



(19) REPUBLIKA HRVATSKA  
DRŽAVNI ZAVOD ZA  
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator  
dokumenta:

HR P20200207 A2



HR P20200207 A2

## (12) PRIJAVA PATENTA

(51) MKP:

**A61K 31/5377** (2006.01)

**A61P 25/08** (2006.01)

**A61P 25/22** (2006.01)

(21) Broj prijave u HR:

P20200207A

(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR:

07.02.2020.

(43) Datum objave prijave patenta u HR:

24.07.2020.

(86) Broj međunarodne prijave:

PCT/EP03/011212

Datum podnošenja međunarodne prijave

09.10.2003.

(87) Broj međunarodne objave:

WO 04/032938

Datum međunarodne objave

22.04.2004.

(31) Broj prve prijave: 60/417,590

(32) Datum podnošenja prve prijave: 10.10.2002.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(62) Broj i datum prvobitne prijave u slučaju podjele patenta: P20090667A 9.10.2003.

(71) Podnositelj prijave:

**Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Binger Strasse 173, 55218  
Ingelheim, DE**

(72) Izumitelji:

**Chris Rundfeldt, Melanchthonstrasse 11, 01640 Coswig, DE  
Rita Dost, Südhöhe 51, 01217 Dresden, DE  
Wolfgang Löscher, Kaulbachstrasse 5a, 30625 Hannover, DE  
Andrea Tipold, Ahornallee 4a, 31303 Burgdorf-Ramlingen, DE  
Klaus Unverferth, Justinenstrasse 9, 01309 Dresden, DE  
Hans-Joachim Lankau, Coswiger Strasse 19, 01689 Weinböhla, DE  
CPZ - CENTAR ZA PATENTE d.o.o., 10000 Zagreb, HR**

(54) Naziv izuma:

**UPORABA DIHIDROIMIDAZOLONA ZA LIJEČENJE PASA**

(57) Sažetak: Predstavljeni se izum odnosi na supstituirane dihidroimidazolone, naročito [1-(4-klorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-on] (AWD 131-138) ili njihove fiziološki prihvatljive soli za tretman epilepsije kod pasa.

HR P20200207 A2

## OPIS IZUMA

Predstavljeni izum je vezan uz uporabu supstituiranih dihidroimidazolona, posebno [1-(4-klorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-ona] (AWD 131-138) ili njihovih fiziološki prihvatljivih soli za liječenje epilepsije i abnormalnosti u ponašanju pasa.

Napadaji su najčešće intrakranijalne bolesti kod ljudi i životinja, posebno pasa i mačaka (OLIVER 1980, SCHWARTZ-PORSCHKE 1984, LÖSCHER et al. 1985, FREY 1989). Kod psa kao i kod čovjeka, procjenjuje se da napadaji uzrokuju smrtnost između 0,5 i 1 % (US Department of Health, Education and Welfare 1977, JANZ 1979, LÖSCHER et al. 1985, KERÄNEN and RIEKKINGEN 1988, FORRESTER et al. 1989, SRENK et al. 1994). Različiti sinonimi za epilepsiju su u uporabi koji opisuju iznenadne, prekomjerne, kratkoročne, snažne neuronalne izboje u cerebralnom korteksu (LÖSCHER 1993, JAGGY and STEFFEN 1995a). Postignut je značajan napredak u razumijevanju uzročnih mehanizama. Neravnoteža između inhibitorynih (BURNHAM 1989, LÖSCHER 1989) i ekscitatornih neurotransmitera (MCNAMARA 1988, DINGLELINE et al. 1990) je opisana (FENNER and HAAS 1989). Također, čini se da izmjenjeni ionski kanali i funkcije neurotransmitterskih receptora imaju značajnu ulogu u patogenezi epilepsije (OWENS and KRIEGSTEIN 2001).

Napadaji se klasificiraju kao djelomični ili kao opći napadaji s toničnom, kloničnom ili tonično-kloničnom aktivnošću, sa ili bez gubitka svijesti (SCHWARTZ-PORSCHKE 1984). Epilepsija se definira kao idiopatska, kada se uzroci ne mogu odrediti kliničkim i patološkim ispitivanjima (CUNNINGHAM 1971, DE LAHUNTA 1983, MONTGOMERY and LEE 1983, SCHWARTZ-PORSCHKE 1984 and CHRISMAN 1991). Simptomatska epilepsija je uzrokovana ili intrakranijalnim oštećenjem ili ekstraneuralnim, metaboličkim poremećajem (JAGGY and STEFFEN 1995 b and c, PODELL et al. 1995, JAGGY and HEYNOLD 1996). Kod pasa, idiopatska epilepsija je dijagnosticirana u približno 45% slučajeva s napadajima (JAGGY and STEFFEN, 1995 a and c), i u 5,3 - 8,0% pasa s bolešću živčanog sustava (SCHWARTZ-PORSCHKE 1994, BERNARDINI and JAGGY 1998). U većini slučajeva kod pasa s idiopatskom epilepsijom primjećuju se opći napadaji (80-90%) (SCHWARTZ-PORSCHKE 1984, LÖSCHER et al. 1985, BRAUND 1986, CENTER 1986, JAGGY and STEFFEN, 1995 c). Međutim, mogu se pojaviti i djelomični napadaji (BREITSCHWERDT et al. 1979). Napadaji obično počinju kod pasa s idiopatskom epilepsijom u dobi od 1 do 3 godine (CROFT 1965, CUNNINGHAM 1971, DE LAHUNTA 1983, FORRESTER et al. 1989, OLIVER and LORENZ, 1993). Kod nekih vrsta dokazana je važnost nasljeđivanja (OLIVER 1987, CHRISMAN 1991, OLIVER and LORENZ, 1993, JAGGY i STEFFEN, 1995a).

Kod pasa se samo nekoliko antiepileptičkih lijekova mogu rabiti uspješno čitav život, poput fenobarbitala, primidona i kalijevog bromida (SCHWARTZ-PORSCHKE 1984, FREY i SCHWARTZ-PORSCHKE 1985, FREY 1986, SCHWARTZ-PORSCHKE and JÜRGENS 1991, LÖSCHER 1994). Međutim, ishod liječenja nije zadovoljavajuć u svim slučajevima. U otprilike jednoj trećini slučajeva, opažena je farmakoresistencija (SCHWARTZ-PORSCHKE et al. 1982, FREY and SCHWARTZ-PORSCHKE 1985, LÖSCHER et al. 1985, LÖSCHER and SCHWARTZ-PORSCHKE 1986, HEYNOLD et al. 1997). Nadalje, uporaba fenobarbitala te primidona može uzrokovati nuspojave poput povećane uspavanosti, ataksije, kompluzivnog poremećaja hodanja, slabosti, polifagije, polidipsije i poliurije (SCHWARTZ-PORSCHKE et al. 1982 and LÖSCHER 1995). Često se opaža podizanje razine jetrenih enzima (LÖSCHER 1995). Liječenje kalijevim bromidom može dovesti do umora, anoreksije, opstipacije, gastritisa i oštećenja kože (LÖSCHER 1995).

Noviji antiepileptički lijekovi poput gabapentina ili lamotrigina se ne mogu rabiti za liječenje epilepsije kod pasa zbog nedovoljnog vremena poluraspada (LÖSCHER 1994), iako mogu uspješno spriječiti napadaje uzrokovane otrovima koji uzrokuju grčenje poput pentilentetrazola (PTZ). Drugi primjer takvog lijeka je abecarnil (Löschler et al., 1990) za koji je pokazano da sprječava napadaje uzrokovane PTZ-om, ali se ne može rabiti za liječenje epilepsije. Stoga, trenutno dostupni životinjski modeli se mogu rabiti za testiranje da li određeni lijek može postati antikonvulzant, međutim takvi testovi ne mogu predvidjeti kliničku djelotvornost lijeka. Problem kratkog vremena poluraspada je dodatno pojačan činjenicom da je probava kod pasa brža nego kod ljudi.

Nedavno je pokrenuta klinička studija u svrhu testiranja antiepileptičke aktivnosti fenitoina, jednog od najstarijih antikonvulzanata, unesenog u obliku pripravka s odgođenim djelovanjem. Međutim, studija nije uspjela dokazati zadovoljavajuću aktivnost. Takav ishod je bio očekivan zbog brze probave kod pasa, čineći uporabu pripravaka s odgođenim djelovanjem neuspješnom. Daljnja klinička studija kod pasa provedena nad uporabom vigabatrina (Speciale et al., 1991). Ova tvar je izabrana zbog svojeg mehanizma djelovanja. Mehanizam djelovanja uključuje ireverzibilnu inhibiciju metaboličkog puta gama-aminobutanske kiseline. Dakle, uslijed ireverzibilne prirode ili mehanizma, za ovaj lijek se očekivalo da pokaže aktivnost neovisno o dugom vremenu poluraspada. Bilo je poznato da pojedinačne visoke doze ireverzibilno koče metaboličku degradaciju gama-aminobutanske kiseline. Međutim, ova studija nije uspjela uslijed neprihvatljivih nuspojava ovog lijeka kod pasa.

Zbog ovog podatka, očita je potreba za novim antiepileptičkim lijekovima za pse. Takvi novi lijekovi trebali bi biti

aktivni u liječenju epilepsije kod pasa koji od nje pate (tj. pacijenata). Takvi lijekovi također bi trebali biti posebno aktivni kod pasa koji pate od epilepsije, koji se ne mogu liječiti s dostupanim medikamentima. Dodatno, takvi lijekovi bi trebali imati bolji profil nuspojava, npr. trebali bi uzrokovati manje nuspojava prilikom liječenja.

AWD 131-138 [1-(4-klorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-on] je novi lijek s antikonvulzijskim i anksiolitičkim učincima (Rostock et al., 1998a-d; WO 97/09314). Za lijek se također pokazalo da povisuje prag kemijski uzrokovanih napadaja intravenoznim uzimanjem pentilenetetrazola (PTZ), što je testirano na miševima i psima. Kod pasa, 20 i 40 mg/kg primjenjenog oralno, povisuje prag napadaja za 39 odnosno 118% (Bialer et al., 1999). Međutim, kao što je ranije spomenuto, ovakav model ne može predvidjeti kliničku aktivnost lijeka kod pasa koji pate od epilepsije. U ovom PTZ testiranju lijekovi se primjenjuju oralno i u određenom vremenu nakon primjene lijeka, PTZ se daje intravenozno sve do izazivanja prvog napadaja u obliku kloničnih grčenja. Doza PTZ-a potrebna za izazivanje takvih grčenja, skalirana po tjelesnoj masi, definira se kao konvulzijski prag. Utjecaj lijeka se procjenjuje usporedbom konvulzijskog praga kod životinja koje su primale lijek s pragom kontrolnih eksperimenata liječenjem pomoćnim tvarima. Učinak lijeka se izražava kao postotak povišenja konvulzijskog praga. Budući da ovakav model mjeri učinkovitost lijekova na ponašanje slično napadu epilepsije (PTZ ne uzrokuje epilepsiju kod pasa, nego samo epilepsiji slične napade) mogućnost predviđanja učinkovitosti lijekova kod oboljelih životinja je ograničena. Nadalje, uslijed uske veze između primjene testiranog lijeka i infuzije PTZ-a, podaci ne ukazuju da li testirani lijek može proizvesti dovoljno dugoročnu razinu plazme kako bi zaštitila životinju od napadaja tijekom dana ukoliko se ne primjenjuje više od jednog do tri puta na dan.

