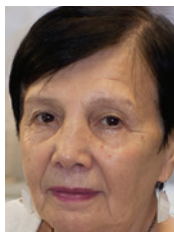


# Антиоксидантная активность фиксированной комбинации дорзоламида с тимололом в аспекте нейропротекции при глаукоме

Н. И. Нурышева<sup>1</sup>О. А. Азизова<sup>2</sup>А. П. Пирязев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Центр офтальмологии ФМБА России, <sup>2</sup> НИИ физико-химической медицины ФМБА России, Москва

## РЕЗЮМЕ

**Цель.** Изучить антиоксидантную активность (АОА) фиксированных комбинаций, содержащих ингибиторы карбоангидразы, применяемых для местного лечения глаукомы, и сравнить ее с АОА других фиксированных комбинаций.

**Методы.** В модельной системе (индуцированный окислительным стрессом гемолиз эритроцитов) исследована АОА следующих фиксированных комбинаций: дорзоламид/тимолол (Косопт), дорзоламид/тимолол (Dorzopt Plus), бринзоламид/тимолол, латанопрост/тимолол, биматопрол/тимолол, травопрост/тимолол и бримонидин/тимолол.

**Результаты.** Выявлено существенное преобладание АОА дорзоламид/тимолола (Косопт) по сравнению с другими фиксированными комбинациями. По мере увеличения объема препарата, добавляемого в модельную систему, его АОА повышалась и составила 40%, 52% и 75% при объемах в 30, 60 и 90 мкл, соответственно.

**Заключение.** Высокая АОА фиксированной комбинации дорзоламида с тимололом указывает на ее потенциальные преимущества в лечении глаукомы перед другими фиксированными комбинациями в связи с возможным нейропротекторным эффектом.

**Ключевые слова:** окислительный стресс, глаукома, фиксированные комбинации, ингибиторы карбоангидразы, дорзоламид, тимолол

## АБСТРАКТ

N. I. Kuryshева, O. A. Azizova, A. P. Piryazev

Antioxidant activity of dorzolamide/timolol fixed combination in neuroprotective therapy in glaucoma

**Purpose:** To study the antioxidant activity of carbonic anhydrase inhibitors and timolol fixed combinations and to compare it with other fixed combinations.

**Methods:** Antioxidant activity (AOA) of dorzolamide/timolol (Cosopt), dorzolamide/timolol (Dorzopt Plus), latanoprost/timolol, brimonidine/timolol, travoprost/timolol and bimatoprost/timolol fixed combinations was measured in vitro using the model of oxidative hemolysis.

**Results:** Dorzolamide/timolol (Cosopt) AOA was higher than that of other fixed combinations and increased with the quantity of the drugs added to the model system: 40%, 52% and 75% in 30 µl, 60 µl and 90 µl respectively.

**Conclusion:** These findings suggest that dorzolamide/timolol fixed combination has potential advantages over the other fixed combinations due to its high antioxidant activity and might be used as the neuroprotective agent for glaucoma treatment.

**Key words:** oxidative stress, glaucoma, fixed combinations, dorzolamide, timolol

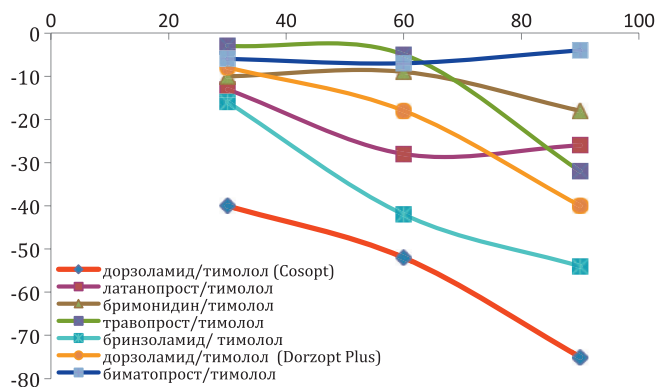
Офтальмология. — 2012. — Т. 9, № 4. — С. 47–51.

