ). G1/SC ( $n=4$ ) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F ( $n=4$ ) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P ( $n=4$ ) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C ( $n=4$ ) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P ( $n=2$ ) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.



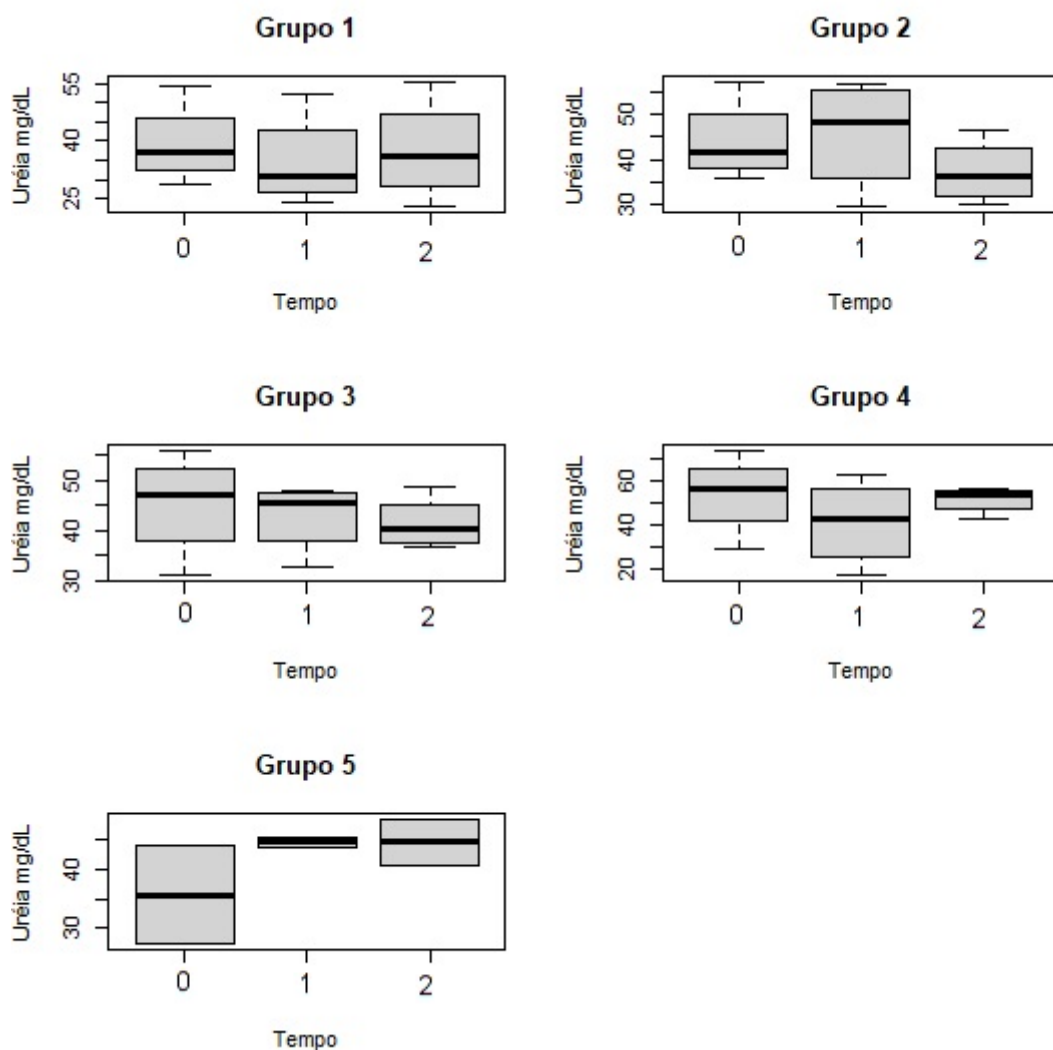
**Figura 9- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medias e desvios-padrão) dos níveis HCM dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis detectou-se diferença estatisticamente significativa com a instituição do tratamento em G4 ( $p=0.02$ ). (G1  $p=0.33$ , G2  $p=0.48$ , G3  $p=0.65$ , G5  $p=0.56$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.



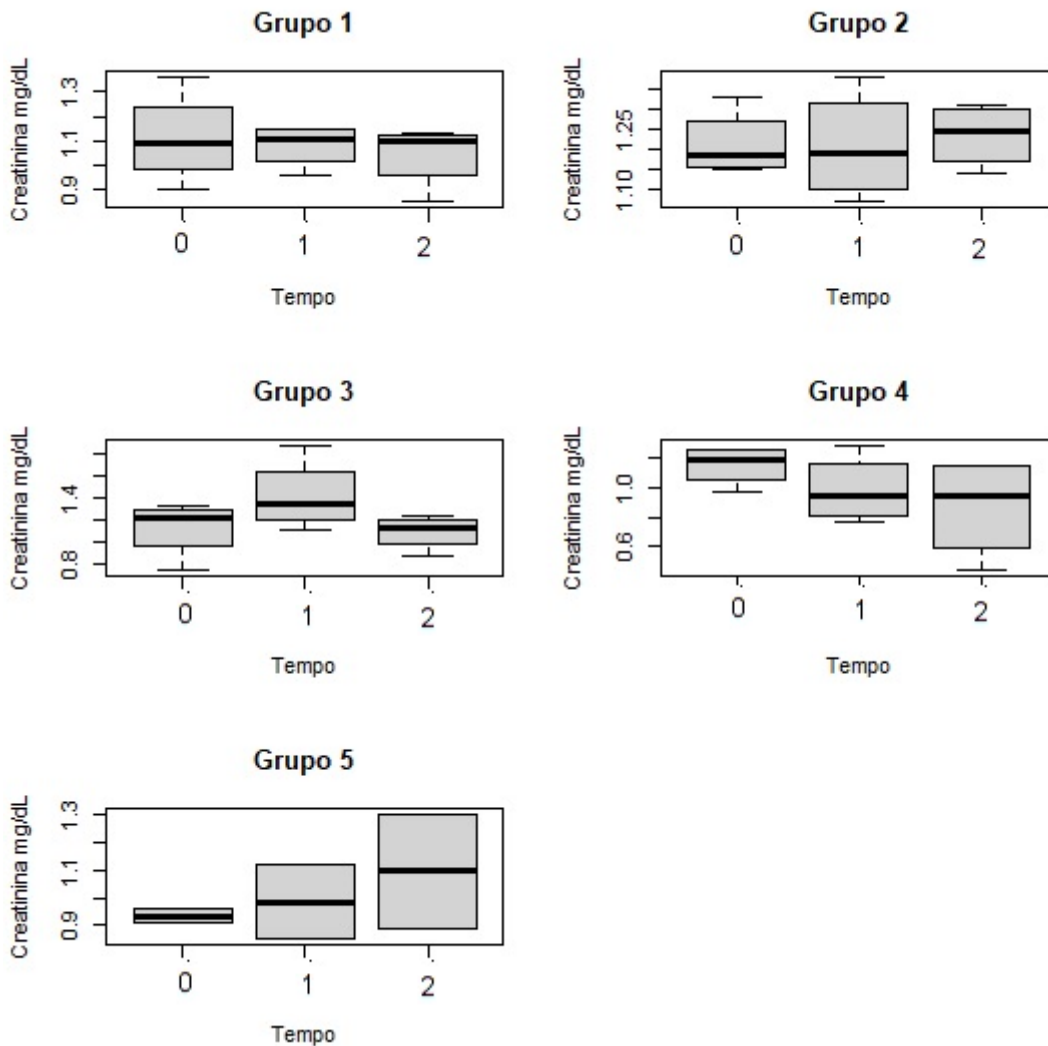
Dentre as alterações acima relatadas, houve registro de pelo menos uma delas para todos os grupos, exceto G5/EF+P. Foi observada redução estatisticamente significativa do número de eritrócitos aos 30 dias de tratamento, seguida de aumento estatisticamente significativo (em relação a análise em T1) nos animais de G2/SC+F. Em relação a porcentagem de CHCM, registrou-se aumento estatisticamente significativo aos 30 dias de tratamento em G1/SC e em G3/SF+P. Observou-se, por outro lado, redução desse parâmetro em G4/EF+C, acompanhada de redução estatisticamente significativa de HCM, o que também foi demonstrado para seres humanos usuários crônicos de *Cannabis* por WANI et al. (2018). A ocorrência de anemia por possível mielotoxicidade (WEISS e SMITH, 2002) é raramente relatada com a utilização de fenobarbital em cães (HABOCK e PAKOSDY, 2012) e de *Cannabis* em seres humanos (WANI et al., 2018) e animais (KARIMI et al., 2007). DEABOLD et al. (2019) referiram observação de redução estatisticamente significativa de VCM com utilização de CBD em cães, o que também foi demonstrado em seres humanos (WANI et al., 2018). O possível mecanismo para tal condição assim como a relevância desse achado não estão bem esclarecidos. Por outro lado, DEVINSKY et al. (2018a), GAMBLE et al. (2018), THIELE et al. (2018), MCGRATH et al. (2019), FERNANDEZ-TRAPERO et al. (2020) não referiram observação de qualquer alteração ao hemograma com a utilização de fitocanabinoides em seres humanos ou cães. Os achados do presente estudo têm, provavelmente, pouca relevância clínica por não ter havido variação além dos intervalos de referência para a espécie. Sugere-se, no entanto, o acompanhamento desses parâmetros em cães tratados com derivados da *Cannabis* com a realização de hemogramas periódicos e eventualmente de outros exames - como citologia de medula óssea - quando houver indicação clínica.

#### **3.4.6 PERFIL BIOQUÍMICO**

Os intervalos considerados de referência foram aqueles utilizados pelo Hospital Veterinário da UFMG. Em nenhum momento foram registrados valores de uréia ou creatinina fora dos níveis de referência para a espécie canina (KANEKO et al., 2008). Ainda, a instituição dos tratamentos experimentais não determinou alteração estatisticamente significativa nesses valores ( $p>0.05$ ) (Figura 10 e Figura 11).



**Figura 10- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) dos níveis séricos de uréia dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis não foi detectada diferença estatística ( $p > 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos (G1  $p=0.69$ , G2  $p=0.49$ , G3  $p=0.66$ , G4  $p=0.50$ , G5  $p=0.65$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.



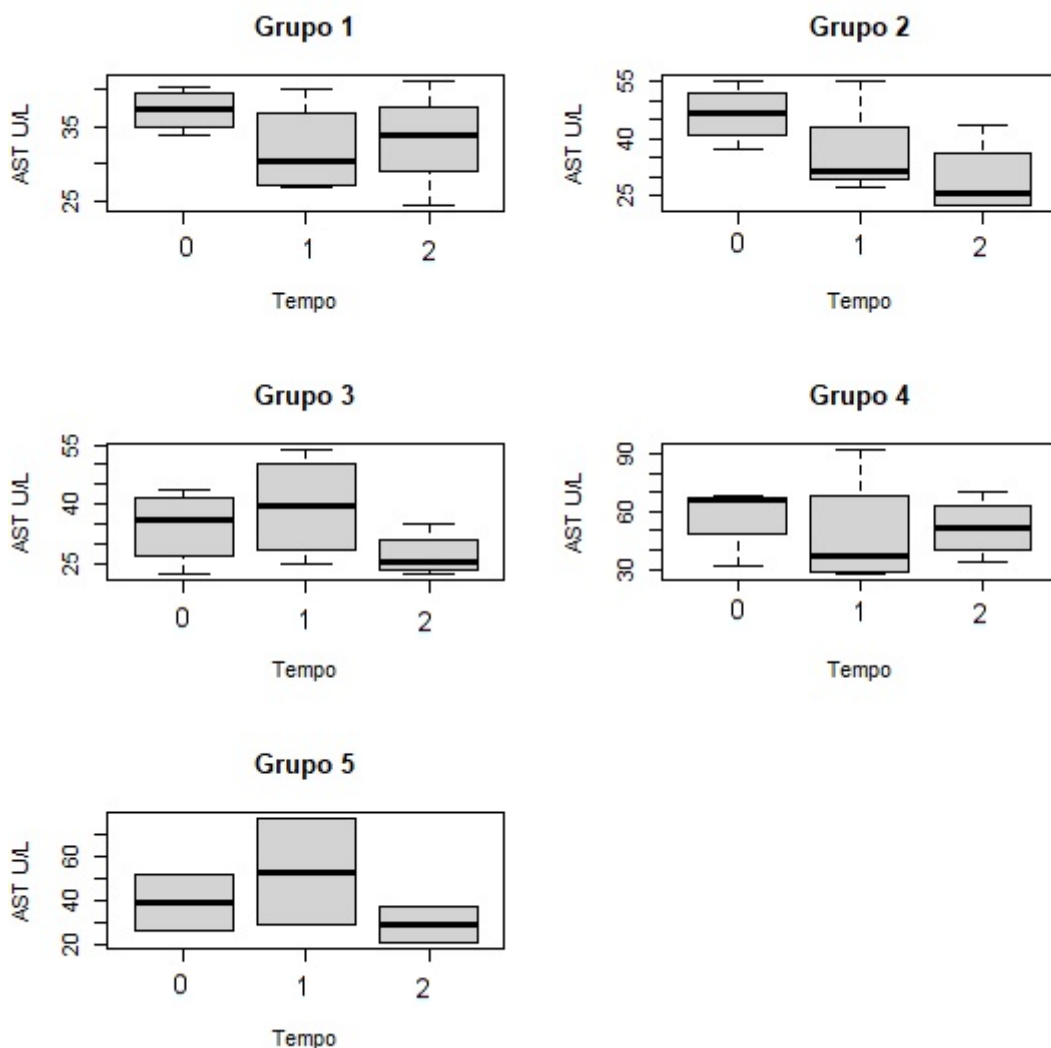
**Figura 11- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) dos níveis séricos de creatinina dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis não foi detectada diferença estatística ( $p > 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos (G1  $p = 0,81$ , G2  $p = 0,87$ , G3  $p = 0,17$ , G4  $p = 0,43$ , G5  $p = 0,86$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.

Há demonstração de que o sistema endocanabinoide pode interferir no funcionamento renal (DEUTSCH et al., 1997; KOURA et al., 2004; LECRU et al., 2015; PRESSLY et al., 2019), e uma percepção geral a partir das evidências científicas disponíveis até o momento de que o uso de derivados da *Cannabis* livres de contaminantes seja seguro para a saúde dos rins (PARK et al., 2017).

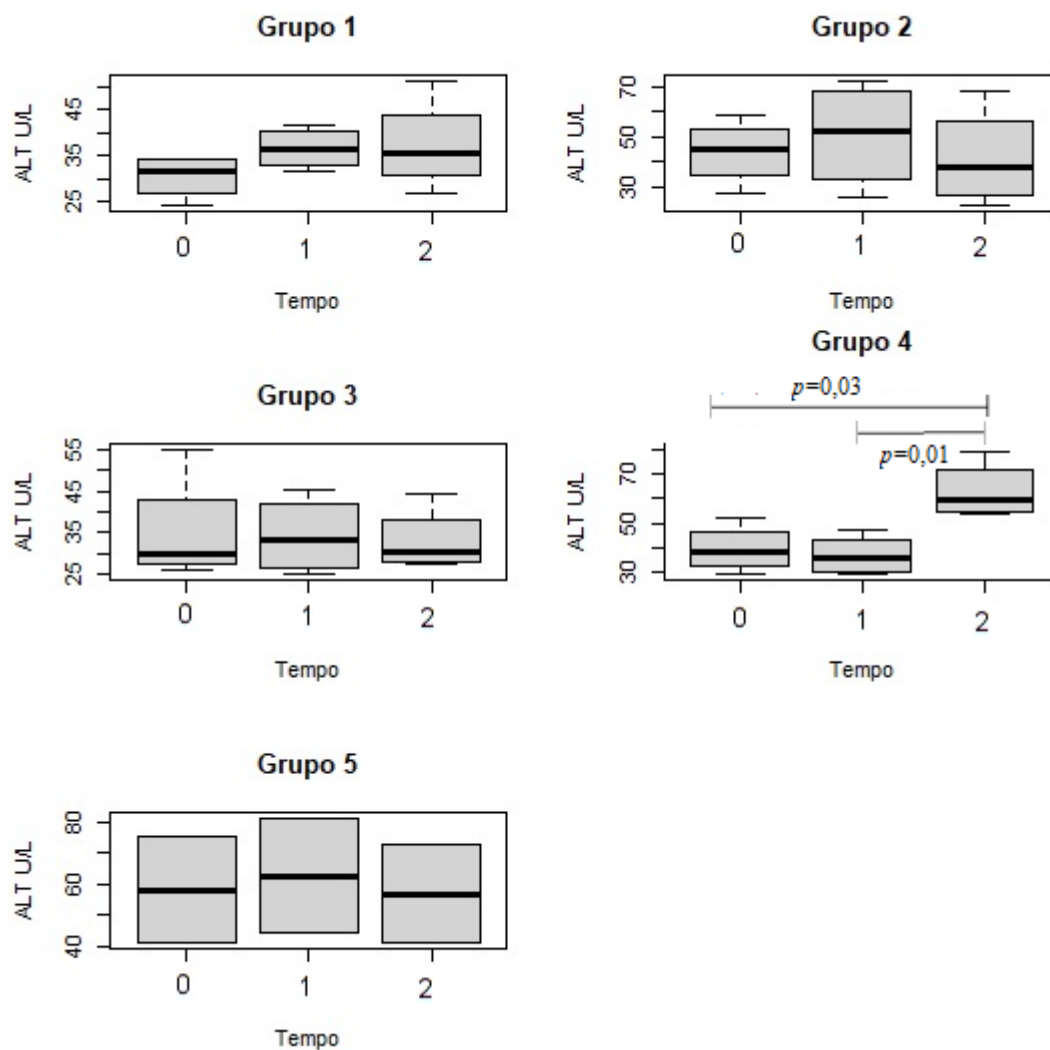
GAMBLE et al. (2018) notaram discreto aumento nos níveis de creatinina com a

utilização contínua de CBD em cães por quatro semanas para tratamento de osteoartrite. Os valores, no entanto, se mantiveram dentro dos níveis de referência para cães. Assim como no presente estudo, VAUGHN et al. (2020) não referiram qualquer alteração nos níveis séricos de uréia e creatinina com a utilização de doses variadas de óleos contendo extratos de *Cannabis* predominantes em THC ou CBD em cães.