Mehanizam djelovanja AWD 131-138 do sada nije bio u potpunosti razjašnjen. Vrlo nizak afinitet veznog mjesta GABA<sub>A</sub> receptora za benzodiazepine nađeno je u širokom receptorskom području. Elektrofiziološka ispitivanja, u kojima su korišteni različiti klonirani humani GABA receptorski kompleksi, ukazala su da AWD 131-138 djeluje kao djelomični antagonist niskog afiniteta na benzodiazepinskom receptoru bez subtipske selektivnosti. Maksimalna stimulacija postignuta s AWD 131-138 doseže samo 20% učinka diazepama. Specifični receptorski antagonist flumazenil rabljen je za procjenu doprinosa benzodiazepinskog receptorskog međudjelovanja na farmakološku aktivnost. Antikonvulzijska aktivnost AWD 131-138 može biti djelomično poništena i anksiolitička aktivnost bila je potpuno poništena usporednom primjenom flumazenila. Antagonistički učinak na napadaje i anksioznost

bio je usporediv s učinkom flumazenila na antikonvulzijsku i anksiolitičku aktivnost diazepama. Ovi podaci ukazuju da, usprkos niskom afinitetu i niskoj intrinzičnoj aktivnosti, međudjelovanje AWD 131-138 s benzodiazepinskim receptorom može predstavljati glavni mehanizam farmakološke aktivnosti. Međutim, psihofarmakološki profil AWD 131-138 razlikuje se značajno od poznatih benzodiazepinskih agonista. U studiji diskriminacije lijeka, majmuni nisu prepoznavali AWD 131-138 kao benzodiazepinu-sličan, kao što je bio slučaj s midazolamom i diazepamom. Ovaj nedostatak psihofarmakološke sličnosti benzodiazepinu je potvrđen predloškom samounošenja lijeka u kojem AWD 131-138, za razliku od potpunih benzodiazepinskih agonista, nije zamjenio kokain. Ovaj nedostatak benzodiazepinu slične psihofarmakologije može se povezati s djelomičnom agonističkom aktivnosti s niskom intrinzičnom aktivnosti. Za AWD 131-138 je također dokazano da ima slab učinak u blokiranju kalcijevih kanala. Ovaj mehanizam može doprinjeti antikonvulzijskoj aktivnosti (Rostock et al., 1998a-d; Rundfeldt et al. 1998; Sigel et al., 1998; Yasar et al., 1999).

U studiji koja je prethodila predstavljenom otkriću, učinkovitost AWD 131-138 procjenjivana je u kliničkim ispitivanjima na epileptičnim psima. Preciznije, ispitivanja su provedena nad psima s tek diagnosticiranom idiopatskom epilepsijom koji nisu prošli nikakvo prethodno liječenje i psima s idiopatskom epilepsijom, koji nisu reagirali na uobičajene antiepileptičke lijekove. Nadalje, provedeno je kombinirano liječenje s AWD 131-138 i drugim epileptičkim lijekovima. Dodatno, načinjen je profil nuspojava AWD 131-138 te uspoređivan s drugim antiepileptičkim lijekovima. Začudujuće, nađeno je da AWD 131-138 ima visoku mogućnost sprečavanja napadaja, kako u slučaju tek diagnosticirane epilepsije tako i u slučajevima epileptičnih pasa koji ne reagiraju na lijekove. Nadalje, AWD 131-138 je bolje toleriran čak i slučaju dugoročne primjene i primjećuje se manje nuspojava u usporedbi s tradicionalnim antiepileptičkim lijekovima. Nadalje, AWD 131-138 je učinkovit za liječenje abnormalnosti u ponašanju pasa, posebno onih povezanih s nervozom, npr. strašljivost koja se ispoljava kao neočekivana agresija protiv ljudi ili okoliša.

Ovaj začudjujuć učinak AWD 131-138 kod epileptičnih pasa može se povezati s kombinacijom dva faktora: s jedne strane, začudjujuća tolerancija pasa na tvar, koja je mnogo bolja od ostalih klinički korištenih lijekova, primjerice fenobarbitala, primidona i kalijevog bromida. S druge strane, primjena AWD 131-138 rezultirala je razinom plazme koja je bila dovoljno visoka čak i 12 sati nakon primjene kao što je prikazano na Slici 1. Razine plazme mjerene dva sata nakon primjene bile su mnogo više (Slika 1). Dakle, kombinacija izvanredne tolerancije, koja dopušta visoku razinu plazme nakon primjene, i dovoljno visoke razine plazme čak 12 sati nakon primjene, može se promatrati kao temelj neočekivane aktivnosti tvari u epileptičnih pasa, što je prikazano u ovoj kliničkoj studiji.

Dakle, prvi aspekt predstavljenog otkrića je uporaba [1-(4-klorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-on] (AWD 131-138) ili njegovih fiziološki prihvatljivih soli kao aktivnog sastojka za proizvodnju medikamenta za liječenje epilepsija kod pasa. Drugi aspekt otkrića odnosi se na uporabu AWD 131-138 ili njegovih fiziološki prihvatljivih soli

kao aktivnog sastojka za liječenje abnormalnosti u ponašanju pasa.

Medikament predstavljenog otkrića se može primjenjivati bilo kojim prikladnim putem, npr. injektiranjem, oralno, nazalno, pulmonalno itd. Za praktične svrhe, međutim, preferirana je oralna primjena. Medikament se može primjenjivati jednom ili nekoliko puta dnevno, npr. 1-5 puta dnevno. Primjena 1-3 puta dnevno je posebno preferirana. Doza aktivnog sastojka je terapijski učinkovita doza, npr. doza, koja je dovoljna da ublažuje ili uklanja simptome epilepsije i/ili abnormalnosti u ponašanju. Poželjna dnevna doza je od 1 do 200 mg/kg, poželjnija od 5 do 100 mg/kg. Doza se može prilagoditi potrebama pojedinačnog pacijenta. Aktivni sastojak se obično primjenjuje kao farmaceutski pripravak koji sadrži aktivni sastojak i farmaceutski prihvatljive nosače, tvari za razrjeđivanje i/ili pomoćne tvari.

Ukoliko se želi, aktivni sastojak može se također primjenjivati uz barem još jedan daljnji aktivni sastojak. Daljnji aktivni sastojak može se odabrati iz drugih antiepileptičkih lijekova, npr. iz fenobarbitala, primidona i kalijeva bromida.

Medikament predstavljenog otkrića može se rabiti za liječenje bilo kojeg tipa epilepsije, npr. idiopatska ili simptomatska epilepsija. Posebno je poželjno liječenje idiopatske epilepsije, npr. tek dijagnosticirana idiopatska epilepsija ili već utvrđena idiopatska epilepsija, posebno epilepsija koja je otporna na lijekove, koja se ne može liječiti s uobičajenim antiepileptičkim lijekovima.

Medikament otkrića može se također rabiti za liječenje abnormalnosti u ponašanju, posebno anksioznosti.

Začudujuća prednost u liječenju je smanjen rizik nepoželjnih nuspojava u ponašanju poput uspavanosti. Nadalje, primjena lijeka ne uzrokuje aktivnost jetrenih enzima i stoga ne prikriva druge istovremene bolesti.

Nadalje, predstavljeno otkriće će biti detaljnije objašnjeno popratnim slikama i primjerima.

## 1. Materijali i metode

### 1.1. Psi

U predstavljenoj je studiji ispitano 111 pasa s idiopatskom epilepsijom. U ciljanoj je studiji 29 pasa liječeno s AWD 131-138. Kod 12 pasa s tek dijagnosticiranom idiopatskom epilepsijom (tek dijagnosticirani psi) početno antikonvulzijsko liječenje započeto je s AWD 131-138. Kod sljedećih 17 pasa s kroničnom epilepsijom i bez reakcije na uobičajeno liječenje nadodan je AWD 131-138 (nadodano liječenje). Retrospektivno, procijenili smo 82 psa s idiopatskom epilepsijom. 70 tek dijagnosticiranih pasa bili su liječeni s poznatim antiepileptičkim lijekovima, fenobarbital ili primidon.

Kod preostalih 12 pasa s kroničnom epilepsijom, bez ikakvog poboljšanja nakon liječenja s navedena dva lijeka, bio je nadodan kalijev bromid (Tablica 1).

**Tablica 1: Broj pasa uključenih u predstavljenoj studiji**

| Liječenje                                                                                   | broj pasa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. AWD 131-138</b>                                                                       | <b>29</b> |
| - psi s idiopatskom epilepsijom, tek dijagnosticirana                                       | 12        |
| - psi s kroničnom idiopatskom epilepsijom fenobarbital ili primidon, nadodan AWD 131-138    | 17        |
| <b>2. uobičajeno liječenje</b>                                                              | <b>82</b> |
| - psi s idiopatskom epilepsijom, tek dijagnosticirana liječenje samo fenobarbitalom         | 44        |
| - psi s idiopatskom epilepsijom, tek dijagnosticirana liječenje samo primidonom             | 26        |
| - psi s kroničnom idiopatskom epilepsijom fenobarbital ili primidon, nadodan kalijev bromid | 12        |

#### 1.1.1. Psi: AWD 131-138 liječenje

Prvi dio ovog ispitivanja predstavlja kliničku pilot studiju testiranja AWD 131-138 [1-(4-klorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-on]. Kod 29 pasa s poviješću napadaja bila je dijagnosticirana idiopatska epilepsija.

##### 1.1.1.1. Tek dijagnosticirani psi

Kod dvanaest takvih pasa idiopatska epilepsija bila je tek dijagnosticirana. Oni nisu bili liječeni prije i primali su samo AWD 131-138 (Tablica 1). Jedan od tih pasa nakon 4 mjeseca AWD 131-138 liječenja nije pokazao poboljšanje učestalosti napadaja i bio mu je dan fenobarbital (4 mg/kg tjelesne težine p.o., dnevna doza).

Svi psi imali su prije provedbe dva ili više opća epileptička napadaja. Grand mal napadaje opazili su vlasnici u svim

slučajevima, njih 5 imalo je niz napadaja. Uz opće napadaje kod 3 psa uočeni su bili fokalni napadaji (Tablica 2). Učestalost napadaja kod 12 neliječanih pasa kretala se u rasponu od osam napadaja mjesečno do jednog napadaja svakih osam mjeseci.

#### 1.1.1.2. Psi s kroničnom epilepsijom

Sedamnaest pasa s kroničnom epilepsijom bilo je liječeno fenobarbitalom ili primidonom prije izlaganja i nisu reagirali na ovaj uobičajen lijek. Period liječenja se kretao u rasponu od 3 mjeseca do 5 godina (medijan 1.5 godina, prosjek i standardna devijacija 1.6. 1.3 godina). Ove životinje primale su tijekom pilot studije kombiniranu terapiju ili fenobarbitala ili primidona kombinirane s AWD 131-138 (Tablica 1).

Jedanaest od ovih pasa bili su liječeni s dnevnim dozama fenobarbitala od 6 do 23 mg/kg tjelesne težine p.o. (medijan 10.7, prosjek i standardna devijacija 12.9 6.6 mg/kg). Serumske koncentracije fenobarbitala bile su mjerene i kretale su se u rasponu od 19.5 do 58.9 µg/mL (medijan 26.5, prosjek i standardna devijacija 32.0 13.6 µg/mL; referentne vrijednosti 15 - 45 µg/mL, utvrđene od strane FARNBACH 1984).

Preostalih šest pasa bilo je liječeno s primidonom uporabom dnevnih doza od 25 do 53 mg/kg tjelesne težine p.o. (medijan 45.5, prosjek i standardna devijacija 42.8 8.9 mg/kg). U ovim slučajevima koncentracija fenobarbitala se kretala u rasponu od 23.2 do 27.4 µg/mL (medijan 23.7, prosjek i standardna devijacija 24.8 1.8 µg/mL).

Grand mal napadaji bili su opaženi u svim slučajevima, 15 njih razvilo je niz napadaja i kod 8 pasa se pojavio status epilepticus, koji je kod nekih prerastao u akutni oblik. Uz opće napadaje kod 5 pasa bili su opaženi fokalni napadaji i u 2 slučaja kompleksni djelomični napadaji (tablica 2). Učestalost napadaja kod ovih 17 pasa kretala se u rasponu od šest epileptičkih napadaja mjesečno do jednog napadaja svakih šest mjeseci.

**Tablica 2: Tipovi napadaja kod 29 pasa prije liječenja s AWD 131-138**

| Tip napadaja                   | broj pasa            |                     |
|--------------------------------|----------------------|---------------------|
|                                | tek dijagnosticirana | kronična epilepsija |
| grand mal napadaji             | 12/12                | 17/17               |
| kluster                        | 5/12                 | 15/17               |
| Status epilepticus             | -                    | 8/17                |
| Fokalni napadaji               | 3/12                 | 5/17                |
| Kompleksni djelomični napadaji | -                    | 2/17                |

#### 1.1.2. Psi: retrospektivna studija, uobičajeno liječenje

U drugom dijelu ove studije, podaci o 82 dobro dokumentirana slučaja s idiopatskom epilepsijom bili su retrospektivno analizirani.

