

Zmes timoptolu s aminokyselinou taurínom ako bioregulátor vnútroočného tlaku u králikov

Oláh Z., Veselovský J., Veselá A.

Klinika oftalmológie LF UK, Bratislava, SR,
prednosta prof. MUDr. P. Strmeň, CSc.

Katedra živočíšnej fyziológie a etológie PriF UK, Bratislava, SR,
vedúci prof. RNDr. M. Zeman, DrSc.

Súhrn

Ciel: Zistiť účinok zmesi antiglaukomatika Timololu s aminokyselinou L-aurínom.HCl, na fyziologickú hladinu VOT králikov.

Metóda: Experimenty boli uskutočnené na očiach na 5 dospelých samiciach králikov plemena Novozelandský biely. Do ľavého spojovkového vaku vždy o 800 h. boli instilované dve kvapky zmesi: a) 10% roztoku L-aurínu.HCl v 0,5% Timolole; b) samotný 0,5% Timolol; c) samotný 10% L-aurín.HCl. Pravé oko bez aplikácie roztokov bolo kontrolné. Hodnoty VOT sa zisťovali pred instiláciou a v čase 5, 15, 30, 60, 120, 180, 240 minút a 24 hodín po instilácii.

Výsledky: a) Zmes 10% L-aurín.HCl v 0,5% Timolole znižuje VOT (okrem 5. min.) singifikantne vo všetkých časových intervaloch (maximum v 180 min. o 6,7 torr). Do 24 hod. ostáva pokles ešte signifikantný – o 3,3 torr; b) Samotné antiglaukomatikum 0,5% Timoptol v porovnaní s kontrolným okom znižuje hladinu VOT nesignifikantne. Hodnoty od 60. min. majú takmer lineárny priebeh (pokles oproti kontrolnému oku v priemere je 1 torr); c) Samotná 10% aminokyselina L-aurín.HCl znížila fyziologickú hodnotu VOT počas sledovania len nesignifikantne.

Záver: Výsledky ukazujú, že antiglaukomatikum Timolol interagoval s aminokyselinou Taurínom a in vitro vznikol nový, biologicky aktívny metabolit – bioregulátor. Účinok tohto metabolitu ako „bioantiglaukomatika“ na fyziologický VOT je niekoľkonásobne vyšší ako účinok samotného Timoptolu, resp. Taurínu. Z hľadiska interakcie účinok antiglaukomatika Timololu s aminokyselinou Taurínom sa javí špecifický.

Kľúčové slová: zmes aminokyseliny taurínu s antiglaukomatikom Timoptolom – bioregulátor IOP u králikov

Summary

Effect of the Mixture of Timoptol and Amino Acid Taurine in the Bioregulation of the Intraocular Pressure in Rabbits

Purpose: To examine the effectivity of the antiglaucomatic Timoptol mixture with amino acid L-taurine.HCl on physiological values of the IOP in rabbits.

Methods: The experimental work was performed on 5 female rabbits of the New Zealand White species. Into the left conjunctival sac at 800 was applied: a) the 10% L-taurine.HCl in 0.5% Timolol; b) the 0.5% Timolol alone; c/ the 10% L-taurine.HCl alone. The IOP was measured before and in 5th, 15th, 30th, 60th, 120th, 180th and 240th min. and 24 hours after the instillation. The right eye was used as control.

Results: a) The 10% L-taurine.HCl in 0.5% Timolol showed also significant IOP decrease (without 5th min.) in all measured times with maximum in 180th min. (with value of decrease 6.7 torr) and in 24th hours the decreased showed still significantly lower level - 3.3 torr; b) The antiglaucomatic 0.5%Timolol alone decreased the IOP values compared with the control eye without significance. The IOP values from the 60th min. were nearly linear character (the mean decrease compared with the control eye was only 1 torr); c) The 10% amino acid L-taurine.HCl showed in all measured times only no significant decrease of the physiological IOP.

