



Avaliação laboratorial e nível sérico do fenobarbital administrado por diferentes vias em cão

Laboratory Evaluation and Serum Level of Phenobarbital Administered by Different Pathways in Dogs

Gabriela Francisco Bittar¹, Gleice Laine de Souza¹, Gabriela Haro de Melo², Dayane Aparecida Francisco da Silva², José Sérgio Costa Júnior³, Rogério Giuffrida² & Rosa Maria Barilli Nogueira²

ABSTRACT

Background: Anticonvulsants are widely used in the treatment of small animals for the remission of isolated seizures and recurrent seizures in epilepsy, including tonic-clonic seizures and in status epilepticus. Phenobarbital is the drug of choice for the management of epileptic seizures, it is considered very effective, safe, low cost and with few side effects. Several routes of administration may be used, with the oral, intravenous and intramuscular routes being the most common, with rectal and nasal routes being the least common.

Materials, Methods & Results: Twenty mongrel dogs were used in the present study (aged 1 to 6-year-old, males and females, weighing 6.0 to 17.0 kg). The patients were previously evaluated via physical examination, temperature, respiratory and heart rate, laboratory tests (erythrogram and leukogram), and serum biochemistry by analyzing the serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (FA), and gamma-glutamyltransferase (GGT). Four experimental groups were established with five animals in each group: animals receiving intramuscular injections of phenobarbital (VIM), animals receiving nasal administration of phenobarbital (VN), animals receiving rectal administration of phenobarbital (VR), and animals receiving oral administration of phenobarbital (VO). Phenobarbital was administered every 12 h for 15 days. To determine the serum level of phenobarbital, 5 mL of jugular vein blood was collected in vacuum tubes for evaluation via hemogram. The serum level was determined after 15 days of continuous administration of phenobarbital, as stable phenobarbital serum levels can only be achieved from 10 to 15 days after the first administration. For the serum biochemistry evaluation, 10 mL of blood from the jugular vein was collected using vacuum syringes for assessing ALT, AST, GGT, and FA levels. Statistical analyses were performed with contrasted variation analysis using the Tukey method and paired t-test for comparison of time points. The level of significance was determined to be 5%. There was a significant difference ($P < 0.05$) among drug administration routes, and among the levels of AST and AF enzymes after the first administration of phenobarbital via the nasal and intramuscular routes. Based on the results, it was concluded that hepatic alterations secondary to the use of phenobarbital for 15 days may occur with a low incidence. The phenobarbital serum concentration in dogs varied when administered via nasal, rectal, and intramuscular routes, but was stable when administered orally.

Discussion: The current results are consistent with those of previous studies, indicating that the chronic use of phenobarbital causes an increase in the serum levels of ALT and FA enzymes. It was found that phenobarbital serum levels varied greatly, particularly following nasal, rectal, and intramuscular administration. In the present study, serum phenobarbital levels were within the normal range when administered via the intramuscular, nasal, rectal, and oral routes. This result is inconsistent with that of previous studies where the serum levels were below the normal range following oral administration of phenobarbital. The serum concentration, rather than clinical criteria, should be used as a guide for treatment modification, as the distribution of this drug varies greatly among animals.

Keywords: dog, serum level, liver changes, phenobarbital.

Descritores: cão, nível sérico, alterações hepáticas, fenobarbital.

<http://dx.doi.org/10.22456/1679-9216.84786>

Received: 20 March 2018

Accepted: 24 July 2018

Published: 18 September 2018

¹Graduação em Medicina Veterinária, ²Programa de Pós-graduação em Ciência Animal & ³Programa de Aprimoramento, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), Presidente Prudente, SP, Brazil. CORRESPONDENCE: D.A.F. Silva [dayanesilva@unoeste.br - Tel.: +55 (18) 3903 1758]. Rua Benedito Carlos de Toledo n. 111. Bairro Jardim Nova Planaltina. CEP 19045-470 Presidente Prudente, SP, Brazil.

INTRODUÇÃO

O fenobarbital é o medicamento mais utilizado por veterinários para o controle das convulsões em cães, apesar da introdução de novos anticonvulsivantes no mercado [2,13]. Para o controle das crises convulsivas, é recomendado a monoterapia, uma vez que reduz a probabilidade de ocorrerem efeitos adversos, ter menor custo e excluir o risco de interações farmacológicas [16].