Sedamdeset ovih pasa imalo je tek dijagnosticiranu idiopatsku epilepsiju i nisu bili liječeni prije izlaganja. Svi psi imali su dva ili više napadaja prije liječenja. Četrdeset i četiri ova psa bili liječeni fenobarbitalom s dnevnom dozom koja se kretala u rasponu od 4 do 13 mg/kg tjelesne težine p.o. (medijan 5.0, prosjek i standardna devijacija 6.0 2.4 mg/kg). Serumske koncentracije kretale su se u rasponu između 4.6 i 33.2 µg/mL (medijan 17.2, prosjek i standardna devijacija 18.4 7.2 µg/mL).

Dvadeset i šest pasa bili su liječeni s primidonom i primali su doze od 24 do 70 mg/kg tjelesne težine p.o. (medijan 60.0, prosjek i standardna devijacija 51.0 13.4 mg/kg). Serumske koncentracije fenobarbitala kretale su se u rasponu između 5.9 i 37.5 µg/mL (medijan 18.3, prosjek i standardna devijacija 19.7 10.2 µg/mL).

Svi psi imali su najmanje dva ili više napadaja prije liječenja. Kod većine pasa (n=61) opći napadaji (grand mal tipa) su bili opaženi. 19 pasa imalo je niz napadaja u povijesti napadaja i 7 pasa bilo je prijavljeno u akutnoj fazi status epilepticus-a ili nakon oporavka. 13 pasa imalo je fokalne napadaje i kod 3 psa bili su opisani kompleksni djelomični napadaji (tablica 3).

Dvanaest pasa s kroničnom epilepsijom bili su liječeni ili fenobarbitalom ili primidonom od 3 mjeseca do 3 godine (medijan 0.5 godina, prosjek i standardna devijacija 1.7. 0.9 godina) prije izlaganja i nisu reagirali na lijek. Oni su primali dodatni lijek, kalijev bromid. Osam ovih pasa bilo je liječeno dnevnom dozom fenobarbitala od 6 do 17 mg/kg tjelesne težine, p.o. (medijan 9.5, prosjek i standardna devijacija 10.0 3.2 mg/kg), serumske koncentracije bile su mjerene i kretale su se u rasponu 18.7 do 41 µg/mL (medijan 24.6, prosjek i standardna devijacija 27.2 8.4 µg/mL).

Preostala četiri psa bili su liječeni s primidonom s dnevnom dozom od 50 do 70 mg/kg tjelesne težine p.o. (medijan 60.0, prosjek i standardna devijacija 60.0 7.0 mg/kg). U ovim slučajevima serumska koncentracija kretala se u rasponu od 24.5 do 36.2 µg/mL (medijan 30.4, prosjek i standardna devijacija 30.4 5.9 µg/mL).

Kalijev bromid bio je davan u dnevnoj dozi od 40 do 60 mg/kg tjelesne težine p.o. (medijan 41, prosjek i standardna devijacija 42.6 5.4 mg/kg). Koncentracija bromida kretala se u rasponu od 0.6 do 1.4 mg/mL (medijan 0.9, prosjek i standardna devijacija 1.0 0.3 mg/mL; terapijski raspon 1.0 - 2.0 mg/mL, utvrđen od PODELL i FENNER 1993).

Kod svih pasa opći napadaji (grand mal tip) bili su opaženi. Sedam pasa imalo je nizove napadaja u povijesti napadaja i šest pasa bilo je prijavljeno u akutnoj fazi status epilepticus-a ili nakon oporavka. Šest pasa imalo je fokalne napadaje i kod jednog psa bili su opisani kompleksni fokalni napadaji (Tablica 3).

**Tablica 3: Tipovi napadaja kod 82 psa prije liječenja fenobarbitalom ili primidonom kod pasa s tek dijagnosticiranom idiopatskom epilepsijom ili s kroničnom epilepsijom (nadodan kalijev bromid)**

| Tip napadaja                   | broj pasa            |                     |
|--------------------------------|----------------------|---------------------|
|                                | tek dijagnosticirana | kronična epilepsija |
| grand mal napadaji             | 61/70                | 12/12               |
| kluster                        | 19/70                | 7/12                |
| Status epilepticus             | 7/70                 | 6/12                |
| Fokalni napadaji               | 13/70                | 6/12                |
| Kompleksni djelomični napadaji | 3/70                 | 1/12                |

## 1.2. Dizajn studije

### 1.2.1. pilot studija: AWD 131-138 liječenje

Projekt je bio zamišljen kao ciljana studija kroz period od 7 do 9 mjeseci. U slučaju smrti period je bio kraći (vidi rezultate). Povijesti učestalosti napadaja, težina i trajanje, dob pojave prvog napadaja i prethodna ili antiepileptička liječenja u tijeku ispitivanja su bila zabilježena za svaki slučaj (vidi 1.1). Epileptički napadaji bili su razvrstani na temelju vlasnikovog opažanja i video nadzora (Tablica 2) (HEYNOLD et al. 1997, BERNARDINI and JAGGY 1998, BERENDT and GRAM 1999, THOMAS 2000).

Dijagnoza idiopatske epilepsije temeljila se na normalnim fizičkim i neurološkim otkrićima i normalnim specijalističkim pregledima. Svi psi su imali standardizirane fizičke i neurološke preglede (JAGGY i TIPOLD 1999). Pretraga krvi uključivala je u svim slučajevima hematologiju (prebrojavanje crvenih, bijelih krvnih zrnaca i diferencijalnu krvnu sliku) i kemiju krvi (alanin transferaza (ALT), alkalnu fosfatazu (AP), glutamat dehidrogenazu (GLDH), amonijak, glukozu, ureu, kreatinin, ukupni serumski bilirubin, kolesterol, serumski albumin, kalcij, natrij i kalij). Koncentracije fenobarbitala u plazmi (ALOMED, Radolfzell) bile su analizirane u vanjskim laboratorijima. Daljnja specijalistička ispitivanja nisu bila provedena kod svih pasa, već onih uključenih u ispitivanje cerebrospinalne tekućine, kompjuterske tomografije lubanje, EEG i rendgensko snimanje prsnog koša (Tablica 4). U dva slučaja idiopatska epilepsija je bila potvrđena histopatologijom.

**Tablica 4: Specijalistički pregledi kod 29 pasa liječenih AWD 131-138**

| specijalistički pregledi         | broj pasa            |                     |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|
|                                  | tek dijagnosticirana | kronična epilepsija |
| kompjuterska tomografija lubanje | 8/12                 | 9/17                |
| cerebrospinalna tekućina         | 8/12                 | 9/17                |
| EEG -                            | 8/12                 | 8/17                |
| Rendgensko snimanje prsnog koša  | 6/12                 | 6/17                |

Liječenje AWD-om 131-138 počelo je u svim slučajevima s dozom od 5 mg/kg tjelesne težine p.o. dva puta dnevno kroz jedan tjedan. U drugom tjednu doza je bila povećana na 10 mg/kg kod svakog psa. Ukoliko su se napadaji i dalje opažali doza AWD 131-138 bila je povećana do 30 mg/kg tjelesne težine dva puta dnevno (Tablica 5).

**Tablica 5: AWD 131-138 dnevne doze u mg/kg tjelesne težine**

| dnevne doze | broj pasa                                                 |                                           |
|-------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|             | tek dijagnosticirana epilepsija: AWD 131-138 monoterapija | kronična epilepsija: AWD 131-138 nadodana |
| 20 mg/kg    | 1/12                                                      | 3/17                                      |
| 30 mg/kg    | 4/12                                                      | 3/17                                      |
| 40 mg/kg    | 4/12                                                      | 8/17                                      |

|          |      |      |
|----------|------|------|
| 50 mg/kg | 2/12 | 2/17 |
| 60 mg/kg | 1/12 | 1/17 |

Prvi sljedeći pregled uslijedio je tri tjedna nakon početka liječenja s AWD-om 131-138, popraćeno pregledima u intervalu od 6 ili 8 tjedana ili ovisno o pojedinačnim pojavama napadaja. Provedeni su bili klinički i neurološki pregledi uključujući pretragu krvi. Tijekom studije svi vlasnici su vodili dnevnik s preciznim opisom napadaja, uključujući učestalost, trajanje i težinu, promjene u ponašanju, druge lijekove i moguće opažene nepoželjne učinke. U tim trenucima bile su mjerene koncentracije AWD 131-138 i njegovih metabolita u plazmi.

Nakon drugog mjeseca liječenja AWD-om 131-138, vlasnici su ispunili upitnik fokusirajući se na razvoj napadaja i nuspojave: uspavanost, polifagiju, poliuriju i polidipsiju, povraćanje, dijareju, anoreksiju, promjene u stavu, nemirnost, pojačano žvakanje nakon primjene AWD-a, agresivnost prema vlasniku ili drugim psima te abnormalnosti u kretanju.

#### 1.2.1.1. mjerenje koncentracije AWD 131-138 u plazmi

Farmakokinetička studija bila je provedena na početku liječenja kod 2 psa s AWD 131-138 monoterapijom i kod 4 psa s kombiniranim liječenjem AWD-om 131-138 i fenobarbitalom ili primidonom. Svih 6 pasa primali su 5 mg/kg tjelesne težine AWD 131-138. Krv je bila uzeta 3 puta svakih 2 sata. Koncentracije AWD 131-138 u plazmi i njegovih metabolita bile su izmjerene putem HPLC/masene spektrometrije. Iste metode bile su korištene kao kontrola suradnje tijekom naknadnih pregleda. Krv je bila uzeta dva i dvanaest sati nakon oralne primjene AWD 131-138.

#### 1.2.2. Retrospektivna studija

Podaci dobiveni u ovom dijelu studije poslužili su kao kontrola. Kod sva 82 slučaja s uobičajenim liječenjem (vidi 1.1.2.) povijest učestalosti napadaja, težina i trajanje napadaja, dob pojave napadaja i antiepileptičko liječenje bili su zabilježeni kod svakog pojedinog slučaja. Napadaji su bili kategorizirani na temelju vlasnikovih opažanja i video nadzora.

Svi psi su prošli standardizirana fizička i neurološka ispitivanja (JAGGY and TIPOLD 1999). Pretraga krvi provedena kod svih pasa uključivala je hematologiju i kemiju krvi (vidi 1.2.1.). Serumske koncentracije fenobarbitala (ALOMED, Radolfzell) i kalijevog bromida (Gesellschaft für Epilepsieforschung E.V., Bielefeld) bile su analizirane standardnim metodama. Drugi specijalistički pregledi uključivali su kompjutersku tomografiju lubanje, ispitivanje cerebrospinalne tekućine, EEG i rendgensko snimanje prsnog koša (Tablica 6).

**Tablica 6: Specijalistički pregledi kod 82 psa (retrospektivna studija)**

| specijalistički pregledi         | broj pasa            |                     |
|----------------------------------|----------------------|---------------------|
|                                  | tek dijagnosticirana | kronična epilepsija |
| kompjuterska tomografija lubanje | 22/70                | 5/12                |
| cerebrospinalna tekućina         | 22/70                | 5/12                |
| EEG -                            | 27/70                | 9/12                |
| Rendgensko snimanje prsnog koša  | 36/70                | 8/12                |

Ukoliko su svi provedeni pregledi bili unutar normalnih granica sumnjalo se na idiopatsku epilepsiju, te je ista dijagnosticirana. Vlasnici ljubimaca su bili ispitani u vezi kliničkih opažanja, ishoda liječenja vezano uz učestalost napadaja, trajanje i težinu prije i nakon liječenja, koje je uključivalo period između 1 i 9 mjeseci.

#### 1.2.3. Statistika

Statistički softverski paket WinSTAT<sup>®</sup> za EXCEL<sup>®</sup> bio je korišten za računanje opisnih parametara za svaku skupinu poput srednje vrijednosti, medijana i standardne devijacije starosti, dobi pojave napadaja, dobi na početku liječenja, doza fenobarbitala ili primidona uključujući serumsku koncentraciju. Značajne razlike između učestalosti napadaja prije i tijekom liječenja bile su računate pomoću Wilcoxon Signed Rank testa za parirane replikate korištenjem InStat<sup>®</sup>. Razina signifikantnosti je bila izabrana kao  $P = 0.05$ . Usporedba liječenih grupa je bila provedena pomoću ANOVE (3 skupine) ili Fisher-ovim ekzaktnim testom (2 skupine).