Conclusions: The results proved that in the mixture of antiglaucomatic Timoptol and amino acid Taurine a new biologically active substance, the bioregulator is created by interaction. This metabolite as "bioantiglaucomatic" showed several times higher effect on the IOP decrease compared with Timolol or Taurine alone. The showed effect on IOP based on interaction of amino acid mixture with antiglaucomatic is specific and efficacy together with duration changed according the type of amino acid.

Key words: the amino acid Taurine and antiglaucomatic Timoptol mixture as bioregulator of the rabbits IOP

Čes. a slov. Oftal., 63, 2007, No. 4, p. 223-229

ÚVOD

Zníženie a stabilizovanie vnútroočného tlaku (VOT) vo fyziologických hodnotách pri glaukómovom ochorení ostáva stále aktuálnou požiadavkou oftalmológie. Ako je známe, v snahe upraviť patologicky zvýšený VOT sa pri individuálnom výbere antiglaukomatika postupuje zväčša empiricky.

Naše doterajšie experimentálne pozorovania (31, 32) prispievajú k objasneniu mechanizmu účinku antiglaukomatík pri regulácii zníženia VOT. Základný princíp spočíva v interakcii antiglaukomatika s príslušnou voľnou aminokyselinou už v spojovkovom vaku. Touto interakciou vzniká nová látka – bioregulátor, ktorá ovplyvní tvorbu alebo odtok komorového moku. Tým sa udržuje hladina VOT na fyziologických hodnotách (homeostáza).

V tejto práci predkladáme naše ďalšie výsledky pri ovplyvnení fyziologického VOT in vitro pripravenou zmesou Timoptolu s aminokyselinou taurínom po aplikácii do spojovkového vaku králikov.

MATERIÁL A METÓDA

Spôsob použitia biologického materiálu sme uviedli v práci Veselovský a spol. (32). Ako roztoky sme použili:

1. 10% L-aurín.HCl (výrobok Merck s.r.o.) pripravený v aqua pro injectione;
2. 0,5% Timoptol (Timololi maleas, výrobok firmy Léčiva, ČR);
3. zmes L-aurínu.HCl v 10% koncentrácii v 0,5% Timolole (pripravenú v našich laboratórnych podmienkach).

Aplikácia roztokov, meranie VOT, ako aj štatistické vyhodnotenie sa realizovali spôsobom uvedeným v práci Veselovský a spol. (32). Jednotlivé série pokusov s uvedenými roztokmi sa na pokusných králikov realizovali vždy v týždňovom odstupe.

VÝSLEDKY

a) Účinnok 10% L-aurínu.HCl v 0,5% Timoptole (obr. 1: K, T+Tau)

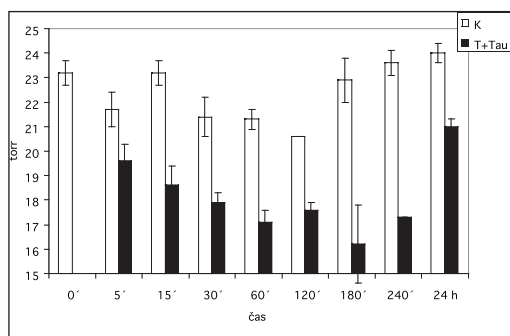
Táto zmes (s obsahom 10% L-aurínu a 0,5% Timoptolu) počas 24 hodín vo všetkých časových intervaloch okrem 5. min ($p < 0,05$) signifikantne znížila hladiny VOT. Najväčšie zníženie sme zaznamenali v 180. min. (o 6,7 torr). Počnúc 5. po 180. minútu zistujeme postupné klesanie VOT. Od 180. min po 24 hod. pozorujeme postupný vzostup, pričom zníženie VOT ešte v 24. hodine predstavovalo 3,0 torr a má signifikantný charakter.

U kontrolného oka v 30., 60. a 120. min. zistujeme oproti 0. minúte pokles VOT priemerne o 2,1 torr. V 180. a 240. min. hladina VOT sa pohybovala na takmer rovnakej výške ako v nulte minúte; v 24. hodine dosahovala hodnotu až 24,0 torr.