O fenobarbital é de baixo custo, cerca de 60 a 80% dos cães podem ter as convulsões controladas eficientemente [2]. O uso crônico de fármacos antiepilépticos pode causar efeitos adversos, como hepatopatias, sendo necessário o acompanhamento periódico do paciente [16].

A dose do fenobarbital para cães é de 2 a 6 mg/kg duas vezes ao dia, e os efeitos colaterais são sedação, polifagia, polidipsia, poliúria, raramente anemia e hepatopatia [4].

Há divergências sobre a concentração sérica ideal. Segundo pesquisas realizadas, ela deve ser mantida entre 20 e 45 µg/mL [6]. Outros autores relatam que o ideal é mantê-la entre 20 e 40 µg/mL, sendo o nível inicial ótimo situado entre 20 e 25 µg/mL [13,14].

A hepatotoxicidade, aparentemente, só ocorre se a concentração sérica (15 - 45 µg/mL) for mantida acima do limite máximo por períodos prolongados. Desta forma, há melhor eficácia se o monitoramento sérico for utilizado como guia para ajustes na dose [6].

Há pouco relato na literatura sobre o uso do fenobarbital em vias alternativas e suas possíveis complicações. Este estudo teve como objetivo avaliar o nível sérico do fenobarbital administrado por diferentes vias e a bioquímica sérica (aspartato aminotransferase-AST, alanino aminotransferase-ALT, fosfatase alcalina-FA e gamaglutamil transferase-GGT) em cães.

MATERIAIS E MÉTODOS

Modelo experimental

O projeto foi realizado em um hospital veterinário de ensino superior localizado no interior do estado de São Paulo. Foram utilizados 20 cães, sem raça definida, adultos entre 1 e 6 anos de idade, machos e fêmeas, de 6,0 a 17,0 kg de peso vivo, provenientes do canil central da Universidade. O trabalho foi protocolado (nº 207) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da instituição de origem.

Os animais foram previamente avaliados por meio de exame físico [7] temperatura (°C), frequên-

cia respiratória (mpm), frequência cardíaca (bpm), exames laboratoriais [8] eritrograma¹, leucograma¹ e a bioquímica sérica² por meio da dosagem sérica das enzimas alanino aminostransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) e gamaglutamiltransferase (GGT) [9]. Foram excluídos do estudo, animais com alterações clínicas ou que não apresentaram resultados dentro dos intervalos considerados de referência para a espécie.

Os animais foram mantidos em baia coletiva no canil da universidade durante todo período experimental. Água e ração comercial seca (Vittamax Premium[®])³ foram fornecidas à vontade.

Foram constituídos quatro grupos experimentais com 5 animais em cada grupo totalizando 20 animais, sendo:

- Grupo VIM: animais receberam fenobarbital (Fenocris[®])⁴ intramuscular, na coxa do membro lateral esquerdo com agulha 25x7 (Injex[®])⁵ e seringa de 1mL (Injex[®])⁵, na dose de 6 mg/kg [11] de 12 em 12 h durante 15 dias;
- Grupo VN: animais receberam fenobarbital⁴ via nasal, com seringa⁵ descartável, na dose de 6 mg/kg de 12 em 12 h durante 15 dias;
- Grupo VR: animais receberam fenobarbital⁴ via retal, com seringa⁵ de 1 mL, na dose de 6 mg/kg de 12 em 12 h durante 15 dias;
- Grupo VO: animais receberam fenobarbital⁴ via oral, com auxílio de um alimento, na dose de 6 mg/kg de 12 em 12 h durante 15 dias.

Para determinação do nível sérico do fenobarbital foi colhido 5 mL de sangue da veia jugular em tubos a vácuo (BD Vacutainer[®])⁶ sem anticoagulante e separado o soro em centrífuga a 1569G⁷ no laboratório de patologia clínica do hospital veterinário. O soro (0,5 mL) foi armazenado em microtubos de plástico a 2°C e encaminhado ao laboratório Hermes Pardini (divisão veterinária) onde foi processado pelo método de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance).

O nível sérico foi determinado após 15 dias da administração contínua do fenobarbital, uma vez que o nível sérico estável do fármaco só é atingido de 10 a 15 dias após o início da administração, quando usado em dose terapêutica [5,7,12]. Para a bioquímica sérica foi coletado 10 mL de sangue da veia jugular com auxílio de tubos a vácuo⁶ sem anticoagulante para realização dos exames de ALT, AST, GGT e FA. Os materiais colhidos foram encaminhados ao laboratório de patologia clínica

do hospital veterinário da universidade de origem para processamento conforme normas do laboratório.