Поступила 03.11.12 Принята к печати 29.11.12

Окислительный стресс — ключевой механизм развития глаукомной оптиконеуропатии. Образование активных форм кислорода, или свободных радикалов, лежит в основе поражения как трабекулярного эндотелия, так и ганглиозных клеток сетчатки и их аксонов [5, 14]. При этом повреждаются ДНК митохондрий указанных структур [4]. Полагают, что одной из при-

чин избыточного образования свободных радикалов кислорода при глаукоме является рецидивирующая реперфузия в результате колебаний офтальмотонуса и/или перфузионного давления.

Снижение уровня образования свободных радикалов в тканях глаза, особенно в сетчатке, зрительном нерве и трабекулярном эндотелии, а также улуч-



**Рисунок 1.** Сравнительная характеристика антиоксидантной активности (АОА) фиксированных комбинаций для местного гипотензивного лечения глаукомы в зависимости от объема добавляемого в модельную систему препарата. Показано преобладание АОА дорзоламид/тимолола (Cosopt) по сравнению с АОА других фиксированных комбинаций. *Примечание: по оси абсцисс – объем (мкл) добавляемого в модельную систему (эритроциты + раствор трет-бутила и клотримазола) антиглаукомной фиксированной комбинации. По оси ординат: процент ингибирования гемолиза эритроцитов при добавлении препарата в модельную систему, содержащую раствор трет-бутила и клотримазола.*

шение микроциркуляции в указанных структурах являются важным направлением лечения глаукомы. В этой связи заслуживают внимания дополнительные, не связанные с гипотензивным эффектом свойства препаратов, применяемых для местного лечения глаукомы. Это касается также фиксированных комбинаций, применение которых становится все более частым в последнее время. В одном из недавних исследований продемонстрировано, например, что комбинация ингибитора карбоангидразы (ИКА) дорзоламида с тимололом превосходит по своим сосудистым эффектам комбинацию тимолола с латанопростом у больных с впервые выявленной глаукомой, в то время как гипотензивная активность обоих препаратов в данном исследовании оказалась одинаковой [8]. Безусловно, особого внимания заслуживает сравнительная оценка способности препаратов нейтрализовать последствия окислительного стресса, или антиоксидантной активности (АОА).

Целью настоящего исследования явилось изучение антиоксидантной активности фиксированных комбинаций, содержащих ингибиторы карбоангидразы и применяемых для местного лечения глаукомы, и сравнить ее с АОА других фиксированных комбинаций.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе исследовались следующие фиксированные комбинации антиглаукомных препаратов: дорзоламид/тимолол (Косопт: Dorzolamide hydrochloride 2% + Timolol maleate 0,5%, MSD Pharmaceuticals), дорзоламид/тимолол (Dorzopt Plus: Dorzolamide hydrochloride 2% + Timolol maleate 0,5%, S.C. Rompharm Company S.R. L.), бринзоламид/тимолол (Brinzolamide 1% + Timolol maleate 0,5%, Alcon), латанопрост/тимолол (Latanoprost 0,005% + Timolol maleate 0,5%, Pfizer), травопрост/тимолол (Travoprost 0,004% + Timolol maleate 0,5%, Alcon), биматопрост/тимолол (Bimatoprost 0,03% + Timolol maleate 0,5%, Allergan) и бримонидин/тимолол (0,2% Brimonidine tartrate + Timolol maleate 0,5%, Allergan).

*Принцип метода определения антиоксидантной активности.* Метод основан на индуцированном гемолизе эритроцитов. При добавлении растворов трет-бутила (ТБ) и клотримазола (КТ) к суспензии отмытых от плазмы крови эритроцитов наблюдается их гемолиз. Соединения, обладающие антиоксидантной активностью, ингибируют гемолиз, вызванный свободными радикалами, а именно — радикалами ТБ. КТ, являясь фунгицитом, усиливает интенсивность гемолиза. По степени ингибирования свободнорадикального гемолиза можно судить об АОА исследуемого соединения. Степень гемолиза определяется по изменению концентрации гемоглобина в среде инкубации. Методика исследования описана нами ранее [3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На рисунке 1 представлена сравнительная характеристика АОА фиксированных комбинаций при исследовании различных объемов препаратов, добавляемых в модельную систему. Наиболее высокая АОА зарегистрирована у комбинации дорзоламид/тимолол (препарат Косопт). Она превосходила АОА других фиксированных комбинаций при анализе всех исследуемых объемов, увеличивалась по мере повышения количества добавляемого в модельную систему препарата (от 30 мкл до 60 мкл и до 90 мкл) и составила 40%, 52% и 75%, соответственно. Примечательно, что АОА указанного препарата в два раза превосходила АОА его аналога — препарата Dorzopt Plus (рис. 1).