Priemerná veľkosť pupily u oboch očí bola rovnaká 7,7 mm.

b) Účinnok 0,5% Timoptolu (obr. 2: K, T)

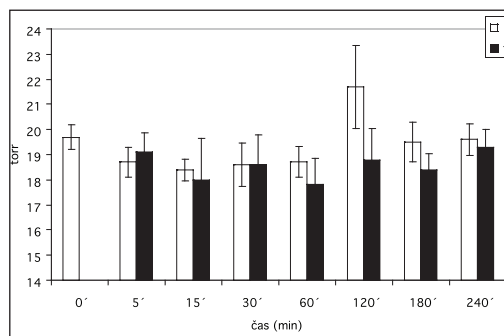
Antiglaukomatikum 0,5% Timoptol počas štyroch hodín sledovania v porovnaní s kontrolným okom znižuje hladinu VOT nesignifikantne. Od 60. min. má tak-



Obr. 1. K, T + Tau

Účinnok zmesi 10% L-aurínu.HCl v 0,5% Timoptole na fyziologické hodnoty VOT králikov Novozelandský biely. Zmeny sú vysoko signifikantné.

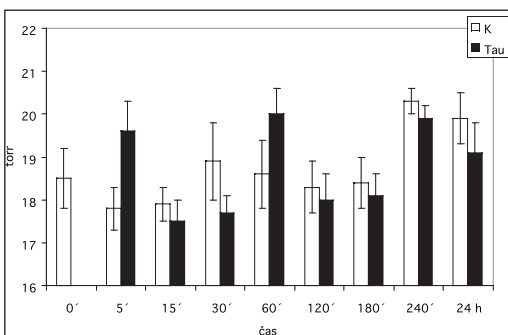
± = S.E.M.; K = kontrola; T+Tau = 10% L-aurín.HCl v 0,5% Timoptole



Obr. 2. K, T

Účinnok 0,5% Timoptolu na fyziologické hodnoty VOT králikov Novozelandský biely. Zmeny nie sú signifikantné.

± = S.E.M.; K = kontrola; T = Timoptol.



Obr. 3: K, Tau

Účinek 10% L-aurínu.HCl na fyziologické hodnoty VOT králikov N ovozeldanský biely. Zmeny nie sú signifikantné.

± = S.E.M.; K = kontrola; Tau = 10% L-aurín.HCl.

Nesignifikantné zvýšenie VOT o 1,8 torr oproti kontrolnému oku zaznamenávame v 5. min. a o 1,4 torr v 60. min.

Priemerná veľkosť pupily zostávala na hodnote 7,6 mm.

mer lineárny priebeh. V 30. min. znamená rovnaké hodnoty VOT u pokusného a kontrolného oka; v 120. min. hladina VOT kontrolného oka sa zvýšila tak oproti ostatným sledovným intervalom, ale aj oproti pokusnému oku o 2,9 torr.

Veľkosť pupily sa nezmenila, zostáva u oboch očí na hodnote priemeru 7,3 mm.

c) Účinek 10% L-aurínu.HCl (obr. 3: K, Tau)

Po topickej aplikácii síru obsahujúcej aminokyseliny taurínu v 10% koncentrácii za 24 hodín sledovania sa štatisticky nesignifikantne znížila hladina VOT (okrem 5 min. a 60 min.).

DISKUSIA

Literárne pramene potvrdzujú, že pri nedostatočnej efektivite na VOT sa neselektívny blokátor β -adrenergických receptorov Timolol zvyčajne kombinuje prostaglandínmi (5, 6, 9, 12, 15, 21, 24, 26, 28) a aj s karboanhydrázovými inhibítormi (1, 8, 10, 11, 13, 17, 22, 28). Účinek takejto kombinácie na VOT je vyšší ako účinok samotných látok. Pri aplikácii kombinácii Timololu s ďalšími antiglaukomatikami sa málo myslí na mechanizmus ich spoločného účinku na VOT. Z nášho pohľadu pokladáme za potrebné zdôrazniť, že literárne pramene neuvádzajú nežiadúce účinky Timoptolu kombinovaného s inými antiglaukomatikami.