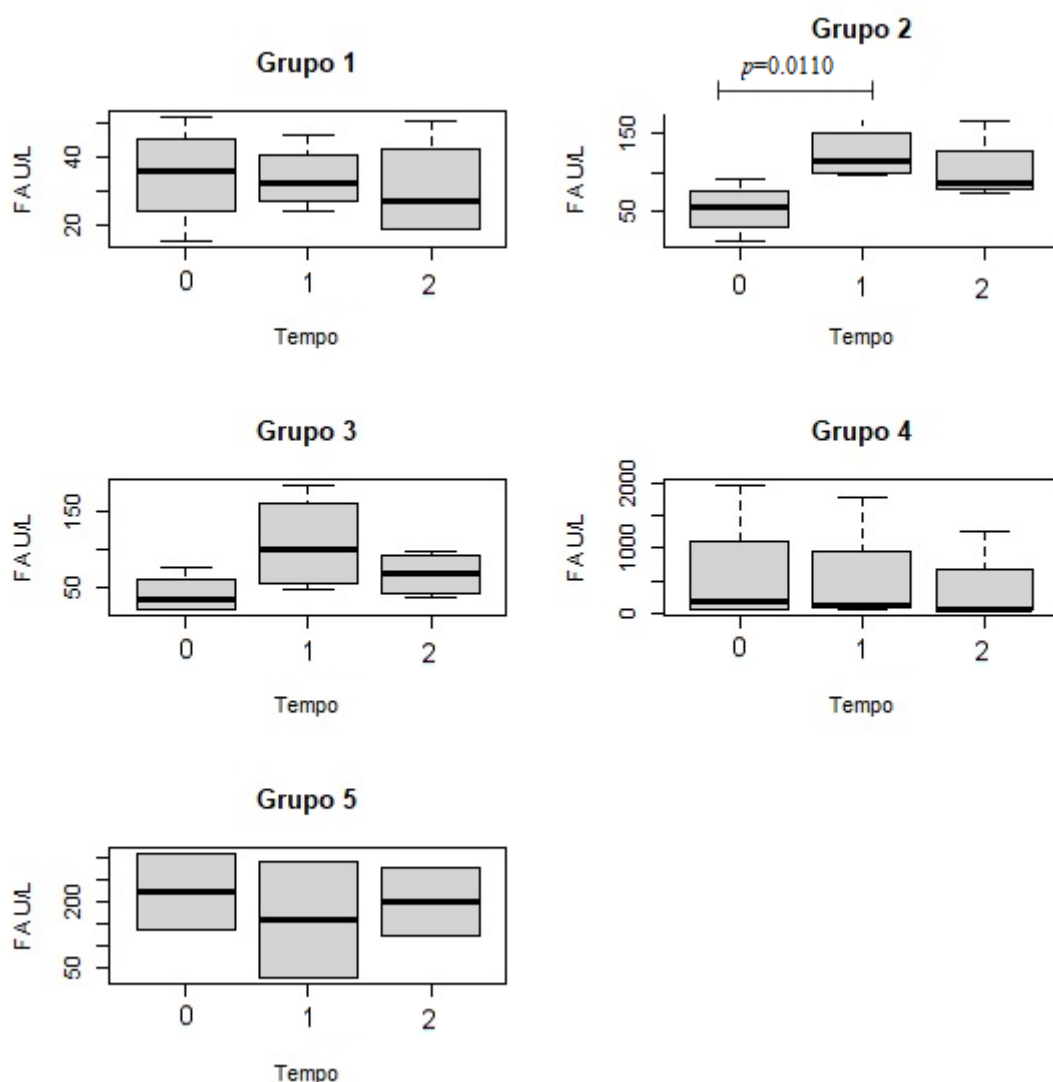
Quanto a bioquímica hepática, os dados relativos à atividade das enzimas AST e ALT se mantiveram dentro do intervalo de referência para cães durante todo o estudo (KANEKO, 2008), embora tenha sido notado aumento significativo da atividade de ALT com a instituição de tratamentos experimentais em G4/EF+C (Figura 12, Figura 13). Ainda, foram registrados valores séricos de atividade de FA acima da referência para a espécie canina (KANEKO, 2008) antes e/ou após a instituição dos tratamentos experimentais em G2/SC+F, G3/SF+P, G4/EF+C e G5/EF+P, tendo sido notado aumento estatisticamente significativo na atividade da enzima em G2/SC+F (Figura 14).



**Figura 12- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) da atividade da enzima AST dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis não foi detectada diferença estatística ( $p > 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos (G1  $p=0,33$ , G2  $p=0,07$ , G3  $p=0,29$ , G4  $p=0,58$ , G5  $p=0,56$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.



**Figura 13- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medianas e desvios-padrão) da atividade da enzima ALT dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis foi detectada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos somente em G4 ( $p = 0,023$ ). (G1  $p = 0,20$ , G2  $p = 0,84$ ; G3  $p = 0,98$ , G5  $p = 0,65$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.



**Figura 14- Demonstração da tendência central por meio de boxplot (medias e desvios-padrão) da atividade da enzima FA dos cães estudados nos três diferentes tempos de avaliação.** Após comparação pelo teste de Kruskal Wallis foi detectada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) com a instituição dos tratamentos somente em G2 ( $p = 0,038$ ). (G1  $p = 0,87$ , G3  $p = 0,14$ , G4  $p = 0,79$ , G5  $p = 0,65$ ). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital; G4/EF+C (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G5/EF+P (n=2) tratados com TCM associado ao fenobarbital. T0- antes da instituição dos tratamentos experimentais ; T1- um mês após início dos tratamentos experimentais; T2- dois meses após início dos tratamentos experimentais.

O fenobarbital é um potente indutor das enzimas do sistema microsossomal hepático, o que pode gerar aumento da atividade sérica de FA, ALT e AST na ausência de alterações como lesão hepatocelular ou colestase (JOHNSON, 1995; MULLER et al., 2000). É interessante observar que os grupos em que foram registrados valores de atividade de FA superiores ao intervalo de referência para a espécie foram somente

aqueles tratados com o fenobarbital (G2/SC+F,G3/SF+P,G4/EF+C e G5), sendo que alguns indivíduos dos grupos G4/EF+C e G5/EF+P já apresentavam tais níveis aumentados em T0, o que é frequentemente relatado para cães que fazem uso crônico do fármaco (DE RISIO e PLATT, 2014) - como os animais estudados. Ainda, MULLER et al. (2000) referiram aumento significativo também da atividade de ALT em 12 cães tratados por sete meses com fenobarbital em uso contínuo.

Assim como no presente estudo, reporta-se frequentemente aumento da atividade sérica das enzimas FA, AST e/ou ALT com a utilização de derivados da *Cannabis* – isolados de CBD ou extratos *full spectrum* - em monoterapia ou associados a outros fármacos em ratos (MUKHTA et al., 2011), seres humanos (DEVINSKY et al., 2018a; DEVINSKY et al., 2018b; THIELE et al., 2018) e cães (GAMBLE et al., 2018; MCGRATH et al., 2018; MCGRATH et al., 2019).

Os fitocanabinoides parecem atuar como inibidores dos mecanismos de fase 1 e 2 do metabolismo hepático em seres humanos (BROWN e WINTERSTEIN, 2019; ZHU e PELTEKIAN, 2019), o que é provável que ocorra também em cães - apesar de ainda não ter sido de fato demonstrado (MCGRATH et al., 2019). Muito se discute sobre as potenciais hepatotoxicidade ou hepatoproteção com o uso de derivados da *Cannabis* em diferentes espécies (STOHLIS e RAY, 2020). Ressalta-se na literatura que a utilização de fitocanabinoides com finalidade terapêutica deve ser realizada com cautela (acompanhamento para potenciais danos hepáticos) especialmente quando estes são empregados em altas doses ou em associação com outras substâncias potencialmente hepatotóxicas, como ácido valproico (THIELE et al., 2018) ou o fenobarbital. Os achados do presente estudo corroboram este pressuposto, já que se observou elevação estatisticamente significativa na atividade de FA (G2/SC+F) ou ALT (G4/EF+C) somente nos grupos tratados com a associação de fenobarbital ao óleo de extrato de *Cannabis*. Já os animais que receberam óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia (G1/SC) mantiveram estes níveis sempre dentro do intervalo de referência para a espécie, não tendo apresentado diferença estatisticamente significativa com a instituição do tratamento.

Caso a ocorrência de hepatotoxicidade tenha sido de fato a causa para a observação de aumento da atividade sérica de ALT e FA com a associação do óleo de extrato de *Cannabis* ao fenobarbital, um mecanismo possível seria a inibição do metabolismo hepático do último que, em níveis séricos elevados, poderia potencializar a indução enzimática ou mesmo ter ação hepatotóxica. MCGRATH et al. (2019) sugeriram



tal mecanismo para justificar a observação de aumento da atividade sérica de FA com a utilização de CBD associado a fármacos convencionais (entre eles o fenobarbital) em cães epiléticos. Todavia, a mensuração do fenobarbital sérico não demonstrou elevação após associação ao CBD (MCGRATH et al., 2019), assim como ocorreu no presente estudo após associação ao óleo de extrato de *Cannabis*. Deste modo, não se pode afirmar qual seria o provável mecanismo para o aumento da atividade de FA e ALT observado, assim como qual a relevância clínica deste achado. É importante observar que os valores de atividade de ALT se mantiveram dentro dos intervalos de referência para a espécie por todo o período avaliado. Ainda assim, o acompanhamento da atividade sérica dessas enzimas assim como de outros indicadores de lesão ou função hepática como ultrassonografia abdominal, níveis de GGT, proteínas totais e frações, uréia, colesterol e bilirrubinas (FOSTER et al., 2008) é aconselhado.

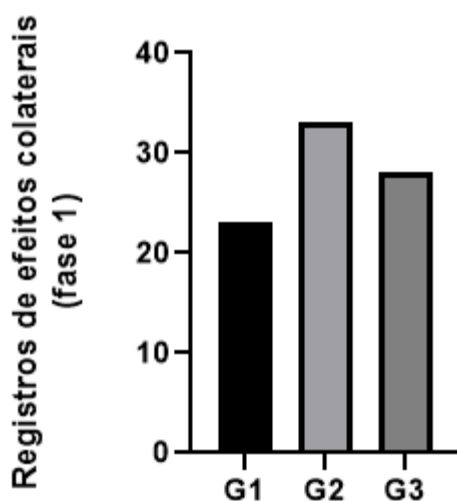
#### **3.4.7 PESQUISA DE POSSÍVEIS EFEITOS COLATERAIS**

Além do período pré-experimental (para seleção dos animais), os cães foram submetidos a reavaliações clínicas por meio de exames físico e neurológico em T0, T1 e T2. Não foram observadas alterações dignas de nota (fase 1 e fase 2).

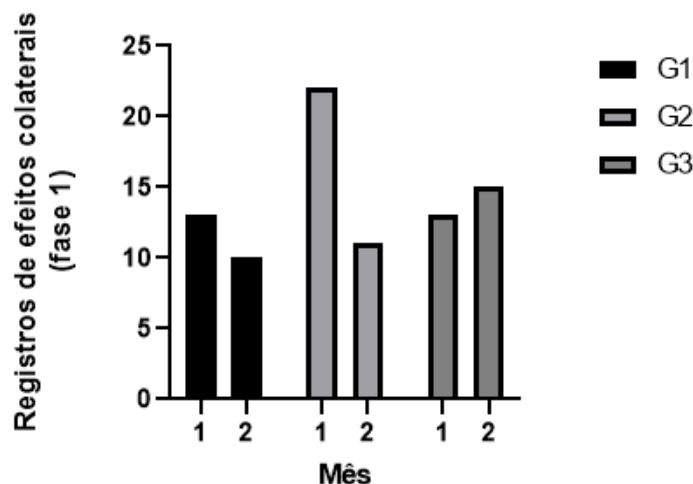
Na fase 1, em que os animais eram avaliados diariamente para pesquisa de possíveis efeitos colaterais das terapias experimentais, houveram no total 84 registros de alterações clínicas ou comportamentais. Destes, 23 registros se deram no G1/SC, 33 no G2/SC+F e 28 no G3/SF+P (Figura 15). Houveram mais observações de alterações no primeiro mês de tratamento (13 dos 23 registros de G1/SC, 22 dos 33 registros de G2/SC+F e 13 dos 28 registros de G3/SF+P) (Figura 16). Apenas dois dos 12 cães não apresentaram qualquer alteração durante todo o período estudado – um deles pertencente ao G1/SC e o outro pertencente ao G3/SF+P. Diarréia e vômito foram as observações mais relatadas (59 registros), seguidas por alterações dermatológicas - prurido ou alopecia – (9 registros), redução de apetite (7 registros), alterações oftálmicas - hiperemia conjuntival ou epífora – (7 registros), sedação (1 registro) e tosse (1 registro) (Figura 17). Três condições (alterações oftálmicas, prostração e tosse) foram relatadas apenas para os animais tratados com extrato de *Cannabis* em monoterapia ou em associação ao fenobarbital (G1/SC e G2/SC+F).

Já para os animais estudados na fase 2, os tutores dos seis cães relataram observação de alterações clínicas possivelmente indicativas de efeito colateral às terapias

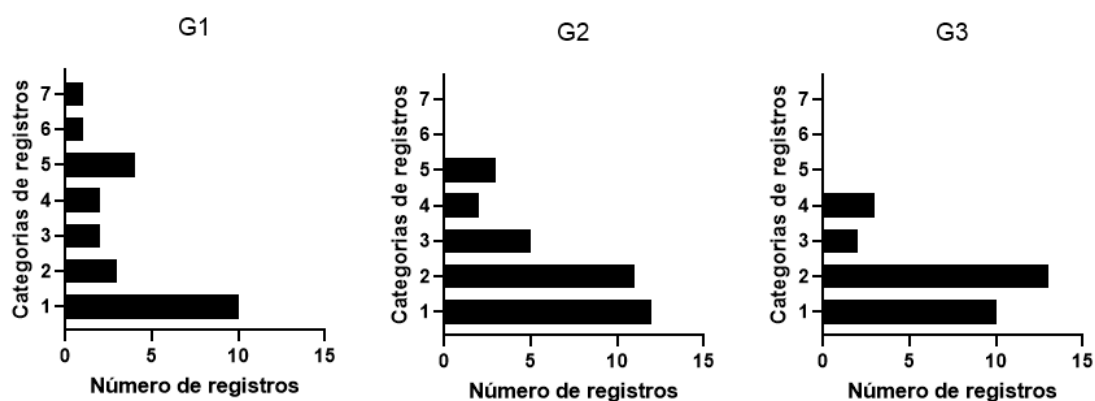
em algum momento (Tabela 4). No primeiro mês de tratamento, principalmente nas duas primeiras semanas de tratamento, três dos quatro cães tratados com óleo de extrato de *Cannabis* apresentaram alterações: o primeiro apresentou sedação, ataxia, prostração, polifagia, polidipsia e episódios de taquipnéia; o segundo apresentou agitação; o terceiro manifestou o episódio de hipoglicemia relatado anteriormente. Além disso, os dois animais tratados com placebo[4] também manifestaram alterações no período: o primeiro apresentou vômitos recorrentes e episódios de taquipnéia; e o segundo apresentou polifagia. No segundo mês de tratamento houve uma percepção geral por parte dos seis tutores de melhora desses sinais. Porém, ainda assim, três dos quatro cães tratados com o óleo de extrato de *Cannabis* apresentaram alterações: o primeiro apresentou redução do apetite; o segundo apresentou polidipsia; e o terceiro apresentou agitação e polifagia. Já os tutores de cães tratados com placebo[5] não relataram observação de alterações clínicas nesse período.



**Figura 15- Demonstração gráfica do número total de registros de alterações clínicas ou comportamentais possivelmente indicativas de efeitos colaterais das terapias experimentais durante os 60 dias de período experimental (fase 1). G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital.**



**Figura 16- Demonstração gráfica da distribuição dos registros de possíveis efeitos colaterais das terapias experimentais nos dois meses estudados (fase 1).** G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital.



**Figura 17- Demonstração gráfica da distribuição das categorias de registros de possíveis efeitos colaterais das terapias experimentais em cada grupo experimental na fase 1.** G1/SC (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia; G2/SC+F (n=4) tratados com óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital; G3/SF+P (n=4) tratados com TCM associado ao fenobarbital. 1 – diarreia; 2- vômito; 3- alterações dermatológicas; 4- redução de apetite; 5- alterações oftálmicas; 6- sedação; 7- tosse.

**Tabela 4 – Alterações clínicas relatadas pelos tutores nos dois meses de estudo (fase 2).**

Identificação	Alterações observadas (primeiro mês)	Alterações observadas (segundo mês)
<i>Cannabis</i> 1 (G4-1)	-	Redução de apetite
<i>Cannabis</i> 2 (G4-2)	Sedação, ataxia, prostração, polifagia, polidipsia, episódios de taquipnéia	Polidipsia
<i>Cannabis</i> 3 (G4-3)	Agitação	Agitação, polifagia
<i>Cannabis</i> 4 (G4-4)	Episódio de hipoglicemia	-
Placebo 1 (G5-1)	Vômitos recorrentes, episódios de taquipnéia	-
Placebo 2 (G5-2)	Polifagia	-

As duas avaliações diárias para cada um dos 12 animais avaliados na fase 1 durante os 60 dias de período experimental poderiam gerar mais de mil registros de alterações (2x60x12). Além de pouco frequentes (pouco mais de 5% do total de avaliações foram relacionadas a alterações), as condições relatadas não tiveram repercussão clínica importante, uma vez que as avaliações físicas e neurológicas se mantiveram inalteradas.

Seria interessante que o mesmo método de acompanhamento utilizado nos animais da fase 1 (preenchimento de ficha de registro de possíveis efeitos colaterais duas vezes ao dia durante os 60 dias) fosse empregado também na fase 2. Observou-se, no entanto, pouca adesão dos tutores para preenchimento frequente do documento, e preferência por passar a informação de maneira descritiva. Os dados revelaram relatos aparentemente mais frequentes de alterações possivelmente indicativas de efeitos colaterais à terapia nos cães na fase 2. No entanto, os parâmetros avaliados em consultório se mantiveram dentro dos intervalos de referência para a espécie e os animais se mantiveram clinicamente bem (fato é que não houve indicação clínica ou solicitação por parte dos tutores para retirada de seu animal do estudo).

