

# 1 minute in Ophthalmology

Anno XVIII, N. 2, aprile 2017

## Conservanti in oftalmologia

### A cura di

Dott.ssa Viviana Di Leva – Divisione di Oculistica, Casa di Cura IGEA, Milano

Negli ultimi anni, in oftalmologia, si è registrato un crescente interesse nello sviluppo di formulazioni prive di conservanti, monodose, multidose con sistemi a valvola o a membrana, o con conservanti cosiddetti 'a scomparsa', sia nell'ambito dei sostituti lacrimali, che in quello farmacologico in senso stretto, come nella terapia del glaucoma.

Alla base del trend vi sono le forti evidenze della tossicità che i conservanti, raccomandati dalla Farmacopea al fine di prevenire la contaminazione microbica, batterica e fungina, e la biodegradazione del principio attivo, possono avere sulla superficie oculare, soprattutto se utilizzati per terapie a lungo termine, come accade nei pazienti affetti da glaucoma<sup>1</sup>.

L'effetto tossico può condurre a un quadro di infiammazione oculare e di allergia, fino alla cosiddetta 'Ocular Surface Disease' (OSD, 'sindrome della superficie oculare')<sup>1-2</sup>, una costellazione di alterazioni a carico delle palpebre, della congiuntiva e/o della superficie corneale, con sintomi quali bruciore, iperemia congiuntivale, irritazione, stanchezza, disturbi del visus, infezione, fino a una potenziale riduzione permanente dell'acuità visiva<sup>3</sup>.

L'OSD colpisce il 15% della popolazione generale anziana<sup>4</sup>, mentre si riscontra in percentuali variabili dal 48 al 59% dei pazienti glaucomatosi o con ipertensione oculare trattati con terapia medica<sup>5</sup>, principalmente a causa dei conservanti presenti nelle formulazioni multidose, il più utilizzato dei quali è il **Benzalconio Cloruro (BAK)**, presente in oltre il 70% dei farmaci topici oftalmici.

Il BAK è un conservante della classe dei *detergenti*, o *surfattanti*, estremamente valido in virtù della sua capacità di lisare direttamente le membrane cellulari microbiche, distruggendone la componente lipidica. Rompendo le giunzioni cellulari dell'epitelio corneale, permette, inoltre, anche il passaggio del principio attivo in camera anteriore, del quale ne aumenta, in tal modo, l'efficacia<sup>6</sup>.

In quanto detergente, agisce anche sullo strato lipidico del film lacrimale, causando l'evaporazione della componente acquosa.

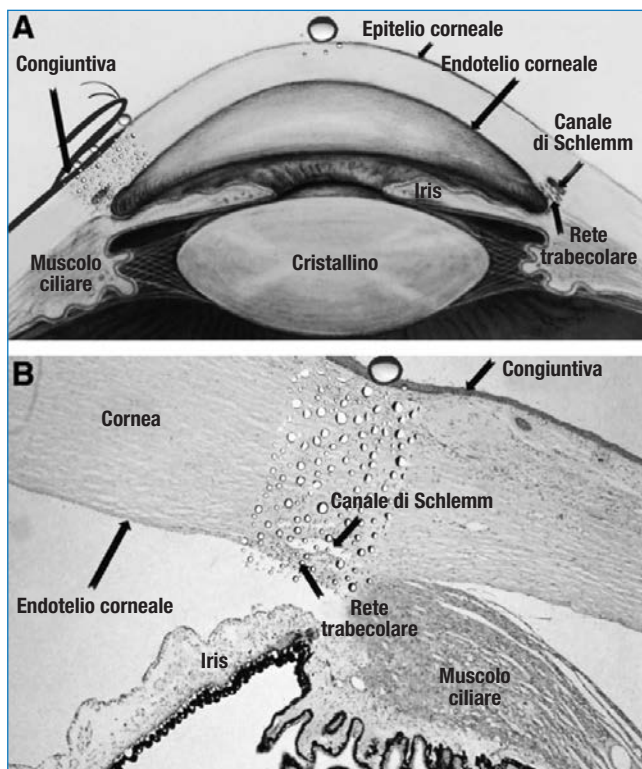
In virtù della sua non specificità d'azione, che gli conferisce un'ampia attività antimicrobica nei confronti di diverse classi di patogeni, inclusa *Acanthamoeba*<sup>7</sup>, il BAK risulta tossico anche per l'epitelio congiuntivale e corneale, così come per lo stroma<sup>8</sup>, in maniera sia dose che tempo dipendente<sup>9</sup>.

Il benzalconio cloruro è utilizzato a concentrazioni variabili dallo 0,015% allo 0,02%, ma la sua tossicità è stata mostrata anche a concentrazioni bassissime, come lo 0,005%<sup>10</sup>.

Esso ha la capacità di rimanere nell'occhio a lungo dopo la sua somministrazione, permanendo nelle membrane cellulari fino a 7 giorni; è stato ritrovato nel trabecolato, nell'endotelio corneale, nel cristallino, nella congiuntiva, nel muscolo ciliare e nella retina (*Figura 1*).

I cambiamenti microscopici visti nei pazienti trattati con BAK includono aumento delle