По своим антиоксидантным характеристикам к указанным фиксированным комбинациям приближался другой препарат, также содержащий ингибитор карбоангидразы (бринзоламид/тимолол), АОА которого составила 16%, 42% и 54%, соответственно, при объеме тестируемого препарата в 30, 60 и 90 мкл. Из фиксированных комбинаций, содержащих простагландины, по своим антиоксидантным свойствам лидировал латанопрост/тимолол (рис. 1).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Лечению глаукомы, направленному не только на снижение ВГД, но и на предотвращение других патологических механизмов, в последнее время уделяется особое внимание. Настоящее исследование посвящено изучению АОА препаратов для местного лечения глаукомы. В контексте рассматриваемой проблемы полученные данные об АОА фиксированных комби-

# Сила одного решения



## Косопт™†

(дорзоламида гидрохлорид+тимолола малеат, глазные капли, MSD)

- КОСОПТ обеспечивает мощное снижение ВГД при переключении с другого препарата или применении в качестве дополнительной терапии<sup>1,2</sup>
- КОСОПТ обеспечивает эффективное снижение ВГД в течение 15 месяцев<sup>3</sup>
- КОСОПТ обеспечивает лучший статистически достоверный круглосуточный контроль ВГД, чем латанопрост<sup>4</sup>
- КОСОПТ обладает хорошей переносимостью<sup>5</sup>
- КОСОПТ улучшает внутриглазной кровоток<sup>6</sup>

1. Lesk MR, Koulis T, Sampaalis F, et al. Effectiveness and safety of dorzolamide-timolol alone or combined with latanoprost in open-angle glaucoma or ocular hypertension. *Ann Pharmacother.* 2008;42(4):498-504. 2. Feldman RM, Stewart RH, Stewart WC, et al. 24-hour control of intraocular pressure with 2% dorzolamide/0.5% timolol fixed-combination ophthalmic solution in open-angle glaucoma. *Curr Med Res Opin.* 2008;24(8):2403-2412. 3. Data on file, MSD. 4. Quaranta L, Miglor S, Floriani I, et al. Effects of the timolol-dorzolamide fixed combination and latanoprost on circadian diastolic ocular perfusion pressure in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49(10):4226-4231. 5. Worldwide Product Circular for COSOPT, MSD; 2009. 6. Martinez A, Sánchez-Salorio M. A comparison of the long-term effects of dorzolamide 2% and brinzolamide 1%, each added to timolol 0.5%, on retrobulbar hemodynamics and intraocular pressure in openangle glaucoma patients. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2009;25(3):239-24.

ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ, ПОЖАЛУЙСТА, ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ПОЛНОЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА

Компания MSD не рекомендует применять препараты компании способами, отличными от описанных в инструкции по применению.



ООО «МСД Фармасьютикалс»  
Россия, 115093, г. Москва, ул. Павловская, д. 7, корп. 1,  
Тел: +7 495 916 71 00, Факс: +7 495 916 70 94  
[www.merck.com](http://www.merck.com)

Авторские права © 2010 Merck Sharp & Dohme Corp.,  
подразделение Merck & Co., Inc., Whitehouse Station,  
Нью-Джерси, США.  
Все права защищены.

ОРПН-1013968-0022, 03.2012

наций можно отнести к их нейропротекторному действию, поскольку нейтрализация последствий окислительного стресса позволяет блокировать целый каскад патологических реакций, ведущих к апоптозу нейронов сетчатки [7, 11, 13].