Tais achados vão ao encontro dos relatos de observações de efeitos colaterais infrequentes e bem tolerados em estudos clínicos ou relatos de caso que avaliaram a utilização de derivados da *Cannabis* em cães, seja por meio da administração de isolados de CBD (GAMBLE et al., 2018; MCGRATH et al. 2018; DE ÁLAVA, 2019; DEABOLD et al., 2020; VERRICO et al., 2020) ou da utilização de produtos contendo CBD e THC (FERNANDÉZ-TRAPERO et al., 2020). Já MCGRATH et al. (2019) referiram a necessidade de descontinuação da terapia e exclusão de seu estudo de dois dos 12 cães epiléticos tratados com CBD associado a fármacos convencionais pelo desenvolvimento de ataxia, enquanto VAUGHN et al. (2020) relataram ocorrência de efeitos colaterais graves (sedação, hipotermia e ataxia intensas), principalmente com a utilização de altas doses de óleos ricos em THC.

Na fase 1 foram registrados diarreia, vômito, alterações dermatológicas, redução do apetite, alterações oftálmicas, sedação e tosse, sendo que os três últimos foram exclusivamente registrados nos cães tratados com extrato de *Cannabis*. Já na fase 2 foram observados vômito, polifagia, polidipsia, redução do apetite, sedação, ataxia, taquipnéia e episódio de hipoglicemia. Com exceção de tosse, todas as condições citadas foram previamente relatadas em estudos que avaliaram a utilização oral de fitocanabinoides em cães (MCGRATH et al., 2019; VAUGHN et al., 2020) ou seres humanos (LINTZERIS et al., 2018). A ocorrência de tosse é frequentemente relatada em pacientes humanos que fazem uso da *Cannabis* por inalação (MACCALLUM e RUSSO, 2018), o que não foi o caso dos cães no presente estudo.

Na fase 1, o grupo tratado com fenobarbital associado ao TCM (G3/SF+P) registrou mais ocorrências de alterações clínicas do que o grupo tratado com óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia (G1/SC), porém o maior número de registros se deu no grupo que recebeu fenobarbital associado ao óleo de extrato de *Cannabis* (G2/SC+F). Como já citado, não foi notada alteração nos níveis séricos de fenobarbital após associação do óleo de extrato de *Cannabis*. Dessa forma, descarta-se a possibilidade de que a inibição do metabolismo hepático do fenobarbital pelos fitocanabinoides pudesse gerar aumento dos níveis séricos do referido fármaco, com consequente manifestação clínica de toxicidade. É possível que outras formas de interações farmacocinéticas ou farmacodinâmicas possam ter contribuído para a potencialização dos efeitos colaterais com a associação das drogas, o que, no entanto, ainda não foi relatado para os derivados da *Cannabis* e o fenobarbital. Na ausência de análise de níveis séricos de CBD e THC nos cães no presente estudo, a observação de que houve maior frequência de registro

de possíveis efeitos colaterais no grupo tratado com o fenobarbital associado ao óleo de extrato de *Cannabis* (G2/SC+F) em relação ao fenobarbital associado ao placebo (G3/SF+P) pode ser um indicador de que a dosagem empregada foi suficiente para gerar alguma resposta no organismo dos animais.

Em todos os grupos experimentais (fase 1 e fase 2) os registros de alterações clínicas possivelmente indicativas de efeitos colaterais foram mais frequentes no primeiro mês de tratamento. Tal observação é comumente relatada para terapias com fármacos “convencionais” (TORTA, 2012) e, da mesma forma, para os tratamentos com *Cannabis* com a finalidade medicinal. Em estudo conduzido por DEVINSKY et al. (2017), por exemplo, observou-se ocorrência de efeitos colaterais que se resolveram dentro de quatro semanas de terapia em mais de 90% dos pacientes tratados com isolados de CBD. O esquema posológico adotado no presente estudo, que envolve início com doses baixas e lenta titulação, busca minimizar a ocorrência de eventos adversos por permitir o desenvolvimento de tolerância aos potenciais efeitos colaterais às terapias com derivados da *Cannabis* antes de se empregar doses mais altas (MACCALLUM e RUSSO, 2018).

O presente estudo avaliou a utilização em cães de um extrato de *Cannabis full spectrum*. Sendo assim, o THC poderia ser apontado como possível responsável por algumas das alterações clínicas observadas. De fato, VAUGHN et al. (2020) referiram a observação de alterações clínicas mais frequentes e graves em cães tratados com óleos de extrato de *Cannabis* com maior concentração de THC em relação a formulações predominantes em CBD. Porém, fazendo um contra-ponto é interessante ressaltar que diarreia e vômito, que foram os registros mais frequentes na fase 1, contabilizando mais de 70% das observações totais, também foram frequentemente relatados em estudos que utilizaram isolados de CBD em cães (DEABOLD et al., 2019) e seres humanos (HUESTIS et al., 2019). Ainda, como previamente discutido, MCGRATH et al. (2019) citaram a necessidade de descontinuação do tratamento com isolado de CBD em dois de doze cães epiléticos pelo desenvolvimento de ataxia – sinal classicamente relacionado a ativação de RCs CB1 no cerebelo pelo THC. Além disso, as doses utilizadas nos estudos supracitados foram superiores à empregada no presente estudo. Assim, não se pode afirmar se o THC presente no óleo de extrato de *Cannabis* empregado foi o responsável pelos efeitos adversos infrequentes e de pouca repercussão clínica observados. A inclusão de mais grupos experimentais na fase 1 do estudo (um grupo tratado com CBD isolado, outro com solução placebo associada ao veículo utilizado nos comprimidos de fenobarbital e outro grupo *naive*) poderia permitir a melhor avaliação da influência da

presença do THC sobre os efeitos colaterais.

### **3.4.8 EFEITO CLÍNICO DA ASSOCIAÇÃO DE ÓLEO DE EXTRATO DE CANNABIS AO FENOBARBITAL NO TRATAMENTO DE CÃES EPILÉPTICOS (FASE 2)**

Dois dos quatro animais tratados com óleo de extrato de *Cannabis* (G4/EF+C) apresentaram redução de no mínimo 50% na frequência das crises[6] epiléticas, o que não foi atingido por nenhum cão tratado com placebo (G5/EF+P) (Tabela 5 e Quadro 7). Foi observada redução na frequência global de crises epiléticas por mês de 33% (de 1,75 crises/mês para 1,125 crises/mês) em G4/EF+C e de 9% (de 3 crises/mês para 2,75 crises/mês) em G5/EF+P. No entanto, a diferença de respondedores entre os grupos e a redução na frequência global de crises epiléticas mensais não foram estatisticamente significativas ( $p>0.05$ ). As crises contabilizadas foram as generalizadas tônico-clônicas, porém dois animais (um do G4/EF+C e outro do G5/EF+P) apresentavam também histórico sugestivo de crises epiléticas focais, enquanto um terceiro animal (G4/EF+C) apresentava histórico de aparentes crises generalizadas atônicas. Três dos quatro tutores de animais tratados com óleo de extrato de *Cannabis* e um dos tutores de animais tratados com placebo referiram impressão de melhora global (comportamento, frequência e intensidade de crises epiléticas ou de alterações pós ictais, qualidade de vida do animal e do tutor) ao fim do período experimental. O tutor do quarto cão de G4/EF+C relatou apresentação de comportamento agitado (desagradável) com a instituição do tratamento em seu animal, porém acompanhado da percepção de melhora no controle das crises epiléticas.

Dois meses após o fim do período experimental foi realizado contato por telefone com tutores dos cães tratados com óleo de extrato de *Cannabis* para *follow up*. Um dos quatro tutores optou pela descontinuação gradual do tratamento (redução de 50% da dose, manutenção por duas semanas, seguida de suspensão da terapia) ao fim do frasco doado para realização do estudo, sem relato de percepção de qualquer alteração em frequência de crises ou em outros parâmetros. Os três animais restantes seguiram recebendo tratamento com o óleo de extrato de *Cannabis* mesmo após o fim do período experimental, sendo que um deles manteve o tratamento contínuo e dois deles chegaram a suspender a terapia (após descontinuação gradual com o mesmo protocolo citado), com percepção de piora da frequência de crises, tendo optado, assim, por retornar com a medicação e manter tratamento contínuo.

**Tabela 5 – Frequência mensal de crises epilépticas generalizadas tônico-clônicas nos dois meses que antecederam o início das terapias experimentais, média de frequência de crises mensais pré tratamento (dada pela soma dos valores de crises no mês 1 e mês 2 dividida por dois), frequência mensal de crises epilépticas generalizadas tônico-clônicas nos dois meses de terapia experimental, frequência mensal de crises mensais pós tratamento (dada pela soma dos valores de crises no mês 1 e mês 2 dividida por dois). G4/EF+C (n=4) cães epilépticos tratados com fenobarbital em associação a óleo de extrato de *Cannabis*; G5/EF+P (n=2) cães epilépticos tratados com fenobarbital em associação a placebo.**

<b>Identificação</b>	<b>Crises mês 1 pré tratamento</b>	<b>Crises mês 2 pré tratamento</b>	<b>Média de crises pré tratamento</b>	<b>Crises mês 1 pós tratamento</b>	<b>Crises mês 2 pós tratamento</b>	<b>Média de crises pós tratamento</b>
<b>G4-1</b>	1	1	1	0	0	0
<b>G4-2</b>	2	2	2	1	0	0,5
<b>G4-3</b>	1	1	1	1	1	1
<b>G4-4</b>	3	3	3	4	2	3
<b>G5-1</b>	2	3	2,5	3	3	3
<b>G5-2</b>	4	3	3,5	3	2	2,5

<b>Identificação</b>	<b>Alteração na frequência de crises?</b>	<b>Atendeu ao critério de resposta clínica?</b>
<b>G4-1</b>	Ausência de crises no período avaliado.	Sim.
<b>G4-2</b>	Redução em 75% na frequência de crises.	Sim.
<b>G4-3</b>	Ausência de alteração.	Não.



<b>G4-4</b>	Ausência de alteração.	Não.
<b>G5-1</b>	Aumento em ~ 20% na frequência de crises.	Não.
<b>G5-2</b>	Redução em ~ 30% na frequência de crises.	Não.

**Quadro 7- Alteração na frequência de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas após instituição de tratamentos experimentais.** Foram considerados respondedores cães que apresentassem redução mínima de 50% na média de frequência de crises mensais. G4/EF+C (n=4) cães epiléticos tratados com fenobarbital em associação a óleo de extrato de *Cannabis*; G5/EF+P (n=2) cães epiléticos tratados com fenobarbital em associação a placebo.

Os animais selecionados apresentavam níveis séricos de fenobarbital entre 15 e 45 µg/mL, intervalo classicamente citado como terapêutico para a espécie canina (FARNBACH, 1984; SCHWARTZ-PORSCHKE et al., 1985; LEVITSKI e TREPANIER, 2000), sendo que alguns apresentavam valores bastante próximos ao limite inferior. No entanto, referências mais atuais sugerem que se procure atingir nível sérico mais elevado (entre 25 e 35 µg/mL) naqueles pacientes que ainda não tiveram suas crises epiléticas controladas (DE RISIO e PLATT, 2014; BHATTI et al., 2015). Sendo assim, no contexto clínico desses animais, seria indicado aumento da dose do fenobarbital para atingir nível sérico mais elevado antes de se considerar a adição de mais um fármaco ao tratamento.

Supondo-se, porém, que se optasse por associar uma segunda droga na tentativa de auxiliar no controle das crises epiléticas desses cães, seria importante levar-se em conta as evidências científicas atuais de segurança e eficácia dos diferentes fármacos disponíveis para a tomada de decisão seguindo preceitos de medicina veterinária baseada em evidências (SCHMIDT, 2007). O brometo de potássio é considerado a segunda escolha para tratamento das epilepsias em cães, preferencialmente associado ao fenobarbital. O fármaco é amplamente utilizado na espécie há pelo menos 40 anos (PODELL et al., 2016), com robusta literatura disponível estabelecendo sua dose e nível sérico terapêutico, segurança, efeitos colaterais e contra-indicações de uso (TREPANIER e BABISH, 1995; DE RISIO e PLATT, 2014; BHATTI et al., 2015; ROBAINA et al., 2020). Sabe-se que, quando associado ao fenobarbital, o brometo de potássio pode reduzir em 50% a frequência de crises epiléticas em até 70% dos cães (PODELL e FENNER,

1993).

Já os estudos envolvendo a aplicação dos derivados da *Cannabis* em cães são mais recentes e escassos. Apesar da ampla evidência anedótica de segurança e eficácia no tratamento de diferentes doenças (KOGAN et al., 2018), os estudos controlados duplo-cego, que trazem evidências científicas mais robustas, são poucos. Há, até o momento, um único estudo que se enquadra nessa categoria, em que se observou resposta clínica de redução na frequência de crises epiléticas de no mínimo 50% em dois de nove cães tratados com isolado de CBD em associação a fármacos antiepiléticos “convencionais” (pouco mais de 20% dos animais foram considerados responsivos) (MCGRATH et al., 2019). O presente estudo observou redução de no mínimo 50% na frequência de crises epiléticas (média mensal) em 50% dos quatro cães tratados com o óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital. Assim como observado por MCGRATH et al. (2019), registrou-se eficácia inferior àquela relatada para associação do brometo de potássio ao fenobarbital (70%). Além disso, o presente estudo contou com um número pequeno de animais. Sendo assim, com as evidências disponíveis até o momento, o brometo de potássio ainda deve ser considerado fármaco de segunda escolha para o tratamento de cães epiléticos por sua maior eficácia.

Observou-se, ainda, eficácia distinta no controle de diferentes tipos de crises epiléticas com a utilização do óleo de extrato de *Cannabis*. Apesar de terem sido contabilizadas apenas crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas por sua facilidade de reconhecimento (PACKER et al., 2015), as crises epiléticas focais e generalizadas atônicas também foram registradas, não tendo sido notada redução de sua frequência com o emprego do produto. Na medicina humana, sabe-se que diferentes síndromes e tipos de crises epiléticas respondem de maneira distinta aos fármacos “convencionais” (havendo, inclusive, recomendação do emprego de drogas específicas para cada situação) (GOLDENBERG, 2010). DEVINSKY et al. (2016) observaram que a associação de até 50 mg/kg/dia de CBD a tratamentos previamente utilizados resultou na redução de frequência de crises epiléticas generalizadas e focais em humanos. Os pacientes que apresentavam crises focais e generalizadas atônicas, inclusive, foram os que apresentaram maior nível de redução dos episódios. MCGRATH et al. (2019) referiram tratamento com isolado de CBD de cães que apresentavam crises epiléticas generalizadas e focais, porém não foi feita distinção entre os tipos de crise no desfecho final após o tratamento. A divisão de grupos experimentais de acordo com o tipo de crise epilética apresentado pode permitir melhor análise do impacto da adição de terapias com derivados da

*Cannabis* no controle das diferentes crises epilépticas em cães em estudos futuros.

A ocorrência de efeitos colaterais relacionados a ação psicoativa (CRIPPA et al., 2016), a contra-indicação de emprego na medicina humana em crianças e adolescentes (VOLKOW et al., 2014) e a observação de efeitos antagônicos no tratamento de epilepsias experimentais (propriedades anti- e pró-convulsivantes) com o uso de THC (CHESHER e JACKSON, 1974; CHESHER et al., 1975; ROSENBERG et al., 2015) contribuem para a popularização do emprego clínico e experimental de isolados de CBD – que, em contra-partida, tem ação antiepiléptica melhor estabelecida e maior tolerabilidade (PERUCCA, 2017), porém acesso mais difícil especialmente no Brasil. Há, no entanto, evidências anedóticas (MAA e FIGI, 2014) e estudos controlados iniciais (MCCOY et al., 2018) que indicaram que a utilização de extratos de *Cannabis full spectrum* predominantes em CBD (como o produto utilizado no presente estudo) também pode determinar redução na frequência de crises epilépticas em associação a tratamentos prévios com fármacos “convencionais” em humanos, o que também pode se aplicar aos cães.

As terapias com derivados de *Cannabis* vêm sendo consideradas como um tipo de medicina personalizada: a composição do produto a ser empregado e sua dose diária podem variar individualmente, devendo ser guiados por dose-resposta em cada paciente (MACCALLUM e RUSSO, 2018), o que, no entanto, é difícil de se realizar em contexto experimental. Sendo assim, não se pode descartar que alterações na dose pudessem resultar em resposta clínica (redução de 50% na frequência de crises epilépticas) em uma maior porcentagem de animais.

MCGRATH et al. (2019) observaram alta variação nos níveis séricos de CBD com a utilização de dose fixa da substância, sendo que o controle de crises epilépticas foi diretamente proporcional ao seu nível sérico. O acompanhamento desta variável, bem como a avaliação de possível correlação desses dados com o efeito clínico no controle de crises epilépticas, seria interessante. Tal análise poderia permitir a determinação de nível sérico terapêutico das substâncias para guiar o emprego clínico de derivados de *Cannabis* no tratamento de cães epilépticos, conforme estabelecido para os fármacos convencionais fenobarbital e brometo de potássio.

A fase 2 do presente estudo pretendeu avaliar a eficácia clínica (controle de crises epilépticas) da adição de derivado da *Cannabis* ao tratamento prévio com fenobarbital em cães com epilepsias idiopáticas. A utilização de número pequeno de animais, sem o número mínimo de cães no grupo controle negativo, pode ter contribuído para a não

observação de diferença estatística com a utilização do tratamento, além de comprometer a confiabilidade na reprodutibilidade dos achados. Isso, no entanto, não invalida os achados. É interessante ressaltar que nenhum dos animais tratados com placebo foi considerado responsivo ao tratamento e que a redução global na média de frequência de crises epiléticas mensais no grupo tratado com óleo de extrato de *Cannabis* no presente estudo (33%) foi bastante semelhante às aquelas reportadas por MCGRATH et al. (2019) com a utilização de CBD isolado em cães (33%) e por DEVINSKY et al. (2016) com o emprego de CBD em mais de 100 pacientes humanos com epilepsias de difícil controle (36,5%). Ainda, a observação de que três dos quatro cães mantiveram o tratamento após fim do período experimental indica a percepção de benefício no tratamento desses animais, individualmente.

Não existe previsão oficial de prescrição de derivados da *Cannabis* por médicos veterinários no Brasil por parte do MAPA ou CFMV. Sabe-se, porém, que o emprego *off label* desses produtos vem sendo realizado por alguns profissionais no país nos últimos anos. Recentes RDCs da ANVISA, no entanto, restringem a prescrição de produtos derivados da *Cannabis* (disponíveis no mercado nacional ou importados) apenas a profissionais médicos legalmente habilitados pelo Conselho Federal de Medicina (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2020), o que pode dificultar por ora acesso a essas terapias pela classe médica veterinária.