Análise estatística

Em cada momento e para cada grupo foram calculados a média e desvio-padrão das variáveis observadas. Preliminarmente, os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-wilk para validação do pressuposto de normalidade, pelo qual se constatou que possuíam distribuição paramétrica. Para determinar se os parâmetros diferiram entre grupos recorreu-se ao teste de análise de variância de uma via (ANOVA one-way) com contraste pelo método de *Tukey*. Para comparar os parâmetros entre momentos recorreu-se ao teste *T* pareado. Sendo adotado nível de 5% de significância [15].

RESULTADOS

A média de peso dos 20 cães (fêmeas e machos) foi de 10,66 ± 2,86 kg.

Os valores da bioquímica sérica de ALT, AST, GGT e FA mantiveram-se dentro dos valores de referência para a espécie nos diferentes momentos de avaliação.

Observou-se elevação ($P < 0,05$) nos valores de AST para o grupo VIM no T15 e para FA no grupo VR no T0 em relação aos demais grupos. Na comparação entre os momentos T0 e T15 observou-se diferença ($P < 0,05$) para AST e FA nos grupos VN e VIM e para ALT no grupo VR.

Um cão (20%) pertencente ao grupo VN e dois do grupo VR (40%) no T15, apresentaram valores de FA acima dos valores de normalidade para a espécie (Tabela 1).

Quanto ao nível sérico do fenobarbital, a média ficou abaixo do valor de referência para a espécie nos grupos VN, VIM e VR 15 dias após o início da administração do fenobarbital. Um cão (20%) de cada um destes grupos apresentaram os valores dentro da normalidade a espécie (Figura 1). Para os animais do grupo VO o nível sérico do fenobarbital ficou acima de 20 µg/mL, ou seja, dentro do valor de normalidade para a espécie canina.

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros bioquímicos (U/L) segundo as diferentes vias de administração do fenobarbital em cães nos tempos zero (T0) e 15 dias (T15).

Parâmetro	Tempo	VIM	VN	VR	VO
ALT	0	52,20 ± 26,31 ^{Aa}	40,20 ± 12,99 ^{Aa}	54,80 ± 25,83 ^{Aa}	36,40 ± 16,53 ^{Aa}
	15	50,80 ± 6,30 ^{Aa}	36,00 ± 9,62 ^{Aa}	37,00 ± 15,83 ^{Ab}	43,40 ± 27,81 ^{Aa}
AST	0	31,00 ± 3,87 ^{Aa}	35,40 ± 5,59 ^{Aa}	34,60 ± 4,88 ^{Aa}	34,00 ± 4,85 ^{Aa}
	15	51,00 ± 9,90 ^{Bb}	38,40 ± 4,72 ^{Ab}	35,60 ± 5,55 ^{Aa}	39,00 ± 4,47 ^{Aa}
FA	0	32,80 ± 11,88 ^{Aa}	39,20 ± 4,66 ^{Aa}	75,00 ± 14,16 ^{Ba}	45,20 ± 20,46 ^{Aa}
	15	65,20 ± 15,79 ^{Ab}	79,80 ± 29,05 ^{Ab}	100,80 ± 73,90 ^{Aa}	84,80 ± 71,91 ^{Aa}
GGT	0	4,00 ± 1,25 ^{Aa}	2,62 ± 0,23 ^{Aa}	4,96 ± 2,81 ^{Aa}	3,46 ± 1,47 ^{Aa}
	15	7,42 ± 5,08 ^{Aa}	8,18 ± 5,58 ^{Aa}	5,58 ± 2,65 ^{Aa}	2,42 ± 0,58 ^{Aa}

ALT: alanino-aminotransferase; AST: aspartato-aminotransferase; FA: fosfatase alcalina; GGT: gamaglutamil-transferase. Vias: VIM (intramuscular); VN (nasal); VR (retal); VO (oral). Valores de referência - ALT e AST:10,0-88,0; GGT: 1,0-11,0; FA: 12,0-110,0 [9]. Letras maiúsculas comparam grupos dentro de um mesmo momento. Letras minúsculas comparam momentos dentro de um mesmo grupo. Letras distintas $P < 0,05$.