## 2. Rezultati

### 2.1. Učestalost napadaja

#### 2.1.1. pilot studija: AWD 131-138 liječenje

##### 2.1.1.1. tek dijagnosticirani psi

Prije izlaganja učestalost napadaja se kretala u rasponu od osam napadaja mjesečno do jednog napadaja svakih osam mjeseci (medijan 1.6). Tijekom monoterapije AWD-om 131-138 učestalost napadaja je varirala mjesečno od potpune kontrole napadaja do 9 napadaja mjesečno (medijan 0.71) (Tablica 7). Kod 9 od ovih 12 pasa je bilo opaženo smanjenje napadaja. Računajući vrijednosti kod ovih devet pasa, i na taj način eliminacijom onih koji nisu reagirali, medijan mjesečne učestalosti napadaja je iznosio 1.7 prije liječenja i 0.55 tijekom AWD 131-138 liječenja. Poboljšanje učestalosti napadaja kod ovih pasa je bilo statistički značajno ( $p < 0.05$ ). Postotak smanjenja napadaja kod onih koji su reagirali bio je 49,8 % dan kao srednja vrijednost (Tablica 7).

Jedan pas (8%), koji je imao 5 napadaja prije liječenja je bio bez napadaja kroz period opažanja od 9 mjeseci (prema novim informacijama od vlasnika nije imao napadaje 17 mjeseci). Bilo je postignuto smanjenje učestalosti napadaja za više od 50% kod četiri od dvanaest pasa (33%) (Tablica 7). 3 psa (25%) su se smatrala onima koji nisu reagirali, što se definira ili kao psi koji ne pokazuju pad učestalosti napadaja ili pokazuju povećanje učestalosti napadaja tijekom liječenja. Jedna od ove 3 životinje je umrla u status epilepticus-u 2 mjeseca nakon prvog uzimanja lijeka u dozi od 30 mg/kg AWD 131-138 i bila joj je izmjerena koncentracija u plazmi od 3997.5 ng/mL 2 sata nakon primjene. Jednom psu se pogoršalo, ali poboljšalo nakon davanja fenobarbitala.

Usporedba monoterapijski liječenih grupa (2.2.1. - 2.2.2.) nije ukazivala na bilo kakvu značajnu razliku između antiepileptičke učinkovitosti AWD 131-138, fenobarbitala ili primidona, time ukazujući na terapijsku jednakost.

#### **2.1.1.2. psi s kroničnom epilepsijom i nadodanim liječenjem AWD 131-138**

Mjesečna učestalost napadaja varirala je tijekom neuspješnog liječenja fenobarbitalom ili primidonom od osam napadaja mjesečno do jednog te četiri napadaja svakih šest mjeseci (medijan 1.9). Tijekom nadodanog liječenja AWD-om 131-138 učestalost se napadaja mjesečno kretala u rasponu od niti jednog do 9 napadaja (medijan 2.0) (tablica 8). Kod 10 od ovih 17 pasa bilo je opaženo smanjenje napadaja. Računajući vrijednosti kod ovih deset pasa, i time eliminirajući one koji nisu reagirali, medijan mjesečne učestalosti napadaja iznosio je 2.4 prije liječenja i 1.1 tijekom davanja AWD 131-138. Poboljšanje učestalosti napadaja je kod ovih pasa bilo statistički značajno ( $p < 0.05$ ). Postotak smanjenja napadaja kod onih koji su reagirali bio je 47,2 % dan kao srednja vrijednost (tablica 8).

6 pasa (35 %) je imalo smanjenje napadaja za više od 50 %. Jedan pas (6 %) bio je potpuno bez napadaja. Kod tog psa napadaji su započeli u dobi od 8 1/2 godina s 1 do 4 klusterska napadaja mjesečno. Nakon 3 mjeseca kombiniranog liječenja AWD-om 131-138 bio je, nažalost, uspavan zbog akutne leukemije. Druga dva psa imali su još uvijek 2 napadaja na početku liječenja, ali su bili bez napadaja preostalih devet mjeseci perioda opažanja. Preostalih 11 pasa imalo je smanjenje napadaja ispod 50 % (4 psa) ili su se smatrali onima koji ne reagiraju (7 pasa). Devet je pacijenata u toj grupi ili umrlo ili su bili uspavani u status epilepticus-u na zahtjev vlasnika. Dva od njih su bila pregledana histopatološki. Nikakva ekstraneuralna ili neuralna oštećenja nisu bila ustanovljena. Još je jedan pas umro nakon otrovanja kumarinom. Kod ovih je pasa period opažanja liječenja bio smanjen na 2 do 8 mjeseci.

#### **2.1.2. retrospektivna studija, uobičajeno liječenje**

##### **2.1.2.1. tek dijagnosticirani psi, monoterapija fenobarbitalom**

Prije liječenja napadaji su se pojavljivali s učestalošću od sedam mjesečno do jednog napadaja svakih šest mjeseci (medijan 1.6) (tablica 7). Mjesečna učestalost napadaja tijekom terapije fenobarbitalom se kretala u rasponu od bez napadaja do 10 napadaja (medijan 0.59). Kod 32 od ovih 44 pasa bilo je opaženo smanjenje napadaja. Računajući vrijednosti kod ova 32 psa i eliminirajući one koji ne reagiraju, medijan mjesečne učestalosti napadaja je bio 1.68 prije liječenja i 0.42 tijekom liječenja fenobarbitalom. Poboljšanje učestalosti napadaja kod ovih je pasa bilo statistički značajno ( $p < 0.05$ ) korištenjem oba izračuna. Postotak smanjenja napadaja kod onih koji reagiraju bio je 72.4 % dan kao srednja vrijednost (tablica 7).

Devet (20%) od ova 44 psa bili su bez epileptičnih napadaja tijekom liječenja. Kod 28 (64%) pasa bilo je opaženo smanjenje napadaja za više od 50%. Dvanaest pasa (27 %) smatrali su se onima koji ne reagiraju. 10 je pasa iz ove skupine ili umrlo ili su bili uspavani u status epilepticus-u na zahtjev vlasnika. 3 su dodatna psa bila uspavana zbog drugih bolesti osim epilepsije.

##### **2.1.2.2. tek dijagnosticirani psi, monoterapija primidonom**

Kod ovih 26 pasa napadaji su se pojavljivali s učestalošću od deset mjesečno do jednog napadaja svakih pet mjeseci (medijan 1.75) (tablica 7). Tijekom liječenja primidonom mjesečni se broj napadaja kretao u rasponu od 0 to 12 (medijan 0.39). Međutim, to smanjenje napadaja nije bilo statistički značajno. Kod 19 od 26 pasa bilo je opaženo smanjenje napadaja. Računajući vrijednosti kod ovih 19 pasa, i eliminirajući one koji ne reagiraju, medijan mjesečne učestalosti napadaja bio je 2.0 prije liječenja i 0.29 tijekom liječenja fenobarbitalom. Poboljšanje učestalosti napadaja kod ovih pasa bila je statistički značajno ( $p < 0.05$ ). Postotak smanjenja napadaja kod onih koji reagiraju bio je 75.1 % dan kao srednja vrijednost (tablica 7).

Četiri psa (15%) bili su bez napadaja tijekom primidonskog liječenja. Kod šesnaest pasa (62%) smanjenje učestalosti napadaja bilo je više od 50%. Sedam se pasa (27%) smatralo onima koji ne reagiraju. 10 pasa iz ove skupine su ili umrli ili su bili uspravani u status epilepticus-u na zahtjev vlasnika.

### 2.1.2.3. psi s kroničnom epilepsijom i nadodanim liječenjem kalijevim bromidom

Kod dvanaest pasa koji nisu reagirali na fenobarbital ili primidonsko liječenje bio je dan kalijev bromid. Napadaji su se pojavljivali s učestalošću od 13 mjesečno do jednog napadaja svaki drugi mjesec (medijan 3.0). Tijekom kombinirane terapije je učestalost napadaja varirala od 11 mjesečno do jednog napadaja svakih osam mjeseci (medijan 1.9) (tablica 8), a smanjenje napadaja nije bilo statistički značajno. Kod 7 od 12 pasa je bilo opaženo smanjenje napadaja. Računajući vrijednosti kod ovih 7 pasa, i time eliminirajući one koji ne reagiraju, medijan mjesečne učestalosti napadaja bio je 3.0 prije liječenja i 0.8 tijekom nadodanog liječenja kalijevim bromidom. Poboľšanje učestalosti napadaja kod ovih je pasa bilo statistički značajno ( $p < 0.05$ ). Postotak smanjenja napadaja kod onih koji reagiraju bio je 59.7 % dan kao srednja vrijednost (tablica 8). Kod 5 pasa (42%) smanjenje učestalosti napadaja bilo je više od 50%, 5 sljedećih pasa se smatralo onima koji ne reagiraju. 6 pasa iz ove skupine je ili umrlo ili su bili uspravani u status epilepticus-u na zahtjev vlasnika.

Usporedba liječenih grupa kod pasa s kroničnom epilepsijom Fisher-ovim egzaktnim testom nije ukazivala na bilo kakvu značajnu razliku antiepileptičke učinkovitosti dva nadodana rasporeda liječenja, to jest skupine s nadodanom terapijom AWD 12-281 ili kalijevog bromida.

### Tablica 7: Učinak monoterapije s AWD 131-138, fenobarbitalom ili primidonom u epileptičnih pasa

Oni koji ne reagiraju su definirani kao psi koji ili ne pokazuju pad u učestalosti napadaja ili pokazuju porast u učestalosti napadaja tijekom liječenja. Učestalosti napadaja su dane kao medijan vrijednosti skupina, postotak smanjenja napadaja je dan kao prosjek  $\pm$  SPP (standardna pogreška prosjeka). "n" je broj epileptičnih pasa po skupini. Značajne razlike u vrijednostima prije i nakon tretmana su naznačene zvjezdicom ( $P < 0.05$ ). Usporedba liječenih skupina pomoću ANOVA-e nije ukazala ni na jednu važnu razliku između antiepileptičkih učinaka tri lijeka.

|                                      | AWD 131-138 |                 |                   | Fenobarbital |                 |                   | Primidon |                 |                   |
|--------------------------------------|-------------|-----------------|-------------------|--------------|-----------------|-------------------|----------|-----------------|-------------------|
|                                      | n           | Prije liječenja | Tijekom liječenja | n            | Prije liječenja | Tijekom liječenja | n        | Prije liječenja | Tijekom liječenja |
| Učestalost napadaja (napadaj/mjesec) |             |                 |                   |              |                 |                   |          |                 |                   |
| svi psi                              | 12          | 1.6             | 0.71              | 44           | 1.6             | 0.59*             | 26       | 1.75            | 0.39              |
| Oni koji ne reagiraju                | 9           | 1.7             | 0.55*             | 32           | 1.68            | 0.42*             | 19       | 2.0             | 0.29*             |
| % smanjenja kod oni koji reagiraju   | 9           |                 | 49.8 $\pm$ 11.3   | 32           |                 | 72.4 $\pm$ 4.6    | 19       |                 | 75.1 $\pm$ 5.1    |
| Broj pasa s >50% smanjenja napadaja  |             |                 | 4/12(33%)         |              |                 | 28/44 (64%)       |          |                 | 16/26(62%)        |
| broj pasa bez napadaja               |             |                 | 1/12(8%)          |              |                 | 9/44 (20%)        |          |                 | 4/26(62%)         |
| Broj onih koji ne reagiraju          |             |                 | 3/12(25%)         |              |                 | 12/44 (27%)       |          |                 | 7/26(27%)         |

### Tablica 8: Psi s kroničnom epilepsijom, nadodana terapija s AWD 131-138 ili kalijevim bromidom

Oni koji ne reagiraju su definirani kao psi koji ili ne pokazuju pad u učestalosti napadaja ili pokazuju porast u učestalosti napadaja tijekom liječenja. Učestalosti napadaja su dane kao medijan vrijednosti skupina, postotak smanjenja napadaja je dan kao prosjek  $\pm$  SPP (standardna pogreška prosjeka). "n" je broj epileptičnih pasa po skupini. Značajne razlike u vrijednostima prije i nakon tretmana su naznačene zvjezdicom ( $P < 0.05$ ). Usporedba tretiranih skupina provedena Fischer-ovim egzaktnim testom nije pokazala nikakve značajne razlike između antiepileptičnog učinka dva lijeka.

|                                      | Fenobarbital/Primidon AWD 131-138 |                 |                   | Fenobarbital/Primidon kalijev bromid |                 |                   |
|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------------|-------------------|--------------------------------------|-----------------|-------------------|
|                                      | n                                 | Prije liječenja | Tijekom liječenja | n                                    | Prije liječenja | Tijekom liječenja |
| Učestalost napadaja (napadaj/mjesec) |                                   |                 |                   |                                      |                 |                   |
| svi psi                              | 17                                | 1.9             | 2.0               | 12                                   | 3.0             | 1.9               |
| bez nonresponders                    | 10                                | 2.4             | 1.1*              | 7                                    | 3.0             | 0.8*              |
| % smanjenja kod respondera           | 10                                |                 | 47.2 $\pm$ 8.8    | 7                                    |                 | 59.7 $\pm$ 5.9    |

|                                      |  |  |           |  |  |            |
|--------------------------------------|--|--|-----------|--|--|------------|
| Broj pasa s >50% smanjenjem napadaja |  |  | 6/17(35%) |  |  | 5/12 (42%) |
| broj pasa bez napadaja               |  |  | 1/17(6%)  |  |  | 0/12       |
| Broj nonresponders                   |  |  | 6/17(35%) |  |  | 5/12 (42%) |

## 2.2. Trajanje i težina aktivnosti napadaja

### 2.2.1. pilot studija: AWD 131-138 liječenje

#### 2.2.1.1. tek dijagnosticirani psi

U ovoj skupini pasa trajanje iktusa koji prethodi izlaganju varirala je od pola minute do deset minuta (medijan 3 minute) (tablica 9.). Prosječno vrijeme je kod većine pacijenata bilo između dvije i tri minute. Tijekom monoterapije AWD 131-138 trajanje iktusa je bilo također između pola i deset minuta ali s vrijednošću medijana od 2.5 minute. U pet je slučajeva trajanje iktusa smanjeno između 12 i 50% (prosječno 38%).