#### **4. CONCLUSÕES**

Nas condições estudadas (espécie e idade dos animais envolvidos, composição do óleo de extrato de *Cannabis* utilizado, dose empregada, tempo de tratamento e de acompanhamento) e considerando-se as variáveis avaliadas conclui-se que:

1. A associação do óleo de extrato de *Cannabis* ao fenobarbital é segura e pode contribuir para a redução na frequência de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas.
2. O uso do óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia e/ou associado ao fenobarbital não determina alterações cardiovasculares ou em níveis séricos de uréia, creatinina e fenobarbital.

3. O uso do óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia não determina alterações na atividade sérica de ALT, AST ou FA.
4. O uso do óleo de extrato de *Cannabis* associado ao fenobarbital pode promover aumento na atividade sérica de FA e ALT. Sugere-se o acompanhamento desses parâmetros e de outros indicadores de lesão ou função hepática.
5. O uso do óleo de extrato de *Cannabis* em monoterapia e/ou associado ao fenobarbital pode provocar alterações no número de eritrócitos e nos índices CHCM e HCM. Recomenda-se o acompanhamento desses parâmetros.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As epilepsias são um conjunto de doenças crônicas e prevalentes em cães, com alto índice de refratariedade aos tratamentos farmacológicos atualmente disponíveis. Há, assim, demanda importante pelo desenvolvimento de novas terapias para a condição.

Assim como na medicina humana, os derivados da *Cannabis* são atualmente considerados uma grande aposta para o tratamento de epilepsias farmacorresistentes na medicina veterinária. Até hoje, o único estudo que avaliou a eficácia deste tipo de terapia em cães epiléticos o fez por meio da utilização de isolado de CBD. Da mesma forma, a maioria dos estudos que avaliou a segurança do uso de derivados de *Cannabis* empregou o CBD isolado.

O maior ponto-forte do presente estudo é o ineditismo, por ter utilizado em cães um produto derivado de *Cannabis* que contém THC em sua composição. Já os pontos-fracos foram a utilização de um número pequeno de animais – especialmente no grupo controle na fase 2, o uso de baixas doses de fitocanabinoides, a ausência de análises farmacocinéticas como mensuração sérica de CBD e THC e a falta de um parâmetro menos subjetivo para acompanhamento do efeito da terapia experimental sobre o controle de crises epiléticas, como o eletroencefalograma.

O presente estudo demonstrou a possibilidade de uso em cães de um extrato de *Cannabis full spectrum* predominante em CBD nacional, acessível e de qualidade. Apesar de não ter sido notada diferença estatisticamente significativa no controle de crises epiléticas, dois cães foram considerados responsivos a terapia, o que, em um contexto individual, pode ser interessante. Exceto pelas questões legais que envolvem a prescrição desse tipo de tratamento por médicos veterinários no país atualmente, os

derivados da *Cannabis* poderiam ser considerados como opção terapêutica adjuvante ao tratamento antiepiléptico convencional em cães com epilepsias farmacorresistentes.

Deve-se desencorajar, no entanto, o uso imprudente de deste tipo de terapia. Assim como observado em qualquer outra modalidade de tratamento o emprego de derivados da *Cannabis* sem garantia de qualidade, em dosagens inadequadas ou em detrimento a terapias com maior evidência de segurança e eficácia pode trazer prejuízo à saúde dos animais. A polarização no debate que envolve o uso medicinal da *Cannabis* gera por um lado profissionais que sempre contestarão as evidências científicas de benefício e, por outro lado, profissionais que se baseiam no empirismo para propagar a falsa impressão de que se trata de uma panacéia: um tratamento natural, inofensivo e sempre benéfico.

## 6. PERSPECTIVAS FUTURAS

A Câmara dos Deputados aprovou recentemente (junho de 2021) o texto-base de um projeto de lei (PL 399/15) que propõe medidas para regulamentação do cultivo, prescrição (inclusive por médicos veterinários), comercialização e fiscalização de produtos derivados da *Cannabis* no Brasil. Ainda, há outro PL atualmente em tramitação (369/2021), que pretende regulamentar o uso medicinal da *Cannabis* especificamente na medicina veterinária. A possibilidade de sanção dessas propostas traz consigo a perspectiva de maior facilidade de acesso a derivados da *Cannabis* de qualidade, o que poderá permitir a realização de mais estudos que busquem elucidar sua segurança e potencial terapêutico no tratamento de diferentes doenças em cães.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, E. L. Effects of marihuana on the solution of anagrams, memory and appetite. **Nature**, v. 231, p. 260 – 261, 1971.

ABRAMO, F.; CAMPORA, L.; ALBANESE, F. et al. Increased levels of palmitoylethanolamide and other bioactive lipid mediators and enhanced local mast cell proliferation in canine atopic dermatitis. **BMC veterinary research**, v. 14, p. 10 – 21, 2014.

ABRAMS, D. I. Integrating cannabis into clinical cancer care. **Current oncology**, v. 23, n. 2, p. S8 – S14, 2016.

ACIERNO, M. J.; BROWN, S.; COLEMAN, A. E. et al. ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 32, n. 6, p. 1803 – 1822, 2018.

AERTS-KAYA, F.; ULUM, B.; MAMMADOVA, A. et al. Neurological regulation of the bone marrow niche. In: TURKSEN, K. **Cell biology and translational medicine**, v. 6. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1212. Springer, Cham. 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 327, de 9 de dezembro de 2019. Disponível em <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-327-de-9-de-dezembro-de-2019-232669072>>. Acessado em 20 de março de 2020.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada – RDC nº 335, de 24 de janeiro de 2020. Disponível em <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-335-de-24-de-janeiro-de-2020-239866072>>. Acessado em 4 de junho de 2020.

AIELLO, G.; SANTOS, R. P.; BECKMANN, D. V. et al. Epilepsia em cães : 66 casos (2005-2010). **Pesq. Vet. Bras.**, v. 32, n. 4, p. 347-351, 2012.

ALSHAARAWY, O.; ANTHONY, J. C. Are Cannabis users less likely to gain weight? Results from a national 3-year protective study. **International Journal of Epidemiology**, v. 48, n. 5, p. 1695 – 1700, 2019.

ALSHAARAWY, O.; ELBAZ, H. A. Cannabis Use and Blood Pressure Levels: United States National Health and Nutrition Examination Survey, 2005–2012. **HHS public access**, v. 34, n. 8, p. 1507 – 1512, 2016.

ALVES, L.; HULSMEYER, V.; JAGGY, A.; FISCHER, A. et al. Polymorphisms in the ABCB1 gene in phenobarbital responsive and resistant idiopathic epileptic Border Collies. **J Vet Intern Med.**, v. 25, n. 3, p. 484 – 489, 2011.

AMERI, A. The effects of cannabinoids on the brain. **Progress in neurobiology**, v. 58, p. 315 – 348, 1999.

ANDERSON, L. L.; ABSALOM, N. L.; ABELEV, S. V. et al. Coadministered cannabidiol and clobazam: Preclinical evidence for both pharmacodynamic and pharmacokinetic interactions. **Epilepsia**, v. 60, n. 11, p. 2224 – 2234, 2019.

APPLE, C. No limbo da lei, veterinários prescrevem Cannabis medicinal a animais doentes. Disponível em [www.sechat.com.br](http://www.sechat.com.br). 2020.

ARZIMANOGLU, A.; BRANDL, U.; CROSS, J. H. et al. Epilepsy and cannabidiol: a guide to treatment. **Epileptic disorders**, v. 22, n. 1, p. 1- 14, 2020.

ASHTON, J. C.; FRIBERG, D.; DARLINGTON, C. L. et al. Expression of the cannabinoid CB2 receptor in the rat cerebellum: and imunohistochemical study. **Neuroscience letters**, n. 396, p. 113 – 116, 2006.

AZZOPARDI, J. M.; WENNER, K. ECGs made easy. Michigan veterinary medical association proceedings. Disponível em [https://michvma.org/resources/Documents/MVC/2017%20Proceedings/azzopardi\\_wenner.pdf](https://michvma.org/resources/Documents/MVC/2017%20Proceedings/azzopardi_wenner.pdf). 2017.

BACKES, M. **Cannabis pharmacy the practical guide do medical marijuana**. New York: Black dog & leventhal publishers. 2014.

BAIRD-HEINZ, H. E.; VAN-SCHOICK, A. L.; PELSOR, F. R. et al. A systematic review of the safety of potassium bromide in dogs. **J Am Vet Med Assoc.**, v. 240, n.6, p. 705-715, 2012.

BARRIE, N.; MANOLIOS, N. The endocannabinoid system in pain in inflammation: its relevance to rheumatic disease. **European journal of rheumatology**, v. 4, n. 3, p. 210 – 218, 2017.

BARTNER, L. R.; MCGRATH, S.; RAO, S.; HYATT, L. K.; WITTENBURG, L. A. Pharmacokinetics of cannabidiol administered by 3 delivery methods at 2 different dosages to healthy dogs. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 82, p. 178 – 183, 2018.

BATES, N. Poisons affecting the neurological system. **The veterinary nurse**, v. 11, n. 3, p. 116 – 125, 2020.

BEASLEY, M. J.; BOOTHE, D. M. Disposition of Extended Release Levetiracetam in Normal Healthy Dogs After Single Oral Dosing. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 29, n. 5, p. 1348 – 1353, 2015.

BELEZA, P. Refractory epilepsy: a clinically oriented review. **European neurology**, v. 62, n. 2, p. 65 – 71, 2009.



- BENEDETTI, M. S.; COUPEZ, R.; WHOMSLEY, R. et al. Comparative pharmacokinetics and metabolism of levetiracetam, a new anti-epileptic agent, in mouse, rat, rabbit and dog. **Xenobiotica**, v. 34, n. 3, p. 281 – 300, 2004.
- BERENDT, M.; ALVIN, J.; GREDAL, H. Characteristics and Phenomenology of Epileptic Partial Seizures in Dogs: Similarities with Human Seizure Semiology. **Epilepsy research**, v. 61, n. 1 – 3, p. 167 – 173, 2004.
- BERENDT, M.; FARQUHAR, R. G.; MANDIGERS, P. J. J. et al. International Veterinary Task Force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals. **BMC veterinary research**, v. 11, n. 182, p. 1-11, 2015.
- BERENDT, M.; GRAM, L. Epilepsy and seizure classification in 63 dogs: a reappraisal of veterinary epilepsy terminology. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 13, p. 14 – 20, 1999.
- BERENDT, M.; GREDAL, H.; ERSBOLL, A. K. et al. Premature death, risk factors, and life patterns in dogs with epilepsy. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 21, n. 4, p.754 – 759, 2007.
- BERENDT, M.; GREDAL, H.; PEDERSEN, L. G. et al. A cross-sectional study of epilepsy in Danish Labrador Retrievers: prevalence and selected risk factors. **J Vet Intern Med.**, v.16, n.3, p. 262–268, 2002.
- BERENDT, M.; HOGENHAVEN, H.; FLAGSTAD, A. et al. Electroencephalography in dogs with epilepsy: similarities between human and canine findings. **Acta neurologica scandinavica**, v. 99, n. 5, p. 276 – 283, 1999.
- BERK, B. A.; PACKER, R. M. A.; LAW, T. et al. A double-blinded randomized dietary supplement crossover trial design to investigate the short-term influence of medium-chain fatty acid (MCT) supplement of canine idiopathic epilepsy: study protocol. **BMC veterinary research**, v. 15, n. 181, p. 1 – 14, 2019.
- BHATTI, S. F.; DE RISIO, L.; MUNANA, K. et al. International Veterinary Epilepsy Task Force consensus proposal: medical treatment of canine epilepsy in Europe. **BMC veterinary research**, v. 11, n. 39, p. 160 - 176, 2015.
- BISCHOFF, K. Toxicity of drugs of abuse. In: GUPTA, R. C. **Veterinary toxicology: basic and clinical principles**. Oxford: Academic press. 2018.

- BOLLINGER-SCHMITZ, K.; KLINE, K. An overview of canine idiopathic epilepsy for the small animal practitioner. **Iowa State University veterinarian**, v. 62, n. 1, p. 23 – 29, 2000.
- BOOTHE, D. M.; CRUZ-ESPINDOLA, C.; GILLETTE, R. et al. Cannabidiol disposition after single oral dosing in fasted and fed dogs. In: 2020 ACVIM forum on demand research abstract program. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 34, p. 2830 – 2989, 2020.
- BOOTHE, D. M.; DEWEY, C.; CARPENTER, D. M. Comparison of phenobarbital with bromide as a first-choice antiepileptic drug for treatment of epilepsy in dogs. **J. am. Vet. Med. Asso**, v. 240, n. 9, p. 1073-83, 2012.
- BOSSONG, M. G.; NIESINK, R. J. M. Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. **Progress in neurobiology**, v. 92, p. 370 – 385, 2010.
- BRAUER, C.; KASTNER, S. B. R.; ROHN, K. et al. Electroencephalographic recordings in dogs suffering from idiopathic and symptomatic epilepsy: diagnostic value of interictal short time EEG protocols supplemented by two activation techniques. **The veterinary journal**, v. 193, n. 1, p. 185 – 192, 2012.
- BROWN, J. D.; WINTERSTEIN, A. G. Potential adverse drug events and drug-drug interactions with medical and cosumer cannabidiol (CBD) use. **Journal of clinical medicine**, v. 8, n. 989, p. 1 – 14, 2019.
- BRUNET, B.; DOUCET, C.; VENISSE, N. et al. Validation of large white pig as an animal model for the study of cannabinoids metabolism: application to the study of THC distribution in tissues. **Forensic science international journal**, v. 161, n. 2 – 3, p. 169 – 174, 2006.
- BRUNI, N.; DELLA PEPA, C.; OLIARO-BOSSO, S. et al. Cannabinoid Delivery Systems for Pain and Inflammation Treatment. **Molecules**, v. 23, n. 2478, p. 1 – 25, 2018.
- BRUTLAG, A.; HOMMERDIG, H. Toxicology of Marijuana, Synthetic Cannabinoids, and Cannabidiol in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics: Small Animal**, v. 48, p. 1087 – 1102, 2018.

CAGNOTTI, G.; ODORE, R.; BERTONE, I. et al. Open-label clinical trial of rectally administered levetiracetam as supplemental treatment in dogs with cluster seizures. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 33, n. 4, p. 1714 – 1718, 2019.

CALABRESE, E. J.; RUBIO-CASILLAS, A. Biphasic effects of THC in memory and cognition. **European journal of clinical investigation**, v. 48, p. 1 – 9, 2018.

CAMPORA, C.; MIRAGLIOTTA, V.; RICCI, E. et al. Cannabinoid receptor type 1 and 2 expression in the skin of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis. **American journal of veterinary research**, v. 73, n. 7, p. 988 – 995, 2012.

CARLINI, E. A. A história da maconha no Brasil. **Jornal brasileiro de psiquiatria**, v. 55, n.4, p. 314 – 317, 2006.

CARLINI, E. A.; LEITE, J. R.; TANHAUSER, M. et al. Cannabidiol and Cannabis sativa extract protect mice and rats against convulsive agents. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 25, p. 664 - 665, 1973.

CARNABUCI, C.; TOGNETTI, R.; VEZZOSI, T. et al. Left shift of the ventricular mean electrical axis in healthy Doberman Pinschers. **Journal of veterinary medical science**, v. 81, n. 4, p. 620 – 625, 2019.

CARVALHO, V. M.; AGUIAR, A. F. L.; BARATTO, L. C.; SOUZA, F. L.; ROCHA, E. D. Quantificação de canabinoides em extratos medicinais de *Cannabis* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química nova**, v. 43, n. 1, p. 90 – 97, 2020.

CERRATO, S.; BRAZIS, P.; DELLA VALLE, M. F. et al. Effects of palmitoylethanolamide on the cutaneous allergic inflammatory response in ascaris hypersensitive Beagle dogs. **Veterinary Journal**, v.191, p. 377 – 382, 2012.

CHANDLER, K. Canine epilepsy: what can we learn from human seizure disorders? **The veterinary journal**, v. 172, n. 2, p. 207 – 217, 2006.

CHANG, Y.; MELLOR, D. J; ANDERSON, T. J. Idiopathic epilepsy in dogs: owners' perspectives on management with phenobarbitone and/or potassium bromide. **J Small Anim Pract**, v. 47, n. 10, p. 574 – 581, 2006.

CHARALAMBOUS, M.; BRODBELT, D.; VOLK, H. A. Treatment in canine epilepsy – a review. **BMC Veterinary Research**, v. 10, p. 1 – 25, 2014.

CHARALAMBOUS, M.; SHIVAPOUR, S. K.; BRODBELT, D. C. et al. Antiepileptic drugs' tolerability and safety – a systematic review and meta-analysis of adverse effects in dogs. **BMS veterinary reserach**, v. 12, n. 79, p. 1 – 44, 2016.

CHARALAMBOUS, M.; HAM, L. V.; BROECKX, B. J. G.; et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation in drug-resistant idiopathic epilepsy of dogs: A noninvasive neurostimulation technique. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 34, n. 6, p. 2555 – 2561, 2020.

CHEN, Y.; FERGUSON, S. S.; NEGISHI, M. et al. Induction of human CYP2C9 by rifampicin, hyperforin, and phenobarbital is mediated by the pregnane X receptor. **Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 308, n. 2, p. 495 – 501, 2004.

CHESHER, G. B.; JACKSON, D. M. Anticonvulsant effects of cannabinoids in mice: drug interactions within cannabinoids and cannabinoid interactions with phenytoin. **Psychopharmacologia**, v. 37, p. 255 – 264, 1974.

CHESHER, G. B.; JACKSON, D. M.; MALOR, R. M. Interaction of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol with phenobarbitone in protecting mice from electrically induced convulsions. **Journal of pharmacy and pharmacology**, v. 27, p. 608 – 609, 1975.

CHICOINE, A.; ILLING, K.; VUONG, S. et al. Pharmacokinetic and safety evaluation of various oral doses of a novel 1:20 THC:CBD *Cannabis* herbal extract in dogs. **Fro tiers in veterinary science**, v. 7, n. 583404, p. 1 – 12, 2020.

CHIOCCHETTI, R.; GALIAZZO, G.; TAGLIAVIA, C. et al. Cellular distribution of canonical and putative cannabinoid receptors in canine cervical dorsal root ganglia. **Fro tiers in veterinary science**, v. 6, n. 313, p. 1 – 13, 2019.