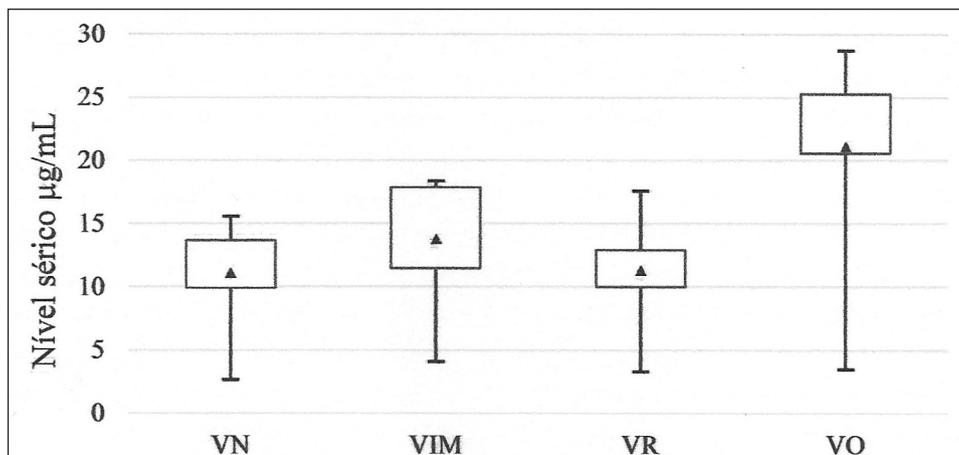


Figura 1. Box plot demonstrando valores médios do nível sérico do fenobarbital (µg/mL) de acordo com as diferentes vias de administração (VIM- intramuscular; VN- nasal; VR- retal e VO- oral). Valor de referência: 15 a 45 µg/mL [9].

DISCUSSÃO

Nos resultados do presente estudo, foi observado uma tendência a elevação nos valores de ALT e FA em alguns animais, corroborando outros estudos que relatam que o uso crônico do fenobarbital pode causar uma elevação nos níveis das enzimas ALT e principalmente da FA em decorrência da indução enzimática [16], sendo a FA a principal enzima a apresentar valores aumentados em pacientes tratados com fenobarbital [16,17].

Devido à meia vida longa do fenobarbital, são necessários 8 a 18 dias para alcançar nível sérico estável (entre 20 e 45 µg/mL) e para que isto ocorra em cães, o fenobarbital deve ser administrado de 12 em 12 h. Seu uso a longo prazo pode causar um aumento inespecífico da FA, ALT e GGT em 50% dos pacientes e este aumento pode não estar associado a lesões estruturais hepáticas. Lesão hepática grave em decorrência da terapia crônica é relatada em apenas 6 a 14,6% dos cães. Nestes casos além do aumento das enzimas, observa-se diminuição da albumina, ureia e colesterol [5].

Em cães tratados por longo período de tempo, foram realizadas monitoração terapêutica do fenobarbital e o estado de equilíbrio dinâmico foi observado na maioria dos animais com 15 dias após a primeira administração do fármaco via oral e em todos os animais após quatro semanas [3].

Um estudo relata a ocorrência de cirrose hepática secundária aos fármacos antiepiléticos (carbamazepina e fenobarbital) em cão, porém o tratamento deu-se em longo prazo e sem acompanhamento de um médico veterinário. Neste animal o nível sérico do fenobarbital foi de 81 µg/mL e após avaliação e ajuste de dose o mesmo demonstrou remissão dos sinais clínicos e melhor qualidade de vida [2].

Um trabalho realizado com 18 cães epiléticos tratados com fenobarbital via oral com dose média de 4,1 mg/kg, relatou que 44% (8 cães) apresentaram nível sérico abaixo do valor de referência para a espécie, com concentração sérica mínima de 12,55 µg/mL e a máxima de 18,3 µg/mL [1]. Neste atual estudo, foi constatado que para as diferentes vias de administração utilizadas o nível sérico se manteve dentro da normalidade em 100% dos animais que receberam a medicação pela via oral, não havendo variação da concentração sérica o que difere do estudo de Afonso *et al.* [1].

Neste estudo a mensuração do nível sérico de fenobarbital mostrou grande variação entre seus valores, principalmente quando usadas às vias nasal, retal e intramuscular, o que está de acordo com a literatura [6]. Segundo estes autores, a concentração sérica deve ser usada como guia para modificação do tratamento, ao invés do critério clínico, pois há grande variabilidade na distribuição deste fármaco entre os animais. No presente trabalho, a monitorização sérica detectou valores abaixo dos de referência em alguns animais quando usada as vias intramuscular, nasal e retal, enfatizando assim a importância desta monitoração para averiguar se o nível sérico está dentro do intervalo adequado, determinar resistência ao fármaco, individualizar a terapia e prevenir hepatotoxicidade [14]. Por meio dos dados apresentados no contemporâneo trabalho sugerem-se novas pesquisas que demonstrem o controle de epilepsia pelo fenobarbital quando administrado por diferentes vias em período maior de tempo. Sugere-se também a realização de estudo com um maior número de animais.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados conclui-se que alterações hepáticas secundárias ao uso de fenobarbital por 15 dias podem ocorrer, porém, com pequena incidência. A concentração sérica do fenobarbital para os cães deste estudo foi variável, quando administrado pelas vias nasal, retal e intramuscular e estável e dentro do valor de referência para a espécie quando administrado oralmente.