Postiktalna faza s promjenama ponašanja je opažena kod svih dvanaest pasa prije izlaganja i kretala se u rasponu od 10 minuta do 24 sata. U četiri je psa postiktalno vrijeme skraćeno za 50 do 75%.

Smanjenje je težine napadaja opisano subjektivno od strane devet od dvanaest vlasnika pasa. Prije izlaganja su svi psi imali grand mal napadaje (tablica 2), koji su se kod pet pasa proširili na klusterske. Tijekom liječenja AWD 131-138 samo su dva psa razvila fokalne napadaje. Jedan pas nikad nije dobio klusterske napadaje, a druga četiri psa su snizila broj napadaja po klusteru (prosječno 45.3% smanjenja).

#### 2.2.1.2. Psi s kroničnom epilepsijom i nadodanim tretmanom s AWD 131-138

Trajanje grand mal napadaja kod sedamnaest pasa tijekom uobičajene monoterapije s fenobarbitalom ili primidonom se kretalo u rasponu od 30 sekundi do 10 minuta (medijan 2.0 minute) (tablica 9). Nakon dodavanja AWD 131-138 trajanje napadaja je lagano smanjeno od 30 sekundi do 5 minuta s medijanom od 2.0 minute. Vrijeme trajanja iktusa je smanjeno u 3 psa od 40 do 50%.

Postiktalna je faza s promjenama ponašanja opažena kod svih pasa prije izlaganja i kretala se u rasponu između 20 minuta i 48 sati (prosječno 8.5 sati). Tijekom tretmana AWD-om 131-138 raspon tih vremenskih vrijednosti je bio između 10 minuta i 24 sata (prosječno 5.5 sati) s obzirom da je kod deset pasa smanjeno za 30 do 75% (prosječno 54%).

Kod osam od sedamnaest pasa su vlasnici pasa subjektivno opisali smanjenje težine napadaja. Svih sedamnaest pasa je prije tretmana s AWD 131-138 imalo teške napadaje, koji su se proširili na klusterske kod petnaest pasa i/ili u status epilepticus kod 8 pasa (tablica 2). Nakon dodatne primjene AWD 131-138 kod devet su pasa fokalni napadaji djelomično zamijenili grand mal napadaje. Kod tri se psa klusteri nisu više pojavili i broj napadaja po klusteru se smanjio kod dodatna 4 slučaja od 21 do 64% (prosječno 39,5%). Jedan je vlasnik prijavio pogoršanje težine napadaja i trenutno prekinuo primjenu AWD 131-138 nakon dva mjeseca liječenja bez drugih nuspojava kod psa. Kod drugog je psa unošenje AWD smanjeno postupno na vlasnikov zahtjev nakon 4 mjeseca primjene bez komplikacija.

### 2.2.2. retrospektivna studija, uobičajeno liječenje

#### 2.2.2.1. tek dijagnosticirani psi, monoterapija fenobarbitalom

Trajanje je iktusa prije tretmana variralo od 0.5 do 10 minuta (medijan 4.0 minuta) (tablica 9). Prosječno je vrijeme u većine slučajeva bilo 2 do 3 minute. Tijekom primjene fenobarbitala trajanje je glavnih napadaja također variralo od 0.5 minuta do 10 minuta ali s vrijednosti medijana od 5.0 minuta. Samo je kod 4 psa, koji se nisu oslobodili napadaja, pojavilo se skraćivanje primjećeno iktusa od 33 do 50%.

Postiktalna je faza s promjenama ponašanja opažena kod 39 pasa prije liječenja i kretala se u vrijednostima između deset minuta i dvadeset i četiri sata (prosječno 3.5 sati). Tijekom primjene fenobarbitala, postiktalna se faza smanjila na 5 minuta do 24 sata (prosječno 3 sata). Ovaj put je vremenski period skraćen kod 8 pasa od 30 do 65% (prosječno 43%).

U 24 slučaja, koji nisu postali bez napadaja, vlasnik je prijavio subjektivno smanjenje težine napadaja. Prije izlaganja 40 je pasa imalo grand mal napadaje, koji su se kod deset slučajeva proširili u klustere, kod četiri psa u status epilepticus (tablica 3). Tijekom liječenja fenobarbitalom kod 6 su pasa, od strane vlasnika, primjećeni fokalni napadaji umjesto grand mal napadaja. Kod 3 od deset pasa je zaustavljeno razvijanje klustera. Kod 3 od 4 psa status epilepticus se više nije pojavljivao. Prema podacima vlasnika, kod 11 je pasa aktivnost teških napadaja ostala nepromijenjena ili se težina napadaja povećala.

#### 2.2.2.2. tek dijagnosticirani psi, primidonska monoterapija

Kod ovih dvadeset i šest je pasa iktus prije izlaganja bio u rasponu od 0.5 do 10 minuta (medijan vrijednost 1.6 minuta) (tablica 9). U većine je slučajeva prosječno vrijeme bilo 2 do 3 minute. Tijekom terapije primidonom je trajanje iktusa variralo od 0.5 minuta do 10 minuta (medijan vrijednost 1.0 minuta) i smanjeno samo kod 2 psa (30%).

- 5 Postiktalni su znaci bili primijećeni kod dvadeset i dva psa prije izlaganja a raspon u kojem se kreću vrijednosti je bio između 15 minuta i 48 sati (prosječno 5 sati). Tijekom primjene primidona postiktalna je faza trajala od 10 minuta do 48 sati (prosječno 4.5 sati). Trajanje postiktalne faze je bilo skraćeno kod 5 pasa od 25 do 65% (prosječno 40%).

- 10 Kod deset od 22 slučajeva, koji nisu postali bez napadaja, vlasnik je subjektivno prijavio smanjenje težine napadaja. Prije liječenja 25 je pasa imalo grand mal napadaje, koji su se proširili kod devet slučajeva u klustere, kod tri psa u status epilepticus (tablica 3). Tijekom primjene primidona kod 2 psa su, od strane vlasnika, primijećeni fokalni napadaji umjesto grand mal napadaja. Kod 5 od deset pasa je smanjena učestalost napadaja po klusteru između 23 i 50% (prosječno 37.5%). Status epilepticus nije više primijećen kod sva 3 psa. Kod 2 psa se težina napadaja povećala prema podacima vlasnika.

15

### 2.2.2.3. psi s kroničnom epilepsijom i dodatnim tretmanom kalijevim bromidom

- 20 Kod dvanaest pasa tretiranih monoterapijom fenobarbitalom ili primidonom trajanje iktusa je variralo od 1.0 minute do 13 minuta (medijan 3.0 minute) (tablica 9). Prosječno vrijeme u većini slučajeva je bilo od 1 do 3 minute. Nakon dodavanja kalijeva bromida trajanje je iktusa variralo od 1.0 minuta do 10 minuta (medijan 2.0 minute). Trajanje se iktusa smanjenilo kod 3 psa od 40 do 50%.

- 25 Postiktalni znaci su primijećeni kod jedanaest pasa prije izlaganja i trajali su u rasponu između pola sata i 24 sata (prosječno 6.0 sati). Tijekom kombinirane terapije s kalijevim bromidom postiktalna je faza varirala od 15 minuta do 24 sata (prosječno 5.5 sati). Trajanje postiktalne faze je skraćeno kod dva psa (50 i 75%).

- 30 Kod 4 od dvanaest slučajeva vlasnik je subjektivno prijavio smanjenje težine napadaja. Prije kombinirane terapije svih je dvanaest pasa imalo grand mal napadaje koji su se razvili u status epilepticus kod šest pasa i kod sedam pasa u klustere, koji se nisu pojavili više nakon dodavanja kalijeva bromida kod 6 pasa. Kod jednog je psa vlasnik primjetio povećanje težine napadaja.

**Tablica 9. Trajanje iktusa tijekom aktivnosti grand mal napadaja prije i tijekom različitih antikonvulzivnih metoda liječenja**

| tretman                                                            | trajanje prije tretmana                | trajanje tijekom tretmana              |
|--------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| monoterapija<br>AWD 131-138 (n=12)                                 | 3.0 <sup>1</sup> (0.5-10) <sup>2</sup> | 2.5 <sup>1</sup> (0.5-10) <sup>2</sup> |
| dodatna terapija<br>fenobarbital ili primidon i AWD 131-138 (n=17) | 2.0 <sup>1</sup> (0.5-10) <sup>2</sup> | 2.0 <sup>1</sup> (0.5-5) <sup>2</sup>  |
| monoterapija<br>fenobarbital (n=44)                                | 4.0 <sup>1</sup> (0.5-10) <sup>2</sup> | 5.0 <sup>1</sup> (0.5-10) <sup>2</sup> |
| monoterapija<br>primidon (n=26)                                    | 1.5 <sup>1</sup> (0.5-10) <sup>2</sup> | 1.0 <sup>1</sup> (0.5-10) <sup>2</sup> |
| dodatna terapija<br>fenobarbital ili primidon i AWD 131-138 (n=12) | 3.0 <sup>1</sup> (1-13) <sup>2</sup>   | 2.0 <sup>1</sup> (1-10) <sup>2</sup>   |

35

Legenda: n = broj pasa; vrijednosti medijana<sup>1</sup> i vremenski raspon<sup>2</sup> izražen u minutama

### 2.3. Koncentracije AWD 131-138 u plazmi

- 40 Kod šest pasa koji su ulazili u pilot studiju s AWD 131-138 izvedena je farmakokinetička studija. AWD 131-138 je mjereno u uzorcima plazme dva, četiri i šest sati nakon unošenja. Rezultati su sakupljeni u tablici 10. Inicijalna doza AWD 131-138 je bila 5 mg/kg tjelesne težine primijenjeno oralnim putem u svakom od slučajeva.