Tak literárne pramene (2, 20), ako aj naše experimentálne výsledky (32) dokazujú, že topicky aplikovaný Timoptol u králikov nesignifikantne znižuje fyziologické hodnoty VOT. V našej práci (32) sme z hľadiska mechanizmu jeho účinku konštatovali, že jeho pôsobenie u bezfarebných očí albinotických králikov možno vysvetliť: 1. znížením počtu aj blokovaním β -adrenergických receptorov, 2. inhibíciou syntézy cAMP na nepigmentovaných bunkách epitelu ciliárnych výbežkov a 3. znížením množstva voľných aminokyselín v týchto bunkách a v komorovom moku. Na základe našich experimentov sme konštatovali, že tohto procesu sa zrejme zúčastňuje Timoptol, ktorý sa v tkanivových štruktúrach predného segmentu oka zbioaktivizoval zinteragovaním s príslušnou voľnou aminokyselinou. Prítom vznikol nový metabolit – bioantiglaukomatikum.

V spojkovom vaku je dokázaných 11 aminokyselín (14). Z nich sme pre te-rajšiu prácu vybrali semiesenciálnu, síru obsahujúcu aminokyselinu Taurín z toho dôvodu, že je dôležitý neurochemický faktor vo vizuálnom systéme (18). Táto aminokyselina je štruktúrne podobná neurotransmitteru glycínu (a aj GABA) a podľa

Renteria a spol. (25) pôsobí cestou glycinových receptorov, obsahujúcich GlyR@2. Naše výsledky získané pri aplikácii 10% L-aurínu.HCl do spojovkového vaku sú v zhode s údajmi autorov Bunina a spol. (4). Títo autori aplikovali králikom 4% taurín subkonjunktívne. Zistili, zhodne s našimi nálezmi, nesignifikantný pokles VOT. V našich pokusoch (32) sme zistili, že aj 10% L-glycín.HCl instilovaný do spojovkového vaku králikov znižuje hladinu fyziologického VOT počas 24 hodín len nesignifikantne. Na základe našich nálezov, v súlade s literatúrou (3), sme konštatovali, že cesty účinku na hladinu VOT oboch aminokyselín taurínu a glycínu sú zhodné. Dôležitosť prítomnosti aminokyseliny taurínu pre udržanie fyziologických funkcií tkanivových štruktúr oka (najmä štruktúr sietnice) potvrdzujú aj Madl a spol. (16). Na základe našich výsledkov o nesignifikantnom účinku taurínu (a glycínu) na VOT dovoľíme si uvažovať o ich hlavnej protektívnej úlohe pri gangliových a fotoreceptorových bunkách počas glaukómového procesu. V tomto súhlasíme s Passantes-Moralesovou a Cruzom (23), že aminokyselina taurín je fyziologický stabilizátor membrán fotoreceptorových buniek a z nášho pohľadu aj membrán gangliových buniek.