MANUFACTURERS

¹Systemex do Brasil Indústria e Comércio Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

²Roche Diagnóstica Brasil Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

³Matsuda. Alvares Machado, SP, Brazil.

⁴Laboratório Cristália. Itapira, SP, Brazil.

⁵Injex Indústrias Cirúrgicas Ltda. Ourinhos, SP, Brazil.

⁶Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas. Juiz de Fora, MG, Brazil.

⁷Fanem Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

Ethical approval. All procedures were approved by the Ethics Committee in Animal Experimentation at the Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE)-CEUA (protocol n. 207).

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content of the paper.

REFERENCES

- 1 Afonso E.L.B., Horta H.P., Logar M.A. & Arias M.V.B. 2003. Concentração sérica de fenobarbital em cães epiléticos recebendo este fármaco. In: *Anais do XXIV do Congresso Brasileiro da Anclivepa. XXIV Congresso Brasileiro da Anclivepa* (Belo Horizonte, Brasil). p.40.
- 2 Aiello G., Andrade A.O., Ripplinger A., Polidoro D., Chaves R.O., Ferreira P. & Mazzanti A. 2017. Aspectos terapêuticos de cães com diagnóstico presuntivo de epilepsia idiopática. *Acta Scientiae Veterinariae*. 45: 1453.
- 3 Amaral H.A. & Larsson M.H.M.A. 2006. Estudo da variação da concentração sérica do fenobarbital em cães cronicamente medicados. *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*. 43(4): 435-441.
- 4 Arias M.V.B & Pedro Neto O. 1999. The use of phenobarbital in the control of canine epilepsy. *Clínica Veterinária*. 23: 25-28.
- 5 Boothe D.M. 1998. Anticonvulsant therapy in small animals. *Veterinary Clinics of North América: Small Animal Practice*. 28(2): 411-448.
- 6 Chrisman C., Mariani C., Platt S. & Clemons R. 2005. *Neurologia para o Clínico de Pequenos Animais*. São Paulo: Roca, 336p.
- 7 Feitosa F. & Leydson F. 2008. Exame físico geral ou de rotina. In: Feitosa F. (Ed). *Semiologia Veterinária - A Arte do Diagnóstico*. 2.ed. São Paulo: Roca, pp.65-86.
- 8 Jain N.C. 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 417p.
- 9 Kaneko J.J., Harvey J.W. & Bruss M.L. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6th edn. San Diego: Academic Press, 928p.
- 10 Neto J.P.A. 2008. Anticonvulsivantes. In: Andrade S.F. (Ed). *Manual de Terapêutica Veterinária*. 3.ed. São Paulo: Roca, pp.476-479.
- 11 Pellegrino F. 2003. Epilepsia e Síndromes Epilépticas. In: Pellegrino F., Suranite A. & Garibaldi L. (Eds). *Síndromes Neurológicas em Cães e Gatos*. São Caetano do Sul: Interbook, pp.192-215.
- 12 Platt S.R. 2003. Appropriate anticonvulsant use. In: *Proceedings of the North American Veterinary Conference* (Orlando, USA). p.611.
- 13 Podell M. 1998. Antiepileptic drug therapy. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. 13(3): 185-192.
- 14 R development core team. 2017. R Foundation for Statistical Computing. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. [Accessed online in December 2017].
- 15 Thomas W.B & Dewey C.W. 2017. Epilepsia, crises epilépticas e narcolepsias. In: Dewey C.W. & Da Costa R.C. (Eds). *Neurologia canina e Felina - guia prático*. 3.ed. São Paulo: Guará, pp.249-268.
- 16 Tipold A., keefe T.J., Löscher W., Rundfeldt C. & Vries F. 2015. Clinical efficacy and safety of imepitoin in comparison with phenobarbital for the control of idiopathic epilepsy in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 38(2): 160-168.