Tablica 10. Koncentracije AWD 131-138 u plazmi ng/mL

| vrijeme nakon unošenja                        | 2 sata | 4 sata | 6 sati |
|-----------------------------------------------|--------|--------|--------|
| AWD 131-138 monoterapija                      |        |        |        |
| pas 1                                         | 720.0  | 702.7  | 229.5  |
| pas 2                                         | 2579.2 | 1461.0 | 709.0  |
| AWD 131-138 fenobarbital kombinirana terapija |        |        |        |
| pas 1                                         | 23.27  | igd    | igd    |

|                                               |        |        |        |
|-----------------------------------------------|--------|--------|--------|
| pas 2                                         | 1019.5 | 173.8  | 19.5   |
| AWD 131-138 fenobarbital kombinirana terapija |        |        |        |
| pas 1                                         | 1520.5 | 1021.5 | 448.1  |
| pas 2                                         | 2392.3 | 2438.7 | 1289.0 |

Legenda: AWD 131-138: igd (ispod granica detekcije): < 2 ng/ml

### 2.3.1. Koncentracije AWD 131-138 u plazmi kod tek dijagnosticiranih pasa

Da bi se kontrolirala spremnost na suradnju vlasnika, koncentracije AWD 131-138 u plazmi su mjerene prvi put tri tjedna nakon početka tretmana 2 i 12 sati nakon primjene. Koncentracije su se, kod jedanaest slučajeva 2 sata nakon oralne primjene, kretale u rasponu između 53.28 i 8619.4 ng/mL (medijan 2585.0, prosjek i standardna devijacija 3356.3 3290.3 ng/mL) (slika 1 i 2). Doza AWD 131-138 je varirala između 10 mg/kg tjelesne težine kod osam pasa, 15 mg/kg tjelesne težine kod dva psa i 20 mg/kg tjelesne težine dva puta na dan kod jednog psa. Koncentracije u plazmi su se, 12 sati nakon unošenja, kretale kod svih dvanaest pasa u rasponu između 5.4 i 1139.2 ng/mL (medijan 218.1, prosjek i standardna devijacija 377.5 406.0 ng/mL) (slika 1). Daljnja su se kontrolna ispitivanja provodila u različitim trenucima kod svakog psa. Koncentracije su plazme varirale između 53.28 i 10 737.41 ng/mL dva sata nakon oralnog unošenja (slika 1 i 3). Nije opažena korelacija između koncentracije plazme i učestalosti napadaja (slika 2 i 3).

### 2.3.2. koncentracija AWD 131-138 u plazmi kod pasa s kroničnom epilepsijom

Koncentracija u plazmi se, kod sedamanest pasa s kroničnom epilepsijom i dodatnim tretmanom, kretala u rasponu između 279.6 do 10613.7 ng/mL (medijan 2992.4, prosjek i standardno devijacija 3896.1. 3339.2 ng/mL) 2 sata nakon primjene (slika 2). Doziranje AWD 131-138 je variralo između 10 mg/kg tjelesne težine kod petnaest pasa i 15 mg/kg tjelesne težine kod dva psa dva puta dnevno. Koncentracija u plazmi 12 sati nakon primjene se kretala u rasponu od 7.57 i 5873.04 ng/mL (medijan 179.3, prosjek 644.0). Daljnja su kontrolna ispitivanja bila također provedena u ovoj grupi u različitim trenucima. Koncentracije u plazmi su varirale između 156.46 i 26 710.58 ng/mL dva sata nakon oralne primjene (slika 1). Ipak, terapijski raspon AWD 131-138 nije poznat do ovog trenutka. Nije opažena korelacija između plazmene koncentracije i učestalosti napadaja (slika 2 i 3).

### 2.4.1 Evaluacija upitnika: primjena AWD 131-138 kod 12 pasa s tek dijagnosticiranom idiopatskom epilepsijom

Liječenje pasa AWD-om 131-138 je bilo posebno dobro podneseno. Psi su ostali živahni, nije se pojavila nikakva uspavanost. Doista, primjećeno je da su psi bili čak i živahniji i otvoreniji. Ova lagana promjena u ponašanju je naročito primjećena kod pasa za koje je bilo poznato da pokazuju anksiozno ponašanje. Glavna nuspojava kod dvanaest pasa tretiranih AWD-om 131-138, opažena od vlasnika, je polifagija koja se pojavila kod 7 (58%) slučajeva, kod 4 psa samo na početku studije. Nisu zamjećene neke druge nuspojave.

### 2.4.1 Evaluacija upitnika: primjena AWD 131-138 kod 17 pasa s kroničnom epilepsijom

I kod ovih je pasa tretman AWD-om 131-138 bio vrlo dobro podnesen. Glavna nuspojava kod sedamanest pasa tretiranih uobičajenim antiepileptičkim lijekovima kojima je nadodan AWD 131-138, opažena od vlasnika, bila je polifagija koja se pojavila kod 10 (59%) slučajeva, kod 7 pasa samo na početku studije. Dva psa s kombiniranim liječenjem fenobarbitalom i visokom razinom koncentracije fenobarbitala u serumu (56,6 - 58,9 µg/mL) su pokazali ataksiju u stražnjim udovima i apatiju 2-4 sata nakon primjene AWD 131-138 s dnevnim dozama 40 mg/kg AWD 131-138 tjelesne težine i koncentracijom u plazmi od 5563,26 to 10858,45 ng/mL 2 sata nakon primjene. Kod jednog je od pasa opaženo pojačano žvakanje nakon AWD-primjene. Nisu opažene nikakve daljnje nuspojave.

### 2.4.3 Dodatak: Primjena AWD 131-138 u 12 pasa s tek dijagnosticiranom idiopatskom epilepsijom

Tijekom regularnih dodatnih ispitivanja su klinička i neurološka ispitivanja ostala normalna. Jedan je pas primio od upućenog veterinara enrofloxacin zbog trbušne infekcije i počeo je s napadajima nakon 24 sata. Nakon uklanjanja ovog lijeka nisu opaženi daljnji napadaji. Nisu pronađene nikakve abnormalnosti u hematologiji (prebrojavanje crvenih i bijelih krvnih zrnaca te diferencijalna krvna slika) i u kemiji krvi.

### 2.4.4. Dodatak: Primjena AWD 131-138 kod 17 pasa s kroničnom epilepsijom

Tijekom regularnih dodatnih ispitivanja su klinička i neurološka ispitivanja ostala normalna kod 15 pasa. Kod dva je psa s kombiniranom fenobarbitalnom terapijom opažena već od vlasnika, i kasnije potvrđena, ataksija. Dva su psa imala lagane proprioceptivne nedostatke u sve 4 noge, ali samo 2-4 sata nakon primjene AWD 131-138. Nakon tog vremenskog perioda su ti psi bili klinički normalni. Jedan je pas primio penicilin-streptomycin od upućenog veterinara zbog upale pluća i postao je apatičan nakon unošenja lijekova. Uklanjanje dodatnih lijekova je rezultiralo trenutnim poboljšanjem.

Nisu pronađene nikakve abnormalnosti u hematologiji (prebrojavanje crvenih i bijelih krvnih zrnaca te diferencijalna krvna slika). Kemija krvi je pokazala abnormalnosti već na početku studije i tijekom dodatnog tretmana. Povećanje razine AP se pojavilo kod 6 pasa, ALT kod jednog psa i GLDH kod 3 pasa. Svi su drugi parametri ostali u normalnom rasponu vrijednosti.

5

### 3. Rasprava

AWD 131-138, novi antiepileptički i anksiolitički lijek, je bio evaluiran u ovoj kliničkoj pilot studiji kod pasa s tek utvrđenom ili kroničnom idiopatskom epilepsijom da se ispita antikonvulzantna učinkovitost ove tvari. Slično kao i kod ljudske epilepsije, životinje mogu biti razvrstane na pse s farmakorezistentnim napadajima i na pse s farmakosenzitivnim napadajima (LÖSCHER, 1997).

U predstavljenoj su studiji sakupljeni podaci od pasa tretiranih s AWD 131-138 uspoređeni s podacima od pasa koji su liječeni uobičajenim antiepilepticima. Da bi ušli u studiju, psi su morali zadovoljiti dva glavna kriterija: normalna klinička i neurološka ispitivanja, bez abnormalnosti u posebnim ispitivanjima i s dva ili više napadaja prije početka tretmana. Kod pasa s kroničnom epilepsijom su koncentracije fenobarbitala u serumu morale biti u terapijskim granicama. Da bi se dobio široki spektar epileptičnih pasa, životinje nisu bile selektirane s obzirom na vrstu, starost, vrstu i učestalost napadaja. Zbog toga su bile uključene različite vrste, čak i miješane vrste pasa. Ipak, velike su vrste pasa poput njemačkog ovčara ili retrivera bile zastupljene u glavini zbog dobro poznate činjenice da su velike vrste pasa (>15kg) sklonije idiopatskoj epilepsiji od malih vrsta pasa (PODELL et al. 1995).

Većina pasa uključenih u ovu studiju – tretman s AWD 131-138 kao i također retrospektivnu evaluaciju uobičajenog liječenja – je prvi napadaj imala između prve i treće godine života. Nekoliko je autora opisalo da idiopatska epilepsija počinje u tom životnom razdoblju (OLIVER 1987, OLIVER and LORENZ 1993, CHRISMAN 1991, DE LAHUNTA 1983, MARTINEK et al. 1970, CROFT 1965 and 1971, CENTER 1986, CUNNINGHAM 1971, SCHWARTZ-PORSCHKE 1984 and FORRESTER et al. 1989). U predstavljenoj studiji su napadaji kod dijela pasa počeli kada su bili mladi ili stariji od 1 do 3 godine. Kod gotovo svih je grupa jedan stari pas ušao u studiju s kliničkom idiopatskom epilepsijom i normalnim kliničkim i posebnim ispitivanjima. Iako dijagnoza može biti upitna zbog starosti, ovi su psi ispunili uvjete za ovu studiju i dodali su informacije za široke aspekte kliničke pilot studije.

Da bi se dobila informacija o idealnoj dozi AWD 131-138 kod pseće idiopatske epilepsije koja se prirodno pojavljuje, svi su psi počeli s dozom 5 mg/kg tjelesne težine primjenjenom oralnim putem dva puta dnevno tijekom jednog tjedna. Ova se doza udvostručila kod svih pasa nakon drugog tjedna. Kod životinja koje nisu odgovorile doziranje se povećalo na 30 mg/kg tjelesne težine primjenjeno oralnim putem dva puta dnevno. U pojedinačnim slučajevima s brzim povećanjem doze nisu primjećeni nikakve nuspojave i izgleda moguće da visoke doze mogu biti upotrijebljene već na početku tretmana. Različite doze, ovisno prema odgovoru na tretman, su korištene i kod liječenja uobičajenim lijekovima. Zbog toga su različiti rasporedi tretmana usporedivi.

Koncentracije AWD 131-138 u plazmi su bile mjerene zbog dva razloga: da bi se kontrolirali farmakokinetici nakon jedne oralno primjenjene doze nove tvari kod pasa i da bi se kontrolirao stupanj suradnje vlasnika tijekom studije. Farmakokinetici su otkrili velike razlike u plazmenoj koncentraciji, vjerojatno uzrokovane različitim rasporedom tvari u različitim tkivima. Ista različitost u plazmenoj koncentraciji se pojavila nakon tri tjedna uporabe AWD 131-138 i pri različitim trenucima. Zanimljivo je otkriće da su kod pasa s kroničnom epilepsijom i tretmanom fenobarbitalom nadopunjenim s AWD 131-138 pronađene najniže vrijednosti. Daljnje bi se studije trebale provesti da se procijeni da li postoji izvjesna interakcija između fenobarbitala i AWD 131-138 koja vodi do niskih vrijednosti koncentracija u plazmi. Koncentracija u plazmi nije korelirala s učestalošću pojavljivanja napadaja. Ipak, kod pasa sa sporim povećanjem doze AWD-a 131-138 se smanjenje napadaja pojavilo samo s izvjesnim vremenskim odstupanjem. S obzirom da nisu primjećene nikakve nuspojave, moguće je upotrijebiti agresivniji raspored tretmana u budućim eksperimentima čime bi se povećala učinkovitost kod pasa s idiopatskom epilepsijom.

Smanjenje učestalosti napadaja korištenjem AWD 131-138 kod pasa s tek utvrđenom idiopatskom epilepsijom je bilo usporedivo sa smanjenjem kod pasa tretiranih fenobarbitalom ili primidonom. Rezultati predstavljene retrospektivne evaluacije tretmana fenobarbitalom i primidonom se slažu s prethodno opisanim studijama (SCHWARTZ-PORSCHKE et al. 1985). Tri tretirane skupine nisu pokazale nikakve važne razlike između antiepileptičke učinkovitosti ova tri lijeka. Računanje smanjenja učestalosti napadaja, kada se isključilo pse koji nisu odgovorili na tretman, je otkrilo, kod sve tri skupine, značajne razlike u vrijednostima prije i tijekom tretmana. Kod skupina tretiranih s AWD 131-138 potpuni postotak smanjenja napadaja je bio nešto niži nego kod drugih skupina. Ipak, broj pacijenata u prospektivnoj skupini pilot studije je bio nešto niži nego kod retrospektivnih studija pa je i to moglo utjecati na krajnji rezultat. Više doze AWD 131-138 na početku tretmana mogu još poboljšati antikonvulzijski učinak nove tvari.