Полученные результаты показали, что наиболее высокой АОА обладают антиглаукомные фиксированные комбинации, содержащие ингибиторы карбоангидразы (ИКА). При этом самая высокая АОА выявлена у комбинации дорзопт/тимолол (препарат Косопт). Это полностью совпало с данными о высокой АОА дорзоламида, полученными нами недавно, и подтвердило наши предыдущие наблюдения, согласно которым АОА слезы повышалась в 4 раза через 30 мин. после закапывания дорзоламида [2, 3].

В данной работе исследована АОА препаратов в том виде, в каком они используются в клинической практике, т.е. в виде растворов. На первый взгляд, полученные различия АОА можно было бы объяснить присутствием в растворах консерванта, являющегося сильным окислителем, — бензалкония хлорида (БАХ): его количество в 1 мл указанных растворов колеблется от 0,005% до 0,02%. Однако, как показали результаты данного исследования, препараты, содержащие минимальную концентрацию БАХ, обладали более низкой АОА (например, биматопрост/тимолол) по сравнению с теми, в которых концентрация БАХ выше (например, латанопрост/тимолол). Следовательно, полученные результаты отражают свойства активных составляющих содержимого флакона с глазными каплями.

В целом настоящая работа показала наличие АОА у всех исследованных препаратов. Следует подчеркнуть, что в состав каждой исследуемой фиксированной комбинации входит тимолол. Высокая антирадикальная активность тимолола была установлена нами впервые более 10 лет назад, и эти результаты мы подтверждали неоднократно, используя другие модельные системы [1-3]. Не так давно мы выявили высокую антирадикальную активность ингибиторов карбоангидразы [2]. Следует, однако, отметить, что проводимые нами исследования давали лишь косвенное представление о нейропротекторных свойствах изучаемых лекарств, поскольку выполнялись *in vitro*. Кроме того, мы учитывали тот факт, что при ингибировании свободных форм кислорода могут образовываться весьма токсичные для живых клеток субстанции. Хорошо известен в этом плане пример взаимодействия супероксид анион радикала с другим свободным радикалом — оксидом азота, в результате чего образуется токсичное соединение — пероксинитрит, вызывающий апоптоз ганглиозных клеток сетчатки. Поэтому закономерно вставал вопрос об определении не только антирадикальных, но и антиоксидантных свойств тестируемых препаратов. Использование модельных систем с живыми клетками дает максимально приближенную к *in vivo* информацию. Применение в настоящем исследовании мо-

дельной системы с эритроцитами, гемолиз которых был вызван окислительным стрессом, позволил нам судить об антиоксидантной активности фиксированных комбинаций для лечения глаукомы.

Как было отмечено выше, одним из пусковых звеньев глаукомного поражения является митохондриопатия в клетках трабекулярного эндотелия. Митохондрии осуществляют чрезвычайно важную функцию по снабжению клеток энергией, для чего в нормальных физиологических условиях расходуется 90% всего поступающего к митохондриям кислорода, и лишь 1-5% его перерабатывается митохондриями в свободные формы. С возрастом эта функция митохондрий существенно снижается. То же происходит в случаях различных форм митохондриопатий. Поврежденные митохондрии становятся источником свободных радикалов. Не так давно было установлено, что при ПОУГ имеется дисфункция митохондрий, обусловленная генетически, причем это относится как к митохондриям клеток трабекулярного эндотелия, так и аксонов зрительного нерва [4].