CHWALBA, A.; OTTO-BUCZKOWSKA, E. The endocannabinoid system in the control of glucose homeostasis. **Austin diabetes research**, v. 4, n. 1, p. 1 – 3, 2019.

COMPTON, D. R.; GOLD, L. H.; WARD, S. J. et al. Aminoalkylindole analogs: cannabimimetic activity of a class of compounds structurally distinct from delta 9-tetrahydrocannabinol. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 263, p. 1118 - 1126, 1992.

COSTA, A. C.; STASKO, M. R.; STOFFEL, M. et al. G-protein-gated potassium(GIRK) channels containing the GIRK2 subunit are control hubs for pharmacologically induced hypothermic responses. **J Neurosci**, v. 25, 7801 - 7804, 2005.

COTA, D.; MARSICANO, G.; TSCHOP, M. et al. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. **J. Clin. Investig.**, v. 112, p. 423 – 431, 2003.

CRIPPA, J. A. S.; CRIPPA, A. C. S.; HALLAK, J. E. C. et al.  $\Delta$ 9-THC Intoxication by Cannabidiol-Enriched Cannabis Extract in Two Children with Refractory Epilepsy: Full Remission after Switching to Purified Cannabidiol. **Frontiers in pharmacology**, v. 7, n. 359, p. 1 – 6. 2016.

CROCI, T.; MANARA, L.; AUREGGI, G. et al. In vitro functional evidence of neuronal cannabinoid CB1 receptors in human ileum. **Brasilian journal of pharmacology**, v. 125, n. 7, p. 1393 – 1395, 1998.

CULLER, C. A.; VIGANI, A. Successful treatment of a severe cannabinoid toxicity using extracorporeal therapy in a dog. **Veterinary emergency and critical care**, p. 1 – 6, 2018.

CUNHA, J. M.; CARLINI, E. A.; PEREIRA, A. E. et al. Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. **Pharmacology**, v. 21, p. 175 – 185, 1980.

DALL'AGLIO, C.; MERCATI, F.; PASCUCCI, L. Immunohistochemical localization of CB1 receptor in canine salivary glands. **Veterinary Research Communications**, v. 34, p. S1 – S12, 2010.

DAYRELL-HART, B.; STEINBERG, S. A.; VANWIKLE, T. J. et al. Hepatotoxicity of phenobarbital in dogs : 18 cases (1985 – 1989). **J Am Vet Med Assoc**, v. 15, n.8, p. 1060-6,1991.

DE AGUIAR, A. F. L. **Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de canabinoides em extratos de Cannabis**. 2018. 65 p. Trabalho de

conclusão de curso de bacharel em ciências biológicas. Universidade Federal do Rio de Janeiro , Rio de Janeiro.

DE ÁLAVA, A. F. **Cannabis de uso medicinal para el tratamiento de dolor crónico de un labrador retriever con osteoartritis: relato de caso.** 2019. 44 p. Tesis de grado en ciencias veterinarias. Universidad de la republica, Montevideo.

DE FONSECA, F. R. The endocannabinoid system and food intake control. **Revista de medicina de la Universidad de Navarra**, v. 48, n. 2, p. 18 – 23, 2004.

DE RISIO, L.; BHATTI, S.; MUNANA, K. et al. International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 11, p. 148, 2015.

DE RISIO, L.; PLATT, S. Canine and feline epilepsy: diagnosis and management. 1. ed. Boston: CABI, 2014.

DEABOLD, K. A.; SCHWARK, W. S.; WOLF, L. et al. Single-Dose Pharmacokinetics and Preliminary Safety Assessment with Use of CBD-Rich Hemp Nutraceutical in Healthy Dogs and Cats. **Animals**, v. 832, n. 9, p. 1 – 3, 2019.

DEUTSCH, D. G.; GOLIGORSKY, M. S.; SCHMID, P. C. et al. . Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. **Journal of Clinical Investigation**, v. 100, p. 1538 – 1546, 1997.

DEVANE, W. A.; DYSARZ, F. A.; JOHNSON, M. R. et al. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. **Molecular Pharmacology**, v. 34, n. 5, p.605 - 613, 1988.

DEVANE, W. A.; HANUS, L.; BREUER, A. et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. **Science**, v. 258, n. 5090,p. 1946- 1949, 1992.

DEVINSKY, O.; CILIO, M. R.; CROSS, H. et al. Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. **Epilepsia**, v. 55, n. 6, p. 791–802, 2014.

DEVINSKY, O.; CROSS, H.; LAUX, L. et al. Trial for Cannabidiol for drug-resistant seizures in the dravet syndrome. **The new England journal of medicine**, v. 376, n. 21, p. 2011-2020, 2017.

DEVINSKY, O.; PATEL, A. D.; THIELE, E. A. et al. Randomized, dose-ranging safety trial of cannabidiol in Dravet syndrome. **Neurology**, v. 90, n. 14, p. 1204 – 1211, 2018a.

DEVINSKY, O.; PATEL, A. D.; CROSS, J. H. et al. Effect of cannabidiol on drop seizures in the Lennox-Gastaut syndrome. **New england journal of medicine**, v. 378, n. 209, p. 1888 – 1897, 2018b.

DEWEY, C. W.; DA COSTA, R. C.; THOMAS, W. B. Performing the neurologic examination. In: DEWEY, C. W.; DA COSTA, R. C. **Practical guide to canine and feline neurology**. 3<sup>a</sup> ed. Iowa, Wiley Blackwell, 2016. 688 p.

DI MARZO, V. Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? **Nat Rev Drug Discov**, v. 7, n. 5, p. 438 – 455, 2008.

DI MARZO, V.; DESPRÉS, J. P. CB1 antagonists for obesity – what lessons have we learned from rimonabant? **Nat. Rev. Endocrinol.**, v. 5, p. 633 – 638, 2009.

DI MARZO, V.; PISCITELLI, F.; MECHOULAM, R. Cannabinoids and endocannabinoids in metabolic disorders with focus in diabetes. **Handbook of experimental pharmacology**, v. 203, p. 75 – 104, 2011.

DIXON, W.E. The Pharmacology of Cannabis indica. **British medical journal**, v. 2, p. 1354 –1357, 1899.

DONALDSON, C. W. Marijuana exposure in animals. **Veterinary Medicine – toxicology brief**, p. 439, 2002.

DOS REIS, F. B.; LOPES, A. D.; FALOPPA, F. et al. A importância da qualidade dos estudos para a busca de melhor evidência. **Revista brasileira de ortopedia**, v. 43, n. 6, p. 209 – 216, 2008.

EADIE, M. J. Sir Charles Locock and potassium bromide. **J R Coll Physicians Edinb.**, v. 42, n. 3, p. 274-279, 2012.

EL-SOUROGY, M.; MALEK, A. Y.; IBRAHIM, H. H. et al. The effect of *Cannabis indica* on carbohydrate metabolism in rabbits. **Journal of Egypt Medical Association**, v. 49, p. 626 – 628, 1966.

ENGLUND, A.; STONE, J. M.; MORRISON, P. D. Cannabis in the arm: what can we learn from intravenous cannabinoid studies? **Current Pharmaceutical Design**, v. 18, n. 32, p. 4906 -4914, 2012.

ERATH, J R.; NESSLER, J. N.; RIESE, F. et al. Behavioral Changes Under Levetiracetam Treatment in Dogs. *Frontiers in veterinary science*, v. 7, n. 169, p. 1 – 9, 2020.

ESCOUBET, J.; KENIGSBERG, M.; DEROCK, M. et al. ABHD1, a new diacylglycerol lipase involved in weight gain regulation. **PloS One**, v. 15, n. 6, p. 1 – 21, 2020.

ETTINGER, S. J. The physical examination of the dog and the cat. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. Elsevier Health Sciences division : Philadelphia – USA, 6 ed, v. 1, 2005.

FARNBACH, G. C. Serum concentrations and efficacy of phenytoin, phenobarbital and primidone in canine epilepsy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 184, p. 1117–1120, 1984.

FDA. FDA regulation on Cannabis and Cannabis-derived products, including Cannabidiol (CBD). Disponível em <https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-including-cannabidiol-cbd> . 2020.

FDA. Summary of cannabidiol safety studies. Disponível em <https://www.fda.gov/media/128516/download>. 2019.

FENNESSY, M. R.; TAYLOR D. A. The effect of delta9- tetrahydrocannabinol on body temperature and brain amine concentrations in the rat at different ambient temperatures. **Br J Pharmacol**, v. 60, p. 65 – 71, 1997.

FERNANDÉZ-TRAPERO, M.; ESPEJO-PORRAS, F.; RODRÍGUEZ-CUETO, C. et al. Upregulation of CB2 receptors in reactive astrocytes in canine degenerative myelopathy, a disease model of amyotrophic lateral sclerosis. **Disease models and mechanisms**, v. 10, n. 5, p. 551 – 558, 2017.

FERNANDÉZ-TRAPERO, M.; PERÉZ-DÍAZ, C.; ESPEJO-PORRAS, F. et al. Pharmacokinetics of Sativex® in Dogs: Towards a Potential Cannabinoid-Based Therapy for Canine Disorders. **Biomolecules**, v. 279, n. 10, p. 1 – 8, 2020.

FISAR, Z. Phytocannabinoids and endocannabinoids. **Current Drug Abuse Reviews**, v. 2, p. 51–75, 2009.

FISHER, R. S.; CROSS, J. H.; D'SOUZA, C. et al. Instruction manual for the ILAE 2017 operational classification of seizure types. **Epilepsia**, v. 58, n. 4, p. 531 – 542, 2017.



FITTON, A. G.; PERTWEE, R. G. Changes in body temperature and oxygen consumption rate of conscious mice produced by intrahypothalamic and intracerebroventricular injections of delta 9-tetrahydrocannabinol. **Br J Pharmacol**, v. 75, p. 409 – 414, 1982.

FITZGERALD, K. T.; BROSNTEN, A. C.; NEWQUIST, K. L. Marijuana poisoning. **Topics in companion animal medicine**, v. 28, n. 1, p. 8 – 12, 2013.

FOSTER, S. F.; CHURCH, D. B.; WATSON, A. D. J. Effects of phenobarbitone on serum biochemical tests in dogs. **Australian veterinary journal**, v. 78, n. 1, p. 23 – 26, 2000.

FRASER, A. D. Urine drug testing for social service agencies. A Canadian experience. **Clinics in laboratory medicine**, v. 18, p. 705 – 711, 1998.

FREDSO, N.; TOFT, N.; SABERS, A. **et al.** A prospective observational longitudinal study of new-onset seizures and newly diagnosed epilepsy in dogs. **BMC veterinary research**, v. 13, n. 54, p. 1 – 11, 2017.

**FRENCH, A. Introduction to electrocardiography. 2008 World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings. Disponível em <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=3866623&pid=11268&print=1#:~:text=T%20waves%20can%20be%20positive,waves%20are%20seen%20with%20hypokalemia..> 2008.**

FRENCH, J. A.; PERUCCA, E. Time to start calling things by their own name? The case for antiseizure medication. **Epilepsy currents**, v. 20, n. 2, p. 69 – 72, 2020.

FREUNDT-REVILLA, J.; HEINRICH, F.; ZOERNER, A. **et al.** The endocannabinoid system in canine steroid-responsive meningitis-arteritis and intraspinal spirocercosis. **PloS one**, v. 13, n. 2, p. 1 – 23, 2018.

FREUNDT-REVILLA, J.; KEGLER, K.; BAUMGARTNER, W. **et al.** Spatial distribution of cannabinoid receptor type 1 (CB<sub>1</sub>) in normal canine central and peripheral nervous system. **PLoS One**, v.12, n. 7, : p. 1 – 21, 2017.

FRIDE, E. E. Endocannabinoids in the central nervous system – an overview. **Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids**, v. 66, n. 2 – 3, p. 221 – 233, 2002.

FRIEDENBERG, S. G.; BUTLER, A. L.; WEI, L. **et al.** Seizures following head trauma in dogs: 259 cases (1999–2009). **JAVMA**, v. 241, n. 11, p. 1479 – 1483, 2012.

- GAETANI, S.; FU, J.; CASSANO, T. et al. The fat-induced satiety factor oleoylethanolamide suppresses feeding through central release of oxytocin. **J. Neurosci.**, v. 30, p. 8096 – 8101, 2010.
- GALIAZZO, G.; GIANCOLA, F.; STANZANI, A. et al. Localization of cannabinoid receptors CB1, CB2, GPR55, and PPAR  $\alpha$  in the canine gastrointestinal tract. **Histochemistry and cell biology**, v. 150, n. 2, p. 187 – 205, 2018.
- GALUCCI, A.; GAGLIARDO, T.; MENCHETTI, M. et al. Long-term efficacy of imepitoin in the treatment of naïve dogs affected by idiopathic epilepsy. **Veterinary Record**, v. 181, n. 6, p. 1- 7, 2017.
- GAMBLE, L.; BOESCH, J. M.; FRYE, C. W. et al. Pharmacokinetics, Safety, and Clinical Efficacy of Cannabidiol Treatment in Osteoarthritic Dogs. **Frontiers in veterinary science**, v. 5, n. 165, p. 1 – 9, 2018.
- GAONI, Y; MECHOULAM, R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. **Journal of the american chemical society**, v. 86, n. 8, p. 1646 – 1647, 1964.
- GARRETT, E. R.; HUNT, C. A. Pharmacokinetics of delta-9-tetrahydrocannabinol in dogs. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 66, p. 395 – 407, 1977.
- GASKILL, C. L.; HOFFMANN, W. E.; CRIBB, A. E. Serum alkaline phosphatase isoenzyme profiles in phenobarbital-treated epileptic dogs. *Veterinary clinical pathology*, v. 33, n. 4, p. 215 – 222, 2004.
- GASTON, T. E.; BEBIN, E. M.; CUTTER, G. R. et al. Interactions between cannabidiol and commonly used antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v. 58, p. 586 – 592, 2017.
- GASTON, T. E.; BEBIN, E. M.; CUTTER, G. R. et al. Interactions between cannabidiol and commonly used antiepileptic drugs. **Epilepsia**, v. 58, n. 9, p. 1586 – 1592, 2017.
- GERTSCH, J.; PERTWEE, R. G.; DI MARZO, V. Phytocannabinoids beyond the *Cannabis* plant – do they exist? **British Journal of Pharmacology**, v. 160, n. 3, p. 523 – 529, 2010.
- GESELL, F. K.; HOPPE, S.; LOSCHER, W. et al. Antiepileptic drug withdrawal in dogs with epilepsy. **Frontiers of veterinary Science**. v. 2, n. 23, p. 1 – 4, 2015.

GESELL, F. K.; ZOERNER, A. A.; BRAUER, C.; ENGELI, S.; TSIKAS, D.; TIPOLD, A. Alterations of endocannabinoids in cerebrospinal fluid of dogs with epileptic seizure disorder. **BMC Veterinary Research**, v. 9, n. 262, 2013.

GIL, F.; HERNANDEZ, A. F.; MARTÍN-DOMINGO, M. C. Toxic Contamination of Nutraceuticals and Food Ingredients. In: GUPTA, R. **Nutraceuticals: efficacy, safety and toxicity**. Oxford: Academic press. 2016.

GOLDBERGER, C.; DERVAUX, A.; GOURION, D. et al. Variable individual sensitivity to cannabis in patients with schizofrenia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, v. 13, n. 9, p. 1145 – 1154, 2010.

GOUTAL, C. M.; BRUGMANN, B. L.; RYAN, K. A. et al. Insulinoma in Dogs: A Review. **Animal hospital association**, v. 48, p. 151 – 163, 2012.

GOWERS, W. **Epilepsy and other chronic convulsive diseases; their causes, symptoms and treatment**. London: Churchill, 1881.

GREB, A.; PUSCHNER, B. Cannabinoid treats as adjunctive therapy for pets: gaps in our knowledge. **Toxicology communications**, v. 2, n. 1, p. 10 – 14, 2018.

GREENBERG, I.; KUEHNLE, J.; MENDELSON, J. H.; BERNSTEIN, J. G. Effects of marihuana use on body weight and caloric intake in humans. **Human pharmacology**, v. 49, p. 79 – 84, 1976.

GREENHALGH, S. N.; DUNNING, M. D.; MCKLINLEY, T. J. et al. Comparison of survival after surgical or medical treatment in dogs with a congenital portosystemic shunt. **Journal of the american veterinary medical association**, v. 236, n. 11, p. 1215 – 1220, 2010.

GRUEN, M. E.; DORMAN, D. C.; LASCELLES, B. D. X. Caregiver Placebo Effect in Analgesic Clinical Trials for Painful Cats with Naturally-Occurring Degenerative Joint Disease. **Veterinary records**, v. 180, n. 19, p. 473 – 490, 2017.

GUERREIRO, M. M.; GUERREIRO, C. A. M. Fenobarbital – um fármaco efeito mais de um século após sua descoberta. In: YACUBIAN, E. M. T.; CONTRERAS-CAICEDO, G.; RÍOS-POHL, L. **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo: Leitura médica limitada. 2014.

- GULLOV, C. H.; TOFT, N.; BERENDT, M. A Longitudinal Study of Survival in Belgian Shepherds with Genetic Epilepsy. *J Vet Intern Med.*, v. 26, p. 1115 – 1120, 2012.
- GYLES, C. Marijuana for pets? ***Cannadian Veterinary Journal***, v. 57, n. 12, p. 1215 – 1218, 2016.
- HABOCK, G.; PAKOZDY, A. Haematological abnormalities in dogs during Phenobarbital treatment. ***Wiener Tierärztliche Monatsschrift – Veterinary Medicine Austria***, v. 99, p. 18 – 25, 2012.
- HALL, J. A.; JEWELL, D. E. Feeding healthy beagles with medium-chain triglycerides, fish oil, and carnitine offsets age-related changes in serum fatty acids and carnitine metabolites. ***PloS one***, v. 7, n. 11, p. 1 – 12, 2012.
- HALL, R.; LABRUYERE, J.; VOLK, H. et al. Estimation of the prevalence of idiopathic epilepsy and structural epilepsy in a general population of 900 dogs undergoing MRI for epileptic seizures. ***Veterinary record***, Online access ahead of print, 2020.
- HANSEN, C. C.; LJUNG, H.; BRODTKORB, E. **et al.** Mechanisms Underlying Aggressive Behavior Induced by Antiepileptic Drugs: Focus on Topiramate, Levetiracetam, and Perampanel. *Behavioural neurology*, v. 2018, p. 1 – 18, 2018.
- HANUŠ, L. O.; MEYER, S. M.; MUÑOZ, E. et al. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. ***Natural product reports***, v. 33, n. 12, p. 1357 – 1392, 2016.
- HARTSEL, J. A.; BOYAR, K.; PHAM, A. et al. Cannabis in Veterinary Medicine: Cannabinoid Therapies for Animals. In: GUPTA, R. C.; SRIVASTAVA, A.; LALL, R. ***Nutraceuticals in veterinary medicine***. Gewerbestrasse: Springer nature switzerland. 2019.
- HARVEY, D. J.; SAMARA, E.; MECHOULAM, R. Comparative metabolism of cannabidiol in dog, rat and man. ***Pharmacology Biochemistry and Behavior***, v. 40, p. 523 – 532, 1991.
- HAUPTMANN, A. Luminal bei epilepsie. ***Munch Med Wochenschr***, v. 59, p. 1907–1909, 1912.
- HEIFETS, B.D.; CASTILLO, P.E. Endocannabinoid signaling and long-term synaptic plasticity. ***Annu. Rev. Physiol.***, v. 71, p. 283 – 306, 2009.
- HERKENHAM, M.; LYNN, A. B.; LITTLE, M. D. Cannabinoid receptor localization in brain. ***Proc Natl Acad Sci***, n. 87, v. 5, p. 1932 – 1936, 1990.

HESKE, L.; NODTVEDT, A.; JARDELUND, K. H.; et al. A cohort study of epilepsy among 665.000 insured dogs: incidence, mortality and survival after diagnosis. **The veterinary journal**, v. 202, n. 3, p. 471 – 476, 2014.

HEYNOLD, Y.; FAISSLER, D.; STEPHEN, F. et al. Clinical, epidemiological and treatment results of idiopathic epilepsy in 54 labrador retrievers: a long-term study. *Journal of Small Animal Practice*, v. 38, p. 7- 14, 1997.

HORN, H.; BOHME, B.; DIETRICH, L. et al. Endocannabinoids in body weight control. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 2, p. 1 – 48, 2018.

HORN, H.; BOHME, B.; DIETRICH, L. et al. Endocannabinoids in body weight control. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 55, p. 1 – 48, 2018.

HOURLANI, W.; ALEXANDER, S. P. H. Cannabinoid ligands, receptors and enzymes: pharmacological tools and therapeutic potential. **Brain and neuroscience advances**, v. 2, p. 1 – 8, 2018.

HUESTIS, M. A. Human Cannabinoid Pharmacokinetics. **Chemistry & Biodiversity**, v. 4, n. 8, p. 1770 – 1804, 2007.

HUESTIS, M. A.; SOLIMINI, R.; PICHINI, S.; PACIFICI, R.; CARLIER, J.; BUSARDO, F. P. Cannabidiol adverse effects and toxicity. **Current neuropharmacology**, v. 17, n. 10, p. 974 – 989, 2019.

HUGGINS, J. P.; SMART, T. S.; LANGMAN, S. An efficient randomised, placebo-controlled clinical trial with the irreversible fatty acid amide hydrolase-1 inhibitor PF-04457845, which modulates endocannabinoids but fails to induce effective analgesia in patients with pain due to osteoarthritis of the knee. **Pain**, v. 153, n. 9, p. 1837 – 1846, 2012.

HÜLSMEYER, V.; FISCHER, A.; MANDIGERS, P. J., et al. International Veterinary Epilepsy Task Force’s current understanding of idiopathic epilepsy of genetic or suspected genetic origin in purebred dogs. **BMC Vet Res**, v. 11, n. 175, p. 1 – 28, 2015.

HÜLSMEYER, V.; ZIMMERMANN, R.; BRAUER, C. et al. Epilepsy in Border Collies: Clinical Manifestation, Outcome, and Mode of Inheritance. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 24, p. 171 – 178, 2010.

IDOWU, O.; HEADING, K. Hypoglycemia in dogs: Causes, management, and diagnosis. **The Canadian veterinary journal**, v. 59, n. 6, p. 642 – 649, 2018.

IEMITSU, M.; SHIMOJO, N.; MAEDA, S. et al. The benefit of medium-chain triglyceride therapy on the cardiac function of SHRs is associated with a reversal of metabolic and signaling alterations. **American journal of physiology – heart and circulatory physiology**, v. 295, p. H136 – H144, 2008.

**JADOON, K. A.; TAN, G. D.; O’SULLIVAN, S. E. A single dose of cannabidiol reduces blood pressure in healthy volunteers in a randomized crossover study.** *JCI insight*, v. 2, n. 12, p. 1 – 11, 2017.

JAEGER, G. T.; LARSEN, S.; MOE, L. Stratification, blinding and placebo effect in a randomized, double blind placebo-controlled clinical trial of gold bead implantation in dogs with hip dysplasia. **Acta veterinaria scandinavica**, v. 46, n. 1 – 2, p. 57 – 68, 2005.

JAGGY, A.; BERNARDINI, M. Idiopathic epilepsy in 125 dogs: a long-term study. Clinical and electroencephalographic findings. **J. Small Anim. Pract.**, v. 39, p. 23–29, 1998.

JANCZYK, P.; DONALDSON, C. W.; GWALTNEY, S. M. Two hundred and thirteen cases of marijuana toxicoses in dogs. **Veterinary and human toxicology**, v. 46, n. 1, p. 19 – 21, 2004.

**JAKOB, J.; STALDER, O.; SYROGIANNOULI, L. et al. Association between marijuana use and electrocardiographic abnormalities by middle age: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study.** *Addiction*, online version before inclusion in an issue. Disponível em <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/add.15188>>

JOHNSON, S. E. Diseases of the liver. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 4ª ed, Philadelphia, PA: WB Saunders Company; 1995.

JOKINEN, T. S.; METSAHONKALA, L.; BERGAMASCO, L. et al. Benign familial juvenile epilepsy in Lagotto Romagnolo dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 21, n. 3, p. 464 – 471, 2007.

KALANT, H. Medicinal use of cannabis: history and current status. **Pain Research and Management**, v. 6, n. 2, p. 80 – 91, 2001.

KALANT, O. J. Report of the Indian Hemp Drugs Commission, 1893-94: a critical review. **International Journal of the Addictions**, v, 7, n. 1, p. 77 – 96, 1972.

KALLET, A. J.; COWGILL, L. D.; KASS, P. H. **Comparison of blood pressure measurements obtained in dogs by use of indirect oscillometry in a veterinary clinic versus at home.** Journal of american veterinary medic association, v. **210**, p. **651 – 654**, 1997.

KANEKO, J.; HAVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals.** 6<sup>a</sup> ed. San Diego, California: Academic press, 2008.

KARIMI, I.; HAYATGHAIBI, H.; YOUSEFI, J. et al. The effect of *Cannabis sativa* L. (hemp seed) on hematological parameters in guinea pigs. **Cardiovascular and haematological disorders**, v. 7, n. 3, p. 1 – 3, 2007.

KAYMAKGALAN, S.; TURKER, R. K.; TURKER, M. N. Analgesic Effect of delta9-Tetrahydrocannabinol in the Dog. **Springer verlag**, v. 35, p. 123 – 128, 1974.

**KEER, J. M. V. Cannabis-induced third-degree AV block.** Case reports in emergency medicine, v. **2019**, p. **1 – 4**, 2019.

KELLY, D.; RAIMONDI, F.; SHIHAB, N. Levetiracetam monotherapy for treatment of structural epilepsy in dogs: 19 cases (2010-2015). *Veterinary record*, v. 181, n. 15, p. 1 – 7, 2017.

KELMER, E.; SHIMSHONI, J. A.; MERBL, Y. et al. Use of gas chromatography–mass spectrometry for definitive diagnosis of synthetic cannabinoid toxicity in a dog. **Veterinary emergency and critical care**, p. 1 – 5, 2017.

KIM, L. G.; JOHNSON, T. L.; MARSON, A. G. et al. Prediction of risk of seizure recurrence after a single seizure and early epilepsy: further results from the MESS trial. **The lancet**, v. 5, p. 317 – 322, 2006.

KIYATKIN, E. A.; BROWN, P. L. Brain and body temperature homeostasis during sodium pentobarbital anesthesia with and without body warming in rats. **Physiol Behav.**, v. 84, n. 4, p. 563 – 570, 2005.

KLITGAARD, H.; MATAGNE, A. Levetiracetam enhances markedly the seizure suppression of other antiepileptic drugs in amygdala-kindled rats. **Epilepsia**, v. 43, n. 7, p. 219, 2002.

KLITGAARD, H.; PITKANEN, A. Antiepileptogenesis, neuroprotection, and disease modification in the treatment of epilepsy: Focus on levetiracetam. **Epileptic disorders: international epilepsy journal with videotape**, v. 5, p. S9 – S16, 2003.

KOGAN, L. R.; HELLYER, P. W.; ROBINSON, N. G. Consumers' perceptions of hemp products for animals. **JAHVMA journal**, v. 42, p. 40 – 48, 2016.

KOGAN, L. R.; HELLYER, P. W.; SCHOENFELD-TACHER, R. Dog owner's use and perceptions of cannabis products. **JAHVMA journal**, v. 51, p. 26 – 33, 2018.

KOLLMYER, D. M.; WRIGHT, K. E.; WARNER, N. M. et al. Are there mortality risks for patients with epilepsy who use cannabis treatments as monotherapy? **Epilepsy and behavior case reports**, v. 11, p. 52 – 53, 2019.

KOMUR, M.; OKUYAZ, C.; CELIK, Y. et al. Neuroprotective effect of levetiracetam on hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. **Child's Nervous System**, v. 30, p. 1001–1009, 2014.

KONINGS, M.; HENQUET, C.; MAHARAJH, H.D. et al. Early exposure to cannabis and risk for psychosis in young adolescents in Trinidad. **Acta Psychiatr. Scand.**, v. 118, p. 209 – 213, 2008.

KOURA, Y.; ICHIHARA, A.; TADA, Y. et al. . Anandamide decreases glomerular filtration rate through predominant vasodilation of efferent arterioles in rat kidneys. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 15, p. 1488 – 1494, 2004.

KREMENAK JR, C. R. Dental exfoliation and eruption chronology in beagles. **Journal of dental research**, v. 46, n. 4, p. 686 – 693, 1967.

KRUMHOLZ, A. To drive or not to drive: the 3-month seizure-free interval for people with epilepsy. **Mayo clinic proceedings**, v. 78, p. 817 – 818, 2003.

KUMAR, A.; PREMOLI, M.; ARIA, F. et al. Cannabimimetic plants: are they new cannabinoidergic modulators? **Planta**, v. 249, p. 1681 – 1694, 2019.

KUNOS, G.; JÁRAI, Z.; GOPARAJU, S. K. et al. Endocannabinoids as cardiovascular modulators. **Chemistry and physics of lipids**, v. 108, n. 1 – 2, p. 159 – 168, 2000.



- KUNOS, G.; OSEI-HYIAMAN, D.; LIU, J. et al. Endocannabinoids and the Control of Energy Homeostasis. **Journal of biological chemistry**, v. 283, n. 48, p. 33021 – 33025, 2008.
- KURAL, M. A.; DUEZ, L.; HANSEN, V. S. et al. Criteria for defining interictal epileptiform discharges in EEG: A clinical validation study. **Neurology**, v. 94, p. e2139 – e2147, 2020.
- KWAN, P.; BRODIE, M. J. Early Identification of Refractory Epilepsy. **The New England journal of medicine**, v. 342, p. 314 – 319, 2000.
- KWAN, P.; BRODIE, M. J. Refractory epilepsy: mechanisms and solutions. **Expert review of neurotherapeutics**, v. 6, n. 3, p. 397 – 406, 2006.
- LANDA, L.; SULCOVA, A.; GBELEC, P. The use of cannabinoids in animals and therapeutic implications for veterinary medicine: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 61, n. 3, p. 111–122, 2016.
- LAW, T. H.; DAVIES, E. S.; PAN, Y. et al. A randomised trial of a medium-chain TAG diet as treatment for dogs with idiopathic epilepsy. **Br J Nutr.**, v. 114, n. 8, p. 1438 – 1447, 2015.
- LEBKOWSKA-WIERUSZEWSKA, B.; STEFANELLI, F.; CHERICONI, S. et al. Pharmacokinetics of Bedrocan®, a cannabis oil extract, in fasting and fed dogs: An explorative study. **Research in veterinary science**, n. 123, p. 26 – 28, 2019.
- LECRU, L.; DESTERKE, C.; GRASSIN-Delyle, S. et al. . Cannabinoid receptor 1 is a major mediator of renal fibrosis. **Kidney International**, v. 88, p. 72 – 84, 2015,
- LEVENDAL, R.; SCHUMANN, D.; DONATH, M. et al. Cannabis exposure associated with weight reduction and b-cell protection in an obese rat model. **Phytomedicine**, v. 19, p. 575 – 582, 2012,
- LEVITSKI, R. E.; TREPANIER, L. A. Effect of timing of blood collection on serum phenobarbital concentrations in dogs with epilepsy. **J Am Vet Med Assoc**, v. 217, p. 200 – 204, 2000.
- LEWEKE, F. M.; GIUFFRIDA, A.; WURSTER, U.; EMRICH, H. M.; PIOMELLI, D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. **Neuroreport**, v. 10, p. 1665 – 1669, 1999.

- LI, Y.; ZHANG, H.; YANG, L. et al. Effect of medium-chain triglycerides on growth performance, nutrient digestibility, plasma metabolites and antioxidant capacity in weanling pigs. **Animal nutrition**, v. 1, n. 1, p. 12 – 18, 2015.
- LINARES, I. M.; ZUARDI, A. W.; PEREIRA, L. C. et al. Cannabidiol present an inverted U-shaped dose-response curve in a simulated public speaking test. **Brazilian journal of psychiatry**, v. 41, n. 1, p. 9 – 14, 2019.
- LINTZERIS, N.; DRIELS, J.; ELIAS, N. et al. Medicinal cannabis in Australia, 2016: the Cannabis as medicina survey. **Medical journal of Australia**, v. 209, n. 5, p. 211 – 216, 2018.
- LIPINA, C.; HUNDAL, H. S. Modulation of cellular redox homeostasis by the endocannabinoid system. **Open biology**, v. 6, n. 4, p. 1 – 10, 2016.
- LIU, J.; ZHOU, L.; XIONG, K. et al. Hepatic Cannabinoid Receptor-1 Mediates Diet-Induced Insulin Resistance via Inhibition of Insulin Signaling and Clearance in Mice. **Gastroenterology**, v. 142, n. 5, p. 1218 – 1228, 2012.
- LIVINGSTON, S. **Diagnosis and Treatment of Convulsive Disorders in Children**. Springfield Ill, Charles C Thomas, 1954.
- LOEWE, S. Studies on the pharmacology and acute toxicity of compounds with marihuana activity.
- LOSCHER, W. Pharmakologische Grundlagen zur Behandlung von Epilepsie bei Hund und Katze. **Prakt Tierarzt**, v. 84, p. 574 – 586, 2003.
- LOSCHER, W.; BRANDT, C. Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults: experimental approaches and translational research. **Pharmacological reviews**, v. 62, n. 4, p. 668 – 700, 2010.
- LOSCHER, W.; HONACK, D.; RUNDFELDT, C. Antiepileptogenic effects of the novel anticonvulsant levetiracetam (ucb L059) in the kindling model of temporal lobe epilepsy. **The journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 284, n. 2, p. 474 – 479, 1998.
- LOSCHER, W.; SCHMIDT, D. Modern antiepileptic drug development has failed to deliver: ways out of the current dilemma. **Epilepsia**, v. 52, n. 4, p. 657 – 678, 2011.
- LOZANO, I. The therapeutic use of Cannabis sativa (L.) in arabic medicine. **J Cannabis Ther**, v. 1, p. 63 – 70, 2001.

MAA, E.; FIGI, P. The case for medical marijuana in epilepsy. **Epilepsia**, v. 55, n. 6, p. 783 – 786, 2014.

MACCALLUM, C. A.; RUSSO, E. B. Practical considerations in medical cannabis administration and dosing. **European journal of internal medicine**, v. 49, p. 12 – 19, 2018.

MACK, A.; JOY, J. **Marijuana as Medicine? The Science Beyond the Controversy**. Washington (DC): National Academies Press (US). 2001.

MACKIE, K. Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. **Handbook of experimental pharmacology**, v. 168, p. 299 – 325, 2005.

MALEK, S.; SAMPLE, S. J.; SCHWARTZ, Z. et al. Effect of analgesic therapy on clinical outcome measures in a randomized controlled trial using client-owned dogs with hip osteoarthritis. **Bmc veterinary research**, n. 8, v. 185, p. 1 – 17, 2012.

MARIANI, C. L. Terminology and classification of seizures and epilepsy in veterinary patients. **Top companion animal med.**, n. 28, v. 2, p. 34 – 41, 2013.

MARTIN, R. S.; LUONG, L. A.; WELSH, N. J. et al. Effects of cannabinoid receptor agonists on neurally-evoked contractions of urinary bladder tissues isolated from rat, mouse, pig, dog, monkey and human. **British journal of pharmacology**, v. 127, p. 1707 – 1715, 2000.

MASCIOLI, E. A.; RANDALL, S.; PORTER, K. A. et al. Thermogenesis from intravenous medium-chain triglycerides. **Journal of parenteral and enteral nutrition**, v. 15, n. 1, p. 27 – 31, 1991.

MASINO, S. A.; RHO, J. M. Metabolism and Epilepsy: Ketogenic Diets as a Homeostatic Link. **Brain research**, v. 1703, p. 26 – 30, 2019.

MATIAS, I.; GONTIHER, M. P.; ORLANDO, P. et al. Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. **J Clin Endocrinol Metab.**, v. 91, n. 8, p. 3171 – 3180, 2006.

MATSUDA, L. A.; LOLAIT, S. J.; BROWNSTEIN, M. J. et al. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. **Nature**, v. 346, p. 561–564, 1990.

MCCOY, B.; WANG, L.; ZAK, M. et al. A prospective open-label trial of a CBD/THC cannabis oil in dravet syndrome. **Annals of clinical and translational neurology**, v. 5, n. 9, p. 1077 – 1088, 2018.

- MCGILVERAY, I. J. Pharmacokinetics of cannabinoids. **Pain Research and Management**, v. 10, , p.15A-22A, 2005.
- MCGRATH, S.; BARTNER, L. R.; RAO, S. et al. Report of Adverse Effects Associated With the Administration of Cannabidiol in Healthy Dogs. **Journal of the American Holistic Veterinary Medical Association**, v. 52, p. 34 – 39, 2018.
- MCGRATH, S.; BARTNER, L. R.; RAO, S.; PACKER, R. A.; GUSTAFSON, D. L. 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. **JAVMA**, v. 254, p. 1301 – 1308, 2019.
- MCMILLAN, F. D. The placebo effect in animals. **JAVMA**, v. 215, n. 7, p. 992 – 998, 1999.
- MECHOULAM, R. Informação pessoal (mensagem recebida por email). 2019.
- MECHOULAM, R. Plant cannabinoids: a neglected pharmacological treasure trove. **British Journal of Pharmacology**, v. 146, p. 913 – 915, 2005.
- MECHOULAM, R.; BEN-SHABAT, S.; HANUS, L et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. **Biochemical Pharmacology**, v. 50, n. 1, p. 83 – 90, 1995.
- MECHOULAM, R.; GAONI, Y. The absolute configuration of  $\Delta^1$ -tetrahydrocannabinol, the major active constituent of hashish. **Tetrahedron Letters**, v. 12, p. 1109 – 1111, 1967.
- MECHOULAM, R.; SHVO, Y. Hashish. I. The structure of cannabidiol. **Tetrahedron**, v. 19, n. 12, p. 2073 – 2078, 1963.
- MEDINA, W. S. G. Efeito dos anticonvulsivantes aromáticos (carbamazepina, fenitoína e fenobarbital) e de seus areno-óxidos na função e no estresse oxidativo mitocondrial em fígado de rato. 2008. 145 f. Tese (doutorado em toxicologia). Faculdade de Ciências farmacêuticas – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.
- MENKES, D. B.; HOWARD, R. C.; SPEARS, G. F. S. et al. Salivary THC following cannabis smoking correlates with subjective intoxication and heart rate.** *Psychopharmacology*, v. 103, p. 277 – 279, 1991.
- MERCATI, F.; DALL'AGLIO, C.; PASCUCCIA, L. Identification of cannabinoid type 1 receptor in dog hair follicles. **Acta Histochemica**, v. 114, p.68 – 71, 2012.

MICOV, A.; TOMIC, M.; POPOVIC, B. et al. The antihyperalgesic effect of levetiracetam in an inflammatory model of pain in rats: mechanism of action. **British Journal of Pharmacology**, v. 161, p. 384–392, 2010.

MILLER, J. B. . In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. Elsevier Health Sciences division : Philadelphia – USA, 6 ed, v. 1, 2005.

**MILLER, M. W. Electrocardiography: Diagnosis and Management of Common Arrhythmias**. 2013 World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings. **Disponível em** <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11372&meta=generic&catId=35290&id=5709868&ind=31&objTypeID=17>. 2013.

MINISTÉRIO PÚBLICO FEDERAL. Manifestação nº. 3201/2017/MPF/PRPB/GAB-JGBS. Ref.: PJE – 0800333-82.2017.4.05.8200. 7 de abril de 2017. Disponível em: <http://www.mpf.mp.br/pb/sala-de-imprensa/docs/parecer-0800333-82-2017-4-05-8200-abrace-cannabis-tratamento-cannabidiol.pdf/view> . Acessado em maio / 2020.

MOGI, C.; FUKUYAMA, T. Cannabidiol as a potential anti-epileptic dietary supplement in dogs with suspected epilepsy: three case reports. **Pet behavior science**, v. 7, p. 11 – 16, 2019.

MOLINA, J.; JEAN-PHILIPPE, C.; CONBOY, L. et al. 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**, Online ahead of print, 2020.

MONTEIRO, R.; ANDERSON, T. J.; INNOCENT, G. et al. Variations in serum concentration of phenobarbitone in dogs receiving regular twice daily doses in relation to the times of administration. **Veterinary record**, v 165, p. 556 – 558, 2009.

MOORE, S. A.; MUÑANA, K. R.; PAPICH, M. G. **The pharmacokinetics of levetiracetam in healthy dogs concurrently receiving phenobarbital**. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, v. 34, n. 1, p. 31 – 34, 2011.

MOREIRA, F. A.; CRIPPA, J. A. S. The psychiatric side-effects of rimonabant. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 31, n. 2, p. 145 – 153, 2009.

MORTON, V.; TORGERSON, D. J. Regression to the mean: Treatment effect without the intervention. **Journal of evaluation in clinical practice**, v. 11, p. 59 – 65, 2005.

MUKHTA, A. H.; ELBAGIR, N. M.; GUBARA, A. A. The effect of *Cannabis sativa* on certain enzymes of clinical significance on rats and men. **Journal of pharmacognosy**, v. 2, n. 1, p. 10 – 13, 2011.

MULLER, P. B.; TABOADA, J.; HOSGOOD, G. et al. Effects of long-term phenobarbital treatment on the liver in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 14, p. 165 – 171, 2000.

MUMME, K.; STONEHOUSE, W. Effects of medium-chain triglycerides on weight loss and body composition: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of the academy of nutrition and dietetics**, v. 115, n. 2, p. 249 – 262, 2015.

MUÑANA, K. R. Management of refractory epilepsy. **Top companion animal medicine**, v. 28, n. 2, p. 68 – 71, 2013.

MUÑANA, K. R. Seizure Management in Small Animal Practice. **Veterinary Clinics of north America: Small Animal practice**, v. 43, n. 5, p. 1127 – 1147, 2013.

MUÑANA, K. R.; NETTIFEE-OSBORNE, J. A.; PAPICH, M. G. Effect of Chronic Administration of Phenobarbital, or Bromide, on Pharmacokinetics of Levetiracetam in Dogs with Epilepsy. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 29, n. 2, p. 614 – 619, 2015.

MUÑANA, K. R.; THOMAS, W. B.; INZANA, K. D. et al. Evaluation of levetiracetam as adjunctive treatment for refractory canine epilepsy: a randomized, placebo-controlled, crossover trial. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 26, n. 2, p. 341 – 348, 2012.

MUÑANA, K. R.; ZHANG, D.; PATTERSON, E. E. Placebo Effect in Canine Epilepsy Trials. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 24, p. 166 – 170, 2010.

MUNRO, S.; THOMAS, K. L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, v. 365, n. 6441, p. 61 – 65, 1993.

NAKATA, M.; YADA, T. Cannabinoids inhibit insulin secretion and cytosolic Ca<sup>2+</sup> oscillation in islet beta-cells via CB1 receptors. **Regul Pept.**, v. 145, n. 1 – 3, p. 49 – 53, 2008.

NARDOU, R.; YAMAMOTO, S.; CHAZAL, B. et al. Neuronal chloride accumulation and excitatory GABA underlie aggravation of neonatal epileptiform activities by phenobarbital. **Brain**, v. 134, p. 987 – 1002, 2011.

NASRIN, S.; WATSON, C. J.; CHEN, G.; LAZARUS, P. Cannabinoid metabolites as potential inhibitors of major CYP450 enzymes. Implication for cannabis-drug interactions. **The FASEB Journal**, v. 34, n. 51, p. 1 – 1, 2020.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE. **The health effects of Cannabis and Cannabinoids**. Washington DC: The national academies press. 2017.

NDONG, C.; O'DONELL, D.; AHMAD, S.; GROBLEWSKI, T. Cloning and pharmacological characterization of the dog cannabinoid CB2 receptor. **European Journal of Pharmacology**, v. 669, p. 24 – 31, 2011.

NOBLE, M. J.; HEDBERG, K.; HENRICKSON, R. G. Acute cannabis toxicity. **Clinical toxicology (Philadelphia, Pa.)**, v. 57, n. 8, p. 735 – 742, 2019.

NOLEN, R. S. **AVMA weighs in at cannabis hearing – FDA pressed for safety and efficacy assurances**. Disponível em: <https://www.avma.org/javma-news/2019-08-15/avma-weighs-cannabis-hearing> . 2019. Último acesso em 01/03/2020.

NOLEN, R. S. With pet owners already using the drug as medicine, veterinarians need to join the debate. **JAVMA news**, v. 242, n. 12, p. 1604-1609, 2013.

NORONA, F. E.; VOLK, H. A. Investigating the efficacy of medical management for canine structural epilepsy. **Veterinary record**, Publish ahead of print, 2020.

NOSZZYK-NOWAK, A.; SZALAS, A.; PASLAWSKA, U. et al. **Comparison of P-wave dispersion in healthy dogs, dogs with chronic valvular disease and dogs with disturbances of supraventricular conduction**. *Acta veterinaria scandinavica*, v. 53, n. 18, p. 1 – 6, 2011.

OSEI-HYIAMAN, D.; DEPETRILLO, M.; PACHER, P. et al., Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. **J. Clin. Investig.**, v. 115, p. 1298 – 1305, 2005.

PACHER, P.; BATKAI, S.; KUNOS, G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. **Pharmacol Ver**, v. 57, p. 389 – 462, 2006.

PACKER, R. M.; BERENDT, M.; BHATTI, S. et al. Inter-observer agreement of canine and feline paroxysmal event semiology and classification by veterinary neurology specialists and non-specialists. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 39, 2015.

PACKER, R. M.; VOLK, H. A. Epilepsy beyond seizures: a review of the impact of epilepsy and its comorbidities on health-related quality of life in dogs. **Veterinary record**, v. 177, n. 12, p. 306 – 315, 2015.

PAGOTTO, U.; MARSICANO, G.; COTA, D. et al. The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. **Endocr Rev**, v. 27, p. 73 – 100, 2006.

PAKOZDY, A.; LESCHNIK, M.; TICHY, A. G. et al. Retrospective clinical comparison of idiopathic versus symptomatic epilepsy in 240 dogs with seizures. **Acta Veterinaria Hungarica**, v. 56, n. 4, p. 471–483, 2008.

PAMPLONA, F. A.; DA SILVA, L. R.; COAN, A. C. Potential clinical benefits of CBD-rich cannabis extracts over purified CBD in treatment-resistant epilepsy: observational data meta-analysis. **Frontiers in neurology**, v. 9, n. 759, p. 1 – 9, 2018.

PARK, F.; POTUKUCHI, P. K.; MORADI, H. et al. Cannabinoids and the kidney: effects in health and disease. **American Journal of Physiology Renal Physiology**, v. 313, p. F1124 – F1132, 2017.

PATSALOS, P. N. Clinical pharmacokinetics of levetiracetam. **Clinical pharmacokinetics**, v. 43, n. 11, p. 707 – 724, 2004.

PATSALOS, P. N. Pharmacokinetic profile of levetiracetam: toward ideal characteristics. **Pharmacology and therapeutics**, v. 85, n. 2, p. 77 – 85, 2000.

PATTERSON, E. E. Canine epilepsy: an underutilized model. **ILAR journal**, v. 55, n. 1, p. 182 – 186, 2014.

PAVLOVUC, R.; NEENA, G.; CALVI, L. et al. Quality traits of “cannabidiol oils”: cannabinoid content, terpene fingerprint and oxidation stability of European commercially available preparations. **Molecules**, v. 23, p. 1 – 22, 2018.



PEDERSOLI, W. M. Serum bromide concentrations during and after halothane anesthesia in dogs. **Am J Vet Res**, v. 41, n. 1, p. 77-80, 1980.

PENNER, E. A.; BUETTNER, H.; MITTLEMAN, M. A. The impact of marijuana use on glucose, insulin, and insulin resistance among US adults. **The american journal of medicine**, v. 126, n. 7, p. 583 – 589, 2013.

PERGANDE, A. E.; BELSHAW, Z.; VOLK, H. A.; et al. “We have a ticking time bomb”: a qualitative exploration of the impact of canine epilepsy on dog owners living in England. **BMC veterinary research**, v. 16, n. 443, p. 1 – 9, 2020.

PERTWEE, R. G. Cannabis and cannabinoids: pharmacology and rationale for clinical use. **Pharmacy and pharmacology communications**, v. 3, n. 11, p. 539 – 545, 1997.

PERTWEE, R. G. Effects of cannabinoids on thermoregulation: a brief review. In: HARVEY, D. J.; PATON, S. W.; NAHAS, G. G. **Marihuana '84: proceedings of the Oxford Symposium on Cannabis**. Oxford: IRL Press, 1985. p. 263 – 277.

PERTWEE, R. G. The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. **AAPS J.**, v. 7, n. 3, p. E625 – E654, 2005.

PERTWEE, R. G.; TAVENDALE, R. Effects of delta9- tetrahydrocannabinol on the rates of oxygen consumption of mice. **Br J Pharmacol**, v. 60, p. 559 – 68, 1977.

PERUCCA, E. Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy: Hard Evidence at Last? **Journal of Epilepsy Research**, v. 7, n. 2, p. 61 – 76, 2017

PERUCCA, E. Evaluation of drug treatment outcome in epilepsy: a clinical perspective. **Pharmacy world & science**, v. 19, n. 5, p. 217 – 222, 1997.

PHILLIPS, T. J.; CHERRY, C. L.; COX, S. et al. Pharmacological treatment of painful HIV-associated sensory neuropathy: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **PLoS One**, v. 5, n. 12, 2010.

PIOMELLI, D.; RUSSO, E. B. The Cannabis sativa Versus Cannabis indica Debate: An Interview with Ethan Russo, MD. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 1, p. 44 – 46, 2016.

PIRONE, A.; LENZI, C.; COLI, A. Preferential epithelial expression of type-1 cannabinoid receptor (CB1R) in the developing canine embryo. **Springerplus**, v. 4, p. 804, 2015.

PODELL, M. Antiepileptic drug therapy. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 13, n. 13, p. 185 – 192, 1998.

PODELL, M.; FENNER, W. R. Bromide Therapy in Refractory Canine Idiopathic Epilepsy. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 7, n. 5, p. 318 – 327, 1993.

PODELL, M.; VOLK, H. A.; LOSCHER, W. et al. 2015 ACVIM Small Animal Consensus Statement on Seizure Management in Dogs. **J Vet Intern Med**, v. 30, p. 477–490, 2016.

PORTER, B. E.; JACOBSON, B. Report of a parent survey of cannabidiol-enriched cannabis use in pediatric treatment-resistant epilepsy. **Epilepsy behavior**, v. 29, p. 574 – 577, 2013.

POTSCHKA, H.; FISCHER, A.; LOSCHER, W. et al. International veterinary epilepsy task force consensus proposal: outcome of therapeutic interventions in canine and feline epilepsy. **BMC Veterinary Research**, v. 11, n. 39, p. 177 – 190, 2015.

POWERS, F.; GOLAB, G. What veterinarians need to know about Cannabis. **AVMA Lead & Learn Webinar Series**. 2018.

PRESSLY, J. D.; SONI, H.; JIANG, S. et al. Activation of the cannabinoid receptor 2 increases renal perfusion. **Physiology Genomics**, v. 51, p. 90 – 96, 2019.

PRESTON, S. M.; SHIHAB, N.; VOLK, H. A. Public perception of epilepsy in dogs is more favorable than in humans. **Epilepsy & behavior**, v. 27, p. 243 – 246, 2013.

PRINOLD, H. Using Cannabis and Cannabidiol (CBD Oil) in Dog Training and Behavior Work. **International Association of Animal Behavior Consultants**, disponível em <https://iaabc.org>, 2019.

PUCHOWICZ, M. A.; SMITH, C. L.; BOMONT, C. et al. Dog model of therapeutic ketosis induced by oral administration of R, S-1,3-butanediol diacetoacetate. **J Nutr Biochem**, v. 11, p. 281 – 287, 2000.

QIAN, Y.; GURLEY, B. J.; MARKOWITZ, J. S. The Potential for Pharmacokinetic Interactions Between Cannabis Products and Conventional Medications. **Journal of Clinical Psychopharmacology**, v. 39, n. 5, p. 462 – 471, 2019.

RABER, J. C.; ELZINGA, S.; KAPLAN, C. Understandig dab: contaminations concerns of cannabis concentrates and cannabinoid transfer during the act of dabbing. **The journal of toxicological sciences**, v. 40, n. 6, p. 797 – 803, 2015.

RAICHLLEN, D. A.; FOSTER, A. D.; GERDEMAN, G. L. et al. Wired to run: exercise-induced endocannabinoid signaling in humans and cursorial mammals with implications

for the 'runner's high'. **The Journal of Experimental Biology**, v. 215, p. 1331 - 1336, 2012.

RAVINET-TRILLOU, C.; DELGORGE, C.; MENET, C. et al. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 28, p. 640 – 648, 2004.

RAVINET-TRILLOU, C.; ARNONE, M.; DELGORGE, C. et al. Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. **Am. J. Physiol.**, v. 284, p. R345 – R353, 2003.

RAVIS, W. R.; NACHREINER, R. F.; PEDERSOLI, W. M. et al. Pharmacokinetics of phenobarbital in dogs after multiple oral administration. **American journal of veterinary research**, v. 45, n. 7, p. 1283 – 1286, 1984.

RAWS, S. M.; BENAMAR, K. Effects of opioids, cannabinoids, and vanilloids on body temperature. **Frontiers in Bioscience**, v. 3, p. 822 – 845, 2011.

RE, G.; BARBERO, R.; MIOLO, A.; DI MARZO, V. Palmitoylethanolamide, endocannabinoids and related cannabimimetic compounds in protection against tissue inflammation and pain: Potential use in companion animals. **The Veterinary Journal**, v. 173, p. 21 – 30, 2007.

REMILLARD, R. L.; ROSS, J. N.; EDDY, J. B. Variance of indirect blood pressure measurements and prevalence of hypertension in clinically normal dogs. **American journal of veterinary research**, v. 52, p. 561 – 565, 1991.

RÍOS-POHL, L. Levetiracetam : perfil farmacocinético próximo ao ideal em um fármaco de amplo espectro. In: YACUBIAN, E. M. T.; CONTRERAS-CAICEDO, G.; RÍOS-POHL, L. **Tratamento medicamentoso das epilepsias**. São Paulo: Leitura médica limitada. 2014.

ROBAINA, D.; BENTANCUR, V.; FEIJOO, G. et al. Validation and clinical application of a spectrophotometric technique for the determination of potassium bromide in canine serum for the control of epilepsy. **Journal of pharmacy and pharmacognosi research**, v. 8, n. 6, p. 515 - 524, 2020.

- ROBBEN, J. H.; POLLAK, Y. W.; KIRPENSTEIJN, J. et al. Comparison of ultrasonography, computed tomography, and single-photon emission computed tomography for the detection and localization of canine insulinoma. **J Vet Intern Med**, v. 18, n. 1, p. 15 – 22, 2005.
- RODRIGUEZ DE FONSECA, F.; NAVARRO, M.; GOMEZ, R. et al. An anorexic lipid mediator regulated by feeding. **Nature**, v. 414, p. 209 – 212, 2001.
- ROSENBERG, E. C.; TSIEN, R. W.; WHALLEY, B. J. et al. Cannabinoids and epilepsy. **Neurotherapeutics**, v. 12, p. 747 – 768, 2015.
- ROSSMEISL, J. H.; INZANA, K. D. Clinical signs, risk factors, and outcomes associated with bromide toxicosis (bromism) in dogs with idiopathic epilepsy. **J Am Vet Med Assoc.**, v. 234, n. 11, p.1425-1431, 2009.
- RUPPEL, T. D.; KUFFEL, N.; PERKIN ELMER; SHELTON, C. T. Cannabis Analysis: Potency Testing Identification and Quantification of THC and CBD by GC/FID and GC/MS. Disponível em [https://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-174745APP\\_Cannabis-Analysis-Potency-Testing-Identification-and-Quantification-011841B\\_01.pdf](https://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-174745APP_Cannabis-Analysis-Potency-Testing-Identification-and-Quantification-011841B_01.pdf) . Acesso em maio / 2020.
- RUSSO, E. B. Cannabidiol claims and misconceptions. **Trends in pharmacological sciences**, v. 38, n. 3, p. 198 – 201, 2017.
- RUSSO, E. B. Cannabis therapeutics and the future of neurology. **Frontiers in integrative neuroscience**, v. 12, n. 51, p. 1 – 11, 2018.
- RUSSO, E. B. Clinical Endocannabinoid Deficiency (CECD): Can this Concept Explain Therapeutic Benefits of Cannabis in Migraine, Fibromyalgia, Irritable Bowel Syndrome and other Treatment-Resistant Conditions? **Neuroendocrinology Letters**, v. 29, n. 2, p. 192 – 200, 2008.
- RUSSO, E. B. Current therapeutic Cannabis controversies and clinical trial design issues. **Frontiers in pharmacology**, v. 7, n. 300, p. 1 – 19, 2016.
- RUSSO, E. B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British journal of pharmacology*, v. 163, p. 1344 – 1364, 2011.
- RUSSO, E.; GUY, G. W. A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Med Hypotheses*. v. 66, n. 2, p.234-246, 2006.

SAMARA, E.; BIALER, M.; HARVEY, D. J. Identification of urinary metabolites of cannabidiol in the dog. **Drug metabolism & disposition**, v. 18, n. 5, p. 571 – 579, 1990.

SAMARA, E.; BIALER, M.; MECHOULAM, R. Pharmacokinetics of cannabidiol in dogs. **Drug Metabolism & Disposition**, v. 16, n. 3, p.:469 - 472, 1988.

SANGER, G. J. Endocannabinoids and the gastrointestinal tract: what are the key questions? **British journal of pharmacology**, v. 152, n. 2, 663 – 670, 2007.

SANTILLI, R.; MOÏSE, N. S.; PARIAUT, R. et al. Electrocardiography of the dog and cat. Diagnosis of arrhythmias. 2 ed., Milano: Edra, 2018, 348 p.

SCALLET, A.C. Neurotoxicology of cannabis and THC: a review of chronic exposure studies in animals. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 40, p. 671 – 676, 1991.

SCHMIDT, P. L. Evidence-based veterinary medicine: evolution, revolution, or repackaging of veterinary practice? **Veterinary clinics small animal practice**, v. 37, p. 409 – 417, 2007.

SCHWARTZ-PORSCHKE, D., LÖSCHER, W.; FREY, H. H. Therapeutic efficacy of phenobarbital and primidone in canine epilepsy: a comparison. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 8, p. 113 – 119, 1985.

SELTENRICH, N. Cannabis contaminants: regulating solvents, microbes and metals in legal weed. **Environmental health perspectives**, v. 127, n. 8, p. 082001-1 – 082001- 6, 2019.

SEPPALA, E. H.; JOKINEN, T. S.; FUKATA, M. et al. LGI2 truncation causes a remitting focal epilepsy in dogs. **PloS genetics**, v. 7, n. 7, p. 1 – 11, 2011.

SHARMA, P.; MURTHY, P.; BHARATH, M. M. Chemistry, metabolism, and toxicology of cannabis: clinical implications. **Iranian Journal of Psychiatry**, v. 7, n. 4, p.149 – 56, 2012.

SILLS, M. A.; FORSYTHE, W. I.; HAIDUKEWYCH, D. et al. The medium chain triglyceride diet and intractable epilepsy. **Arch Dis Child**, v. 61, p. 1168 – 1172, 1986.

SILVER, R. J. The endocannabinoid system of animals. **Animals**, v. 9, n. 686, p. 1 – 15, 2019.

SIVAKUMAR, S.; ZUTSHI, D.; SERAJI-BOZORGZAD, N. et al. Effects of marijuana in ictal and interictal EEG activities in idiopathic generalized epilepsy. **Journal of clinical neurophysiology**, v. 34, n. 1, p. e1 – e4, 2017.

SMITH, S. J. M. EEG in the diagnosis, classification, and management of patients with epilepsy. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 76, n. 2, p. ii2 – ii7, 2005.

SOFIA, R. D.; KNOBLOCH, L. C. Comparative effects of various naturally occurring cannabinoids on food, sucrose and water consumption by rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 4, p. 591 – 599, 1976.

STABILE, F.; BARNETT, C. R.; DE RISIO, L. Phenobarbital administration every eight hours: improvement of seizure management in idiopathic epileptic dogs with decreased phenobarbital elimination half-life. **Veterinary record**, v. 180, n. 7, p. 1 – 5, 2017.

STEINBERG, M.; FAISLER, D. Levetiracetam therapy for longterm idiopathic epileptic dogs. In: **Proceedings of the 22nd Annual American College of Veterinary Internal Medicine Forum**. 2004.

STIGLICK, A.; KALANT, H. Residual effects of chronic cannabis treatment on behavior in mature rats. **Psychopharmacology (Berl.)**, v. 85, p. 436 – 439, 1985.

STOHL, S. J.; RAY, S. D. Is cannabidiol hepatotoxic or hepatoprotective: a review. **Toxicology research and application**, v. 4, p. 1 – 6, 2020.

ST-ONGE, M.; BOSARGE, A.; GOREE, L. L. T.; DARNELL, B. Medium Chain Triglyceride Oil Consumption as Part of a Weight Loss Diet Does Not Lead to an Adverse Metabolic Profile When Compared to Olive Oil. **Journal of the american college of nutrition**, v. 27, n. 5, p. 547 – 552, 2008.

STOTT, C.; WHITE, L.; WRIGHT, S. A phase I, open-label, randomized, crossover study in three parallel groups to evaluate the effect of rifampicin, ketoconazole, and omeprazole on the pharmacokinetics of THC/CBD oromucosal spray in healthy volunteers. **Springerplus**, v. 2, n. 236, p. 1 - 15, 2013.

SULAK, D.; SANETO, R.; GOLDSTEIN, B. The current status of artisanal cannabis for the treatment of epilepsy in the United States. **Epilepsy Behav**, v. 70, p. 328-33, 2017.

SWELL, A. J. **The Dog's Medical Dictionary**. EP Dutton, New York. 1907

SZABO, B.; NIEDERHOFFER, N.; NORDHEIM, U. Effect of cannabinoids on sympathetic and parasympathetic neuroeffector transmission in the rabbit heart. **Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 297, n. 2, p. 819 – 826, 2001.

TALBOT, W. A.; PINCHBECK, G. L.; KNOTTENBELT, D. C. et al. A randomised, blinded, crossover study to assess the efficacy of a feed supplement in alleviating the clinical signs of headshaking in 32 horses. **Equine veterinary journal**, v. 45, n. 3, p. 293 – 297, 2013.

TAYLOR, P. M. Hypothermia. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. . In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of veterinary internal medicine**. Elsevier Health Sciences division : Philadelphia – USA, 6 ed, v. 1, 2005.

TEIXEIRA, M. Z. Bases psiconeurofisiológicas do fenômeno placebo- nocebo: evidências científicas que valorizam a humanização da relação médico-paciente. **Revista da associação médica brasileira**, v. 55, n. 1, p. 13 – 18, 2009.

TELLIEZ, F.; BACH, V.; DEWASMES, G. et al. Effects of meddium - and long-chain triglycerides on sleep and thermoregulatory processes in neonates. **Journal of sleep research**, v. 7, p. 31 – 39, 1998.

THIELE, E. A.; MARSH, E. D.; FRENCH, J. A. et al. Cannabidiol in patients with seizures associated with Lennox-Gastaut syndrome (GWPCARE4): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. **The lancet**, v 391, n. 10125, p. 1085 – 1096, 2018.

THOMPSON, G. R.; ROSENKRANTZ, H.; SCHAEPPPI, U. H. et al. Comparison of acute oral toxicity of cannabinoids in rats, dogs and monkeys. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 25, n. 3, p. 363 – 372, 1973.

TIPOLD, A.; FATZER, R.; JAGGY, A. et al. Necrotizing encephalitis in yorkshire terriers. **Journal of small animal practice**, v. 34, n. 12, p. 623 – 628, 1993.

TIPOLD, A.; KEEFE, T. J.; LOSCHER, W. et al. Clinical efficacy and safety of imepitoin in comparison with phenobarbital for the control of idiopathic epilepsy in dogs. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 38, n. 2, p. 160 – 168, 2015.

TOCZEK, M.; MALINOWSKA, B. Enhanced endocannabinoid tone as a potential target of pharmacotherapy. **Life Sciences**, v. 204, p. 20 – 45, 2018.

TORTA, R. G. V. Antidepressant up-titration: pharmacological and psychological considerations. **Expert opinion on drug safety**, v. 11, n. 5, p. 685 – 688, 2012.

TREPANIER, A.; BABISH, J. G. Pharmacokinetic properties of bromide in dogs after the intravenous and oral administration of single doses. **Res Vet Sci.**, v. 58, n. 3, p. 248-51, 1995.

TREPANIER, L. A.; VAN SCHOICK, A.; SCHWARK, W. S. et al.. Therapeutic serum drug concentrations in epileptic dogs treated with potassium bromide alone or in combination with other anticonvulsants: 122 cases (1992–1996). **J Vet Intern Med**, v. 213, p. 1449 –1453, 1998.

**TROUVE, R.; NAHAS, G. Cardiovascular Effects of Marihuana and Cannabinoids. In: NAHAS G.G.; SUTIN K.M.; HARVEY D. et al. (eds) Marihuana and Medicine. Humana Press, Totowa, NJ: Humana Press, 1999.**

TURNER, I. M. The contribution of Sir William Brooke O’Shaughnessy (1809–1889) to plant taxonomy. **Phytotaxa** , v. 15, p. 57 – 63, 2011.

TZADOK, M.; ULIEL-SIBONI, S.; LINDER, I. et al. CBD-enriched medical cannabis for intractable pediatric epilepsy. The current Israeli experience. **Seizure: European Journal of Epilepsy**, v. 35, p. 41-44, 2016.

UJVARY, I.; HANUS, L. Human Metabolites of Cannabidiol: A Review on Their Formation, Biological Activity, and Relevance in Therapy. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v.1, n. 1, p. 90 – 101, 2016.

VALASTRO, C.; CAMPANILLE, D.; MARINARO, M. et al. Characterization of endocannabinoids and related acylethanolamides in the synovial fluid of dogs with osteoarthritis: a pilot study. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 309, 2017.

VAN DYKE, H. B.; HASTINGS, A. B. Studies of bromide distribution in the blood II. The distribution of bromides and chlorides in the blood of dogs following oral administration of sodium bromide. **Journal of Biological Chemistry**, v. 92, p. 27–32, 1931.

VAUGHN, D.; KULPA, J.; PAULIONIS, L. Preliminary investigation of the safety of escalating cannabinoid doses in healthy dogs. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, n. 51, p. 1 – 13, 2020.

VERRICO, C. D.; WESSON, S.; KONDURI, V. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of daily cannabidiol for the treatment of canine osteoarthritis pain. **Pain**, v. 161, n. 9, 2191 – 2202, 2020.

VILELA, L. R.; MEDEIROS, D. C.; REZENDE, G. H. S. et al. Effectos of cannabinoids and endocannabinoid hydrolisis inhibittion of pentylenetetrazole-induced seizure and electroencephalographic activity in rats.**Epilepsy research**, v. 104, p. 195- 202, 2013.



VILLENUEVE, J. P.; PICHETTE, V. Cytochrome P450 and liver diseases. **Current drug metabolism**, v. 5, n. 3, 273 – 282, 2004.

VOLK, H. A.; MATIASEK, L. A.; FELIU-PASCUAL, A. L. **et al.** The efficacy and tolerability of levetiracetam in pharmacoresistant epileptic dogs. **The veterinary journal**, v. 176, n. 3, p. 310 – 319, 2008.

VOLKOW, N. D.; BALER, R. D.; COMPTON, W. M. **et al.** Adverse health effects of marijuana use. **New England Journal of Medicine**, v. 370, p. 2219 – 2227, 2014.

WAGNER, J. A.; HU, K.; BAUERSACHS, J. **et al.** Endogenous cannabinoids mediate hypotension after experimental myocardial infarction. **Journal of the american college of cardiology**, v. 38, n. 7, p. 2048 – 2054, 2001.

WAKSHLAG, J. J.; CITAL, S.; EATON, S. J. **et al.** Cannabinoid, Terpene, and Heavy Metal Analysis of 29 Over-the-Counter Commercial Veterinary Hemp Supplements. **Veterinary medicine (Auckland)**, v. 11, p. 44 – 55, 2020.

WALLACE, G. B.; BRODIE, B. B. The distribution of administered bromide in comparison with chloride and its relation to body fluids. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 65, p. 214–21, 1939.

WANI, I. A.; SINGH, B.; KHAN, M. A. Cannabis abuse and hematological variations to endorse severe health implications among Kashmiri youth. **JOJ nursing and health care**, v. 8, n. 4, p. 1 – 6, 2018.

WATANABE, K.; YAMAORI, S.; KIMURA, T.; FUNAHASHI, T. Cytochrome P450 enzymes involved in the metabolism of tetrahydrocannabinols and cannabitol by human hepatic microsomes. **Life sciences**, v. 80, n. 15, p. 1415 – 1419, 2007.

WATSON, R. E.; DESESSO, J. M.; HURTT, M. E. **et al.** Postnatal growth and morphological development of the brain: A species comparison. **Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol**, v. 77, n. 5, p. 471 – 484, 2006.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6<sup>a</sup> ed. Ames, Iowa: Willey-Blackwell, 2010.

WEISS, D.J.; SMITH, S.A. A retrospective study of 19 cases of canine myelofibrosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, p. 174 – 178, 2002.

WEISSL, J.; HULSMEYER, V.; BRAUER, C. Disease Progression and Treatment Response of Idiopathic Epilepsy in Australian Shepherd Dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 26, p. 116 – 125, 2012.

WENGER, T.; MOLDRICH, G. The role of endocannabinoids in the hypothalamic regulation of visceral function. **Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids**, v. 66, n. 2 – 3, p. 301 – 307, 2002.

WESSMANN, A.; STALIN, K.; KISIEWICZ, C.; et al. Use of cannabidiol (CBD) in dogs and cats (BSAVA scientific information sheets). 2021. Disponível em: <https://www.bsavalibrary.com/content/chapter/10.22233/9781910443514.chap8> . Acessado em 10 de janeiro de 2021.

WESSMANN, A.; VOLK, H. A.; PARKIN, T. et al. Living with canine idiopathic epilepsy: a 10 / 14 questionnaire-based evaluation of quality of life, **Proceedings of the 24th Symposium ESVNECVN. Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 3, p. 823 – 852, 2012.

WILDER, R. M. Effect of ketonuria on course of epilepsy. **Mayo Clin Bull**, v. 2, p. 307, 1921.

WILLIAMS, C. M.; ROGERS, P. J.; KIRKHAM, T. C. Hyperphagia in pre-fed rats following oral delta9-THC. **Phys. Behav.**, v. 65, p. 343 – 346, 1998.

WOODY, R. C.; TURLEY, C. P.; BREWSTER, M. A. The use of serum electrolyte concentrations determined by automated analyzers to indirectly quantitate serum bromide concentration. **Ther Drug Monit.** v. 12, n. 5, p. 490-492, 1990.

WOOLDRIDGE, L. M.; LIU, Y.; JI, L. et al. Antiemetic effects of cannabinoid agonists in nonhuman primates. **Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 374, n. 1, p. 1 - 38 , 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) – Expert Committee on Drug Dependence Fortieth Meeting. Cannabidiol (CBD) Critical Review Report. Disponível em: <https://www.who.int/medicines/access/controlled-substances/CannabidiolCriticalReview.pdf> . 2018.

YAMAORI, S.; KOEDA, K.; KUSHIHARA, M. et al. Comparison in the in vitro inhibitory effects of major phytocannabinoids and polycyclic aromatic hydrocarbons contained in marijuana smoke on cytochrome P450 2C9 activity. **Drug metabolism and pharmacokinetics**, v. 27, n. 3, p. 294 – 300, 2012.

YAN, H.; JI-QUN, C.; ISHIHARA, K. **et al.** Separation of Antiepileptogenic and Antiseizure Effects of Levetiracetam in the Spontaneously Epileptic Rat (SER). **Epilepsia**, v. 46, n. 8, p. 1170 – 1177, 2005.

YANG, X.; ROTHMAN, S. M. Levetiracetam has a time- and stimulation-dependent effect on synaptic transmission. **Seizure**, v. 18, n. 9, p. 615 – 619, 2009.

ZGAIR, A.; J. B.; WONG, LEE, J. B.; MISTRY, J, et al. Dietary fats and pharmaceutical lipid excipients increase systemic exposure to orally administered cannabis and cannabis-based medicines. **American journal of translational research**, v. 8, p. 3448 – 3459, 2016.

ZGAIR, A.; LEE, J. B.; WONG, J. C. M. et al. Oral administration of cannabis with lipids leads to high levels of cannabinoids in the intestinal lymphatic system and prominent immunomodulation. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, 2017.

ZHU, J.; PELTEKIAN, K. M. Cannabis and the liver: things you wanted to know but were afraid to ask. **Canadian liver journal**, v. 2, n. 3, p. 51 – 57, 2019.

ZIMMERMANN, R.; HULSMEYER, V. I.; SAUTER-LOUIS, C. et al. Status epilepticus and epileptic seizures in dogs. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 23, p. 970 – 976, 2009.