Kod pasa s kroničnom epilepsijom i dodatnom terapijom s dodatkom bilo AWD 131-138 ili kalijeva bromida davanje druge tvari je imalo utjecaja na učestalost napadaja. Stupanj poboljšanja kod pasa je bio sličan kod obje skupine. Računanje smanjenja učestalosti napadaja, kada se isključilo pse koji nisu odgovorili na tretman, je otkrilo, kod sve tri skupine, značajne razlike u vrijednostima prije i tijekom tretmana. Kao što je i očekivano, postotak pasa koji nisu odgovorili na liječenje je bio viši nego kod pasa s tek utvrđenom epilepsijom.

Uz smanjenje učestalosti napadaja, trajanje i težina napadaja prije i tijekom tretmana su se također ocjenjivali. Tijekom liječenja AWD 131-138 iktus grand mal napadaja se smanjio u više od 1/3 slučajeva. Ovaj se fenomen rijetko pojavio kod pasa liječenih fenobarbitalom (otprilike 1/10 pasa). Nasuprotno tome, kod fenobarbitalom liječenih pasa vrijednosti medijana trajanja iktusa su se povećavale tijekom liječenja. Ipak, postiktalna se faza skratila kod svih ispitivanih skupina. Uz skraćivanje trajanja iktusa i postiktalne faze, tijekom tretmana AWD 131-138 se smanjila i težina pojedinih napadaja. Grand mal napadaji su se promijenili u fokalne napadaje, izostala je pojava klustera ili se smanjio broj klustera po pojedinačnim napadajima. Većina vlasnika je subjektivno opisala smanjenje težine napadaja.

Najizraženija razlika između tretmana AWD 131-138 i uobičajenog liječenja se pojavila prilikom evaluacije nuspojava. Neželjene nuspojave su rijetko zabilježene i uključivale su polifagiju na početku tretmana i ataksiju kod dva psa s kombiniranim liječenjem fenobarbitalom i visokim koncentracijama fenobarbitala u serumu. Opisane ozbiljne nuspojave koje su prijavljene kod tretmana fenobarbitalom, poput polidipsije, polifagije, jake uspavanosti i abnormalnosti u hodu (BUNCH et al. 1982, SCHWARTZ-PORSCHKE et al. 1985), se nisu pojavile. Ataksija kod spomenutih pasa je vjerojatno prouzročena kombinacijom s fenobarbitalom. Nuspojave prilikom tretmana fenobarbitalom su za vlasnike ponekad neprihvatljive i liječenje je prekinuto. Korištenje AWD 131-138 je bilo vrlo dobro prihvaćeno od vlasnika, naročito jer psi nisu pokazali nikakve znakove uspavanosti. Čak štoviše, kod pasa koji su bili poznati po anksioznom ponašanju, primjećena su poboljšanja. Ovo može biti uzeto kao indikator anksiolitičke aktivnosti. Kronične primjene primidona i fenobarbitala mogu dovesti do značajnog porasta jetrenih enzima (ALT, GLDH i AP) (SCHWARTZ-PORSCHKE et al 1985), što nije primjećeno kod pasa tretiranih AWD 131-138 monoterapijom i to se smatra velikom prednošću za interpretaciju laboratorijskih rezultata koji bi se ticali nekih drugih bolesti osim epilepsije.

Sumarno, predstavljena pilot studija pokazuje po prvi put da nova tvar AWD 131-138 ima potencijalni antikonvulzijski učinak kod pasa s idiopatskom epilepsijom. AWD 131-138 je ekvipotentan konvencionalnim lijekovima poput primidona i fenobarbitala. Kronična je primjena dobro podnesena i, u usporedbi s tradicionalnim antiepileptičkim lijekovima, primjećeno je manje nuspojava. Ovi pozitivni rezultati podupiru razvijanje AWD 131-138 kao učinkovitog anti-epileptičkog lijeka za liječenje pasa. Neočekivano se vrlo nizak afinitet i djelomični agonistički učinak na benzodiazepinske receptore preveo u antikonvulzijsku aktivnost sa smanjenim potencijalom za nuspojave kod pacijenata. Daljnje buduće studije s većim brojem tretiranih životinja i višim dozama AWD 131-138 na početku tretmana će vjerojatno rezultirati u još boljem kliničkom učinku s popratnim nuspojavama koje će utjecati na ograničavanje doze. Nadalje, opažanja proizašla iz kliničkog profila ukazuju da lijek može imati dodatno anksiolitičko djelovanje kod pasa.

## Reference

- BARKER, J.(1973):  
Epilepsy in the dog-a comparative approach.  
J. Small Animal Pract. 14,281-289
- BERENDT, M. and L.E. GRAM (1999):  
Epilepsy and seizure classification in 63 dogs: a reappraisal of veterinary epilepsy terminology.  
J. Vet. Intern. Med; 13 (1): 14-20.
- BERNARDINI, M. and A. JAGGY (1998):  
Idiopathic epilepsy in dogs: A long-term Study of 125 cases. Clinical and electroencephalographic findings.  
J. Small Anim. Pract. 39 (1):23-9.
- Bialer M, Johannessen SI, Kupferberg HJ, Levy RH, Loiseau P, Perucca E. (1999):  
Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the fourth Eilat conference (EILAT IV).  
Epilepsy Res. 34: 1-41.
- BRAUND, K. G. (1986):  
Clinical syndromes in Veterinary Neurology  
Ed Baltimore, Williams and Wilkins 159-211
- BREITSCHWERDT, E. B., J. E. BREAZILE and I.J. BOADHORST (1979):  
Clinical and electroencephalographic findings associated with ten cases of suspected limbic epilepsy in the dog  
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 15,37-50

BUNCH, S. E., W.L. CASLEMAN, W.E HORNBuckle (1982):  
Hepatic cirrhosis associated with long-term anticonvulsant drug therapy in dogs.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 181,357-362

5 BUNCH, S. E. (1986):  
Anticonvulsant drug therapy in companion animals  
In: Kirk R. W. IX ed. Current Veterinary Therapy  
Philadelphia: WB Saunders, 836-844

10 BURNHAM, W. M. (1989):  
The GABA hypothesis of kindling: recent assay studies.  
Neurosci. Biobehav. Rev. 1989, 13; 281-288

15 BIELFELT, S. W., H. C. REDMAN, R. O. McCLELLAN (1971):  
Sire- and sex related differences in rates of epileptiform seizure in a purebred beagle dog colony.  
Am. J. Vet. Res. 32, 2039-2048

CENTER, S. A (1986):  
Seizure in the dog and cat Kal. Kan. Forum 5, 11-18

20 CHRISMAN, C. L.(1991):  
Seizures  
In: Problems in Small Animal Neurology  
2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 177-205

25 CROFT, P. G. (1965):  
Fits in dogs  
Vet. Rec. 1965,77,438-455

30 CROFT, P. G. (1971):  
Fits in the dog  
Vet. Rec. 1971,88, 118-120

35 CUNNINGHAM, J. G. (1971):  
Canine Seizure Disorders.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 158,589-597

40 CHRISMAN, C. L. (1991):  
Seizures  
In: Problems in Small Animal Neurology  
Lea & Febiger, Philadelphia, S. 177-205

45 DE LAHUNTA, A. (1983):  
Veterinary neuroanatomy and clinical neurology 2. Auflage  
W. B. Saunders Comp., Philadelphia, 326-343

DINGLEDDINE, R. (1990):  
Dual effect of glycine on NMDA-induced neurotoxicity in rat cortical cultures.  
J Neurosci. Dec;10(12):3970-6.

50 FARNBACH, G. C. (1984):  
Serum phenobarbital concentrations and efficiency of phenytoin,  
phenobarbital, and primidone in canine epilepsy.  
J Am Vet Med Assoc. 1984; 184 (9), 1117-20

55 FENNER, W.R. and J.A. HAAS (1989):  
Epilepsy resistance to anticonvulsant therapy  
Problems in Veterinary Medicine 4, 596-605

60 FORRESTER, S. D., D. M. BOOTHE and G. C. TROY (1989):  
Current concepts in the management of canine epilepsy  
Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 11, 811-820

- FREY, H.-H. (1986):  
Use of anticonvulsants in small animals  
Vet. Rec. 118, 484-486
- 5 FREY, H.-H. (1989):  
Anticonvulsant drugs used in the treatment of epilepsy.  
Problems Vet. Med. 1, 558-577
- 10 FREY, H.-H. and D. SCHWARTZ-PORSCHKE (1985):  
Pharmakologische Grundlagen der Behandlung der Epilepsie bei Hund und Katze  
Tierarztl. Prax. 13, 541-549
- 15 HEYNOLD, Y., D. FAISSLER, F. STEFFEN and A JAGGY (1997):  
Clinical, epidemiological and treatment results of idiopathic epilepsy in 54 labrador retrievers: a long term study.  
J. Small Animal. Pract. 38, 7-14
- 20 JAGGY, A, and F. STEFFEN (1995a):  
Epileptische Krampfanfälle beim Hund  
Teil I: Klassifikation, Symptomatik und Diagnose  
Prakt. Tierarzt, 2, 95-102
- 25 JAGGY, A, and F. STEFFEN (1995b):  
Epileptische Krampfanfälle beim Hund  
Teil II: Extrazerebrale Ursachen von Epileptischen Anfallen  
Prakt. Tierarzt, 3, 191-204
- 30 JAGGY, A, and F. STEFFEN (1995c):  
Epileptische Krampfanfälle beim Hund  
Teil III: Intrazerebrale Ursachen, idiopathische Epilepsie und Therapie Prakt. Tierarzt, 4, 304-314
- 35 JAGGY, A, and Y. HEYNOLD (1996):  
Idiopathic epilepsy in the dog  
Schweiz Arch Tierheilkd.; 138 (11) : 523-31.
- JAGGY, A and ATIPOLD (1999):  
Die neurologische Untersuchung beim Kleintier und beim Pferd.  
Opuscula Veterinaria, WAK Verlag, MOnchen.
- 40 JANZ, D. (1979):  
Epidemiologie und Klassifikation von Epilepsien und epileptischen Anfallen Akt. Neurol. 6, 189-196
- 45 KAY, W. J. (1989):  
What is epilepsy?  
Prob. Vet. Med. 1, 495-500
- 50 KERÄNEN, T. and P. RIEKKINGEN (1988):  
Severe Epilepsy: Diagnostic and Epidemiological Aspects  
Acta. Neurol. Scand. (Suppl. 117) 57, 7-14
- KNEBEL, N.G. and B. DONATH (unpublished, 1998):  
Details of the method and validation ASTA Medica AG, Biochemical Research.
- 55 LEVITSKI, R. E., L. A. TREPANIER (2000):  
Effect of timing of blood collection on serum phenobarbital concentrations in dogs with epilepsy.  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 15; 217(2): 200-4
- 60 LÖSCHER, W. (1984):  
Genetic animal models of epilepsy as a unique resource for the evaluation of anticonvulsant drugs. A review methods  
findings experiment.  
Clin. Pharmacol. 6, 531-547

LÖSCHER, W., D. SCHWARTZ-PORSCHKE, and H.-H. FREY (1985):

Evaluation of epileptic dogs as an animal model of human epilepsy. *Arzneimittelforschung*, 35, 82-87

LÖSCHER, W. (1986):

Experimental models for intractable epilepsy in nonprimate animal species *Intractable Epilepsy: Experimental and Clinical Aspects* 25-37

Eds: D. Schmidt and P. L. Morselli Raven press, New York

LÖSCHER, W. and D. SCHWARTZ-PORSCHKE (1986):

Low levels of  $\gamma$ -aminobutyric acid in cerebrospinal fluid of dogs with epilepsy. *J. Neurochem.* 46, 1322-1325

LÖSCHER, W. (1989):

GABA and the epilepsies: Experimental and clinical considerations

In: N. G. Bowery und G. Nistico (Hrsg.) G

ABA: Basic aspects and clinical applications

Pythagora Press, Rom, 260-300

LÖSCHER, W. (1993):

Basic aspects of epilepsy

*Current Opinion Neurol. Neurosurg.* 6, 223-232

LÖSCHER, W. (1994):

Neue Antiepileptika - ein Fortschritt für die Behandlung epileptischer Tiere? *Kleintierprax.* 39, 325-342

LÖSCHER, W. (1995):

Pharmakologie des Zentralen Nervensystems: Antiepileptika

In: Loscher, W., H., H., Frey:

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinarmedizin

Enke Verlag, Stuttgart, 177-181

LÖSCHER, W. (1997):

Animal models of intractable epilepsy *Prog.*

*Neurobiol.*, 53,239-258

Löschner W, Honack D, Scherkl R, Hashem A, Frey HH. (1990)

Pharmacokinetics, anticonvulsant efficacy and adverse effects of the beta-carboline abecarnil, a novel ligand for benzodiazepine receptors, after acute and chronic administration in dogs.

*J. Pharmacol. Exp. Ther.* 255:541-548.

MARTINEK, Z. and F. HORAK (1970):

Development of so called "genuine" epileptic seizures in dogs during emotional excitement

*Physiol. Bohemoslovca.* 19, 185-195

MCNAMARA, J.(1988):

Pursuit of the mechanisms of kindling trends

*Neuroscience*, 11, 33-36

MONTGOMERY, D.L. and A. C. LEE (1983):

Brain damage in the epileptic Beagle dog.

*Vet Pathol.* 20, 160-169

OLIVER, J. E.(1980):

Seizure disorders in companion animals.

*Compend. Contin Educ. Pract. Vet.* 1980,2: 77-85

OLIVER, J. E (1987):

Seizure disorders and narcolepsy

In: *Veterinary Neurology*, 2 nd ed. Philadelphia: WB Saunders 285-302

OLIVER, J. E. and M. D. LORENZ (1993):

Seizures and narcolepsy

In: *Handbook of Veterinary Neurology*, 2 nd ed. Philadelphia: WB Saunders 296-313

- OWENS, D.F. and A. R. KRIEGSTEIN (2001):  
Muturation of channels and receptors: consequences for excitability In: Brain Plasticity and Epilepsy  
Int. Rev. Of Neurobiol. Academic Press, Vol.45, 43-87
- 5 PALMER, A. C.(1970):  
Pathologic changes in the brain associated with fits in dogs.  
Veterinary Record, 1972,90, 167-173
- 10 PALMER, A. C. (1972):  
Pathological changes in the brain associated with fits in dogs  
Vet. Rec. 90, 167-173
- 15 PODELL, M. and W. R. FENNER (1993):  
Bromide therapy in refractory canine idiopathic epilepsy  
J. Vet. Int. Med. 7, 318-327
- 20 PODELL, M., W. R FENNER, u. J. D. POWERS, (1995):  
Seizure classification in dogs from nonreferral-based population  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 206, 1721-1728
- 25 Rostock, A; Tober, C.; Dost, R; Bartsch, R  
Anxiolytic effects without sedation and amnesia of AWD 131-138 in animals: A comparison with diazepam and  
buspirone  
Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol1998a; 357; Suppl. 4; R97  
Spring meeting of the German Society of Pharmacology and Toxicology,  
17.-19.3.1998,  
Mainz, Germany
- 30 Rostock, A; Tober, C.; Dost, R; Bartsch, R  
AWD 131-138 is a potential novel anxiolytic without sedation and amnesia: A comparison with diazepam and buspirone  
Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol1998b; 358; Suppl. 1; P35.162  
13th International Congress of Pharmacology, 26.-31.7.1998, Munich, Germany
- 35 Rostock, A.; Tober, C.; Dost, R.; Bartsch, R.  
AWD 131-138: Anxiolytic and anticonvulsant activities without side effects in animals  
Behavioural Pharmacology 1998c: 9; Suppl.1; S79  
7th International Meeting of the European Behavioural Pharmacology Society, 2.-6.9.1998,  
Brno, Czech Republic
- 40 Rostock, A; Tober, C.; Dost, R; Rundfeldt, C.; Bartsch, R; Egerland, U.; Stark, B.; Schupke, H.; Kronbach, T.; Lankau,  
H.-J.; Unverferth, K.; Engel, J.  
AWD 131-138. Drugs of the Future 1998d; 23(3): 253-255
- 45 Rundfeldt, C.; Sigel, E.; Egerland, U.  
First insights in the mode of action of AWD 131-138: Allosteric modulation of GABA-induced currents  
Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol1998a; 357; Suppl. 4; R98  
Spring meeting of the German Society of Pharmacology and Toxicology, 17.-19.3.1998,  
Mainz, Germany
- 50 SCHWARTZ-PORSCHKE, D., W. LOSCHER and H. H. FREY (1982):  
Treatment of canine epilepsy with primidone  
J. Am. Vet. Med. Assoc. 181,592-595
- 55 SCHWARTZ-PORSCHKE, D. (1984):  
Epilepsie-Diagnose, Differentialdiagnose und Therapie  
Kleintierprax., 29, 67-82
- 60 SCHWARTZ-PORSCHKE, D., LOSCHER, W. and H.-H. FREY (1985):  
Therapeutic efficacy of phenobarbital and primidone in canine epilepsy: a comparsion  
J. Vet. Pharmacol.-Ther., 8, 113-119

SCHWARTZ-PORSCHKE, D. and D. JÜRGENS (1991):

Wirksamkeit von Bromid bei den therapieresistenten Epilepsien des Hundes Tierärztl. Prax. 19, 395-401

SCHWARTZ-PORSCHKE, D. (1994):

Seizures

In: Braund KG ed. Clinical Syndromes in Veterinary Neurology

2 nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book, 1994 234-251

Sigel, E.; Baur, R.; Netzer, R.; Rundfeldt, C.

The antiepileptic drug AWD 131-138 stimulated different recombinant isoforms of the rat GABAA receptor through the benzodiazepine binding site. Neuroscience Letters 1998; 245: 85-88

Speciale J, Dayrell-Hart B, Steinberg SA. (1991):

Clinical evaluation of gamma-vinyl-gamma-aminobutyric acid for control of epilepsy in dogs.

J Am Vet Med Assoc.198: 995-1000.

SRENK, P., A. JAGGY, C. CAILLARD, A. BUSATO and P. HORIN (1994):

Genetische Grundlagen der Idiopathischen Epilepsie beim Golden Retriever Bern, Univ., Inst. f. Tierneurologie und Inst. f. Tierzucht u. Genetik, Diss.

THOMAS, W.B. (2000):

Idiopathic epilepsy in dogs.

Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract. 30, 183-206.

VAN DER VELDEN, N. A. (1968):

Fits in Tervuren sheepdogs: a presumed hereditary trait J. Small Anim. Pract. 9,63-70

WALLACE, M. E (1973):

Keeshonds

A genetic study of epilepsy and EEG reading

J Small Anim. Pract. 9, 63-70

Yasar, S.; Paronis, C.; Munzar, P.; Tober, C.; Bergman, J.

Evaluation of the antiepileptic drug AWD 131-138 for reinforcing and discriminative-stimulus effects

1st International Meeting of the Behavioural Pharmacology Society and European Behavioural Pharmacology Society, 1.-4.9.1999, Boston, USA

## PATENTNI ZAHTJEVI

1. Uporaba, **naznačena time**, da je uporaba 1-(4-klorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-ona ili njegove fiziološki prihvatljive soli kao aktivnog sastojka za proizvodnju lijeka za liječenje nenormalnosti ponašanja, koja je anksioznost, kod pasa.

2. Uporaba prema zahtjevu 1, **naznačena time**, da takvo liječenje dovodi do smanjenja rizika od nepoželjnih popratnih učinaka u ponašanju, kao što je uspavljivanje.

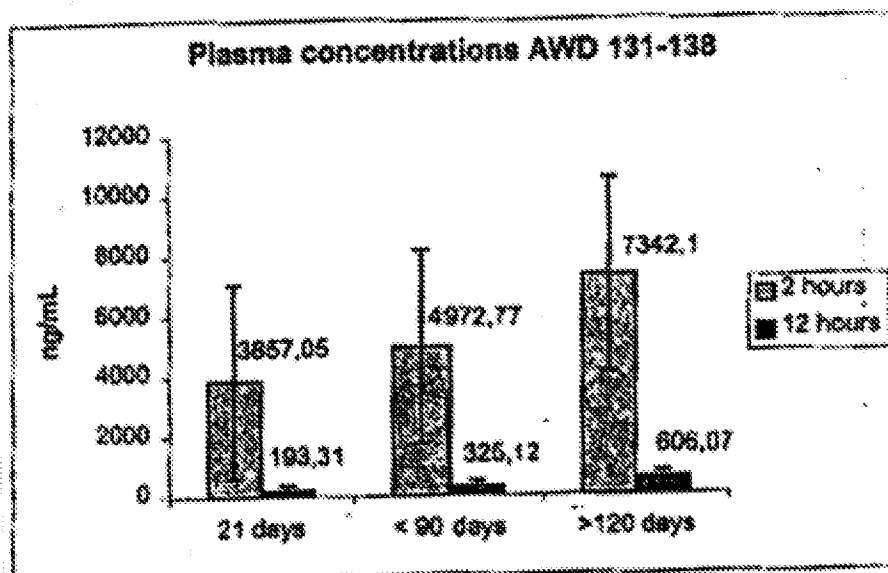
3. Uporaba prema bilo kojem zahtjevu 1 do 2, **naznačena time**, da je anksioznost ponašanje povezano sa strahom, kao što je neočekivana agresija prema ljudima ili okolini.

4. Uporaba prema bilo kojem zahtjevu 1 do 3, **naznačena time**, da je lijek za oralnu primjenu.

5. Uporaba prema bilo kojem zahtjevu od 1 do 4, **naznačena time**, da se lijek primjenjuje 1-5 puta dnevno, poželjno 1-3 puta dnevno.

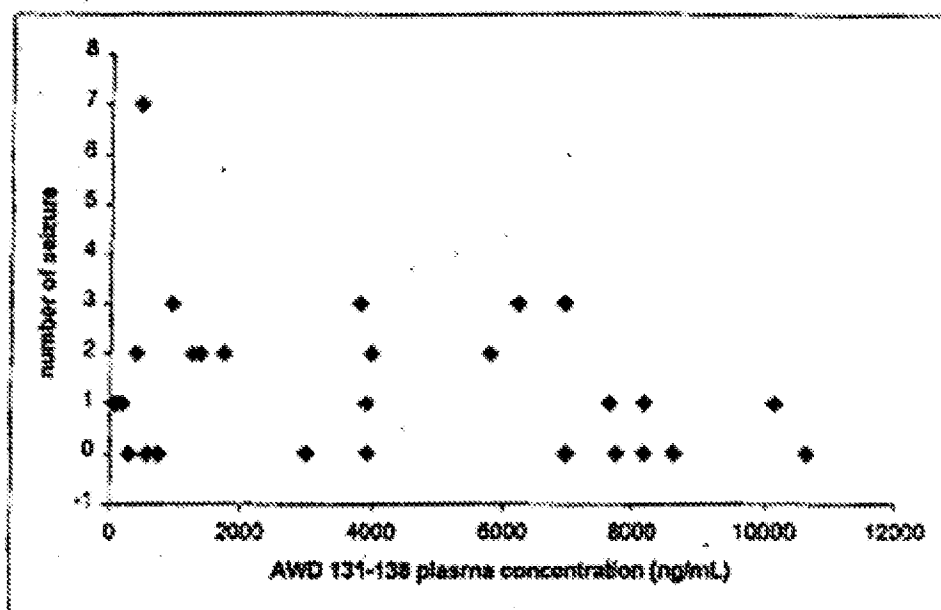
6. Uporaba prema bilo kojem zahtjevu 1 do 5, **naznačena time**, da se aktivna tvar istovremeno primjenjuje barem s još jednom aktivnom tvari.

Slika 1 pokazuje koncentracije AWD 131-138 u plazmi mjerene 2 i 12 sati nakon oralne primjene od 20-30 mg/kg AWD 131-138 (monoterapija)



Koncentracije plazme su dane kao vrijednost medijana i standardna devijacija. Mjerenje je počelo 21 dan nakon početka tretmana i provedeno je u različitim vremenskim trenucima tijekom trajanja liječenja (između 30 i 90 dana (< 90 dana) i > 120 dana)

Slika 2 pokazuje koncentracije AWD 131-138 u plazmi (ng/nL) i broj napadaja tijekom prvog mjeseca tretmana (2 h nakon primjene) kod pasa s tek dijagnosticiranom i kroničnom epilepsijom.



Slika 3 pokazuje koncentracije AWD 131-138 u plazmi (ng/mL, 2 h nakon primjene) i broj napadaja tijekom dodatnih ispitivanja kod pasa s tek utvrđenom idiopatskom epilepsijom.