Z našich výsledkov je zrejmé, že zmes 10% L-aurínu.HCl v 0,5% Timoptole okrem 5. minúty vo všetkých časových intervaloch až do 24. hodiny vysoko signifikantne znižuje fyziologické hladiny VOT u bezfarebných očí králikov. Keďže naše zistenia dokázali nesignifikantný účinok samotného Timoptolu a aj samotného taurínu na VOT, signifikantné zníženie VOT zmesi týchto dvoch komponent, nemožno chápať ako ich synergický alebo aditívny účinok. Zhodným výsledkom sme dospeli aj pri pôsobení zmesi Timoptolu s glycínom (32). Avšak zníženie fyziologického VOT po aplikovaní tejto zmesi oproti účinku zmesi Timoptolu s taurínom za 24 hodín je priemerne o 1.4 torr vyšší. Účinky oboch zmesí v 24 hodine sú signifikantne rovnaké (3,3 a 3,0 torr). Podobne ako pri pôsobení zmesi Timoptolu s glycínom aj pri zmesi Timoptolu s taurínom účinok vidíme v pôsobení novovzniklého bioantiglaukomatika. Keďže ide o aplikáciu už hotového bioregulátora, ktoré vzniklo za in vitro podmienok, jeho bioregulačný účinok na VOT sa prejavil intenzívnejšie ako pri aplikácii samotného Timoptolu do spojovkového vaku. Rozdiel v účinku bioantiglaukomatika vzniknutého interakciou Timoptolu s taurínom oproti bioantiglaukomatika vzniknutého interakciou Timoptolu s glycínom svedčí na skutočnosť, že ich štruktúry sú špecificky odlišné. Predpokladáme, že obe bioantiglaukomatika regulujú a udržiavajú hladinu bunkového cAMP na požadovanej fyziologickej hladine. Podľa Wilkie a spol. (33) cAMP zodpovedá za tvorbu komorového moku a podľa Mittag a spol. (19) cAMP hrá singifikantnú úlohu v sprostredkovaní účinku liekov na VOT cicavcov. Ďalej sa domnievame, že obe antiglaukomatika svojou odlišnou špecifičnosťou môžu odlišne ovplyvniť buď aktivitu Na⁺K⁺ATPázy buniek nepigmentovaného ciliárneho epitelu, alebo transport najmä chloridových iónov cez ciliárny epitel. Podľa To a spol. (29) enzýmový systém Na⁺K⁺ATPáza histochemicky identifikovaný v ciliárnom epiteli králikov je prerekvizitou tvorby komorového moku. Shahidullaha a spol. (27) a Do a To (7) sú toho názoru, že transport chloridových iónov cez ciliárny epitel hrá kľúčovú úlohu v tvorbe komorového moku. Vychádzajúc z veľkého množstva funkcií aminokyseliny taurínu, týkajúcich sa prevažne retiny a jej štruktúrnych zložiek, dovoľíme si uvažovať, že bioantiglaukomatikum (vzniknutý interakciou zmesi Timoptolu a taurínu in vitro) popri znížení VOT môže hrať aj protektívnu úlohu pri fotoreceptorových prípadne aj gangliových bunkách v prednej časti retiny. Predpokladáme že túto funkciu plní udržovaním hladiny intracelulárneho vápnika a intracelulárneho pH.

ZÁVER

1. Antiglaukomatika po instilovaní interagujú s voľnými aminokyselinami v spojovkovom vaku oka, kde vzniká nová, fyziologicky účinná látka – bioregulátor.
2. Len táto nová látka môže prestúpiť do cieľovej oblasti (do vráskovca), čím plní funkciu „bioantiglaukomatika“.
3. Účinnok in vitro pripraveného hotového bioantiglaukomatika instilovaného do spojovkového vaku pôsobí na očiach králikov už vo fyziologických podmienkach.
4. Zisťuje sa pritom niekoľkonásobne výraznejší pokles VOT ako účinok jeho komponent (t.j. antiglaukomatika a aminokyseliny zvlášť).
5. Ovplyvnenie VOT je z hľadiska interakcie antiglaukomatika s voľnou aminokyselinou špecifické pre vznik príslušného bioantiglaukomatika.

LITERATÚRA

1. **Bacharach, J., Delgado, M.F., Iwach, A.G.:** Comparison of the efficacy of the fixed combination timolol/dorzolamide versus concomitant administration of timolol and dorzolamide. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 19, 2003: 93 – 96.
2. **Bartles, S.P., Roth, HO., Jumblatt, M.M. et al.:** Pharmacological effects of topical timolol in the rabbit eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 19, 1980: 1189 – 1197.
3. **Bonaventure, N., Wioland, N., Roussel, G.:** Effects of some amino acids (GABA, glycine, taurine) and of their antagonists (picrotoxine, strychnine) on spatial and temporal features of frog retinal ganglion cell responses. *Pflugers Arch.* 385, 1980: 51–64.
4. **Bunin, A.J., Jarcev, E.I., Kolesnikov, J.A. et al.:** Vlijanie taurina na vnutriglaznoje davlenije i gemato-oftalmologičeskij barjer. (Eksperimentaľnoje issledovanije). *Vestn. Oftalmol.* 1978, No1, 22–25.
5. **Calissendorff, B., Sjoquist, B., Hogberg, G. et al.:** Bioavailability in the human eye of a fixed combination of latanoprost and timolol compared to monotherapy. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 18, 2002: 127 – 131.
6. **Diestelhorst, M., Larsson, L.I.:** A 12 week study comparing the fixed combination of latanoprost and timolol with the concomitant use of the individual components in patients with open angle glaucoma and ocular hypertension. *Br. J. Ophthal.* 88, 2004: 199–203.
7. **Do, C.W., To, CH.:** Chloride secretion by bovine ciliary epithelium: a model of aqueous humor formation. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41, 2000: 1853–1860.
8. **Emmerich, K.H.:** Comparison of latanoprost monotherapy to dorzolamide combined with timolol in patients with glaucoma and ocular hypertension. A 3-month randomized study. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 238, 2000: 19–23.
9. **Feldman, R.M.:** An evaluation of the fixed-combination of latanoprost and timolol for use in open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Expert. Opin. Pharmacother.* 5, 2004: 909–921.
10. **Garcia-Sánchez, J., Rouland, J.F., Spiegel, D. et al.:** A comparison of the fixed combination of latanoprost and timolol with the unfixed combination of brimodine and timolol in patients with elevated intraocular pressure. A six month, evaluator masked, multicentre study in Europe. *Br. J. Ophthalmol.* 88, 2004: 877–883.
11. **Gugleta, K., Orgul, S., Flammer, J.:** Experience with Cosopt, the fixed combination of timolol and dorzolamide after switch from free combination of timolol and dorzolamide, in Swiss ophthalmologists offices. *Curr. Med. Res. Opin.* 19, 2003: 330–335.
12. **Hashimoto, T., Hara, T., Takahashi, Y. et al.:** Hypotensive effect of timolol and latanoprost instillation in normal tension glaucoma. *Jpn. J. Clin. Ophthalmol.* 57, 2003: 288–291.
13. **Choudhri, S., Wand, M., Shields, M.B.:** A comparison of dorzolamide – timolol combination versus the concomitant drugs. *Am. J. Ophthal.* 130, 2000: 832–833.
14. **Kahán, I.:** *Zur Biochemie des Auges.* Budapest, Akadémiai Kiadó, 1982, 113 s.
15. **Konstas, A.G., Maltezos, A.C., Gandi, S. et al.:** Comparison of 24-hour intraocular pressure reduction with two dosing regimes of latanoprost and timolol maleate in patients with primary open-angle glaucoma. *Am. J. Ophthalmol.* 128, 1999: 15–20.
16. **Madl, J.E., McIlroy, T.R., Powell, C.C. et al.:** Depletion of taurine and glutamate from damaged photoreceptors in the retinas of dogs with primary glaucoma. *Am. J. Vet. Res.* 66, 2005: 791–799.
17. **Michaud, J.E., Friren, B.:** Comparison of topical brinzolamide 1% and dorzolamide 2% eye drops

- given daily in addition to timolol 0.5% in patients with primary open-angle glaucoma or ocular hypertension. *Am. J. Ophthalmol.* 132, 2001: 235–243.
18. **Militante, J.D., Lombardini, J.B.:** Taurine: evidence of physiological function in the retina. *Nutr. Neurosci.* 5, 2002: 75–90.
 19. **Mittag, T.W., Tormay, A.:** Drug responses of adenylate cyclase in iris-ciliary body determined by adrenalectomy labeling. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 26, 1985: 369–399.
 20. **Neufeld, A.H.:** Experimental studies on the mechanism of action of timolol. *Surv. Ophthalmol.* 26, 1979: 363–370.
 21. **Olander, K., Zimmerman, T.J., Downes, N. al.:** Switching from latanoprost to fixed-combination latanoprost-timolol 21-day, randomized, double-masked active – control study in patients with glaucoma and ocular hypertension. *Clin. Ther.* 26, 2004: 1619–1629.
 22. **Ormrod, D., McClellan, K.:** Topical dorzolamide 2% Timolol 0,5%: a review of its use in the treatment of open-angle glaucoma. *Drugs Aging* 17, 1979: 477–496.
 23. **Passantes-Morales, H., Cruz, C.:** Taurine: A physiological stabilizer of photoreceptor membranes in retinal subcellular fractions. S. 371 - 381. In: Simo SO., Athee L., Kontro P., Paasonen MK.: *Taurine: Biological actions and clinical perspectives.* New York, Alan R. Liss, 1985.
 24. **Pfeifer, N.:** A comparison of the fixed combination of latanoprost and timolol with its individual components. *Graefes Arch. Clin. Exper. Ophthalmol.* 240, 2002: 893–899.
 25. **Rentaria, R.C., Johnson, J., Copenhagen, D.R.:** Need rods? Get glycine receptors and taurine. *Neuron* 41, 2004: 839–841.
 26. **Rulo, A.H., Greve, F.L., Hoyng, F.P.:** Additive effect of latanoprost, a prostaglandin F₂alpha analogue, and timolol in patients with elevated intraocular pressure. *Br. J. Ophthalmol.* 78, 1994: 899–902.
 27. **Shahidullah, M., Wilson, W.S., Yap, M. et al.:** Effects of ion transport and channel-blocking drugs on aqueous humor formation in isolated bovine eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 44, 2003: 1185 – 1191.
 28. **Shin, D.H., Feldman, Z.M., Sheu, W.P.:** Fixed combination Latanoprost/Timolol Study Group. Efficacy and safety of the fixed combination latanoprost/timolol versus dorzolamide/timolol in patient with elevated intraocular pressure. *Ophthalmology* 111, 2004: 276–282.
 29. **To, Ch., Mok, K.H., Do, C.W. et al.:** Chloride and sodium transport across bovine ciliary body/epithelium (CBE). *Curr. Eye Res.*, 17, 1998: 896–902.
 30. **Veselovský, J., Oláh, Z., Veselovská, Z. et al.:** Mechanizmus účinku pilokarpínu v tkanivových štruktúrach predného segmentu oka z hľadiska jeho interakcie s voľnými aminokyselinami. *Čs. Oftal.* 54, 1998: 10–17.
 31. **Veselovský, J., Oláh, Z., Veselá, A. et al.:** Zmes timoptolu s L-arginínom.HCl: Regulátor vnútroočného tlaku u králikov. *Čs. Oftal.* 59, 2003: 295–302.
 32. **Veselovský, J., Oláh, Z., Veselá, A. et al.:** Účinnok glycínu s Timoptolom na fyziologické hladiny VOT králikov. *Čes. a Slov. Oftal.* 62, 2006: 3–10.
 33. **Wilkie, D.A., Latimer, C.A.:** Effects of topical administration of timolol maleate on intraocular pressure and pupil size in cats. *Am. J. Vet. Res.* 52, 1991: 436–440.
 34. **Zabriskie, N., Netland, P.A.:** Comparison of brimodine, latanoprost and timolol/dorzolamide: two randomized double-masked parallel clinical trials. *Adv. Ther.* 20, 2003: 92–100.

*Prof. MUDr. Z. Oláh, DrSc.
Klinika oftalmológie LF UK
Mickiewiczova 13
813 69 Bratislava, SR.*