Недавние исследования показали, что дорзоламид и тимолол способны защитить ДНК митохондрий клеток трабекулярного эндотелия от окислительного стресса [6, 9, 11], а при комбинации указанных препаратов происходило усиление антиоксидантного эффекта, что предохраняло трабекулу от повреждающего действия перекиси водорода [10]. Следует подчеркнуть, что выраженные антиоксидантные свойства дорзоламида особенно проявились в отношении поврежденных митохондрий трабекулярного эндотелия, когда трабекулярная ткань по крайней мере частично функционировала. Это обосновывает раннее назначение указанного препарата, который может быть наиболее эффективен в начальной стадии глаукомы. Клинические наблюдения V. Zanon-Moreno с соавт. высокой антиоксидантной активности дорзоламида подтверждают указанный вывод [15]. Заслуживают также внимания недавно полученные данные о способности фиксированной комбинации дорзоламида с тимололом усиливать перфузию капилляров сетчатки и ДЗН, причем подобный эффект, по мнению авторов, нарастает на фоне длительного применения препарата [12].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в свете полученных результатов об антиоксидантной активности фиксированной комбинации ингибитора карбоангидразы дорзоламида с тимололом, данных литературы о защите трабекулярного эндотелия под действием входящих в ее состав ингредиентов, а также о способности ИКА улучшать глазную гемоперфузию, можно заключить, что указанная комбинация имеет потенциальные преимущества перед другими фиксированными комбинациями и может оказывать нейропротекторное действие на ткани глаза при глаукоме.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Курышева Н.И., Деева И.Б., Еричев В.П. Сравнительное изучение антирадикального действия некоторых антиглаукоматозных препаратов // Вестн. офтальмол. – 1998. – № 2. – С. 6-9.
2. Курышева Н.И., Азизова О.А. Сравнительное исследование антиокислительной активности препаратов для местного гипотензивного лечения глаукомы // X Всерос. школа офтальмолога: Сб. научн. ст. – М., 2011. – С. 75-79.
3. Курышева Н.И., Азизова О.А., Пирязев А.П. Антирадикальная и антиоксидантная активность ингибиторов карбоангидразы для местного лечения глаукомы // Российский офтальмол. журнал. – 2011. – Т. 4, № 3. – С. 55-61.
4. Abu-Amero K. K., Morales J., Bosley T.M. Mitochondrial abnormalities in patients with primary open-angle glaucoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2006. – Vol. 47. – P. 2533-2541.
5. Izzotti A., Saccà S. Sensitivity of ocular anterior chamber tissues to oxidative damage and its relevance to the pathogenesis of glaucoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2009. – Vol. 50. – P. 5251-5258.
6. Izzotti A., Saccà S. C., Di Marco B., et al. Antioxidant activity of timolol on endothelial cells and its relevance for glaucoma course // Eye (Lond). – 2008. – Vol. 22. – P. 445-453.
7. Kumar DM, Agarwal N. Oxidative stress in glaucoma: a burden of evidence // J. Glaucoma. – 2007. – Vol. 16. – P. 334-343.
8. Martinez A., Sanchez M. Retrobulbar haemodynamic effects of the latanoprost/timolol and the dorzolamide/timolol fixed combinations in newly diagnosed glaucoma patients // Intern. J. Clin. Pract. – 2007. – Vol. 61. – P. 815-825.
9. Miyamoto N., Izumi H., Miyamoto R., et al. Nipradilol and timolol induce Fox<sup>3</sup>a and peroxiredoxin 2 expression and protect trabecular meshwork cells from oxidative stress // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2009. – Vol. 50. – P. 2777-2784.
10. Sacca S., La Maestra S., Micale R., et al. Ability of Dorzolamide Hydrochloride and Timolol Maleate to target mitochondria in glaucoma therapy // Arch Ophthalmol. – 2011. – Vol. 129. – P. 48-55.
11. Sacca S. C., Pascotto A., et al. Oxidative DNA damage in the human trabecular meshwork: clinical correlation in patients with primary open-angle glaucoma // Arch. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 123. – P. 458-463.
12. Siesky B., Harris A., Kagemann L. Ocular blood flow and oxygen delivery to the retina in primary open-angle glaucoma patients: the addition of dorzolamide to timolol monotherapy // Acta Ophthalmol. – 2010. – Vol. 88. – P. 141-149.
13. Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences // Prog Retin Eye Res. – 2006. – Vol. 25. – P. 490-513.
14. Watson P., Stjernschantz J. A six-month randomized, double-masked study comparing latanoprost with timolol in open-angle glaucoma and ocular hypertension. The Latanoprost Study Group // Ophthalmology. – 1996. – Vol. 103. – P. 126-137.
15. Zanon-Moreno V., Garcia-Medina J.J., Gallego-Pinazo R., et al. Antioxidant status modifications by topical administration of dorzolamide in primary open-angle glaucoma // Eur. J. Ophthalmol. – 2009. – Vol. 19. – P. 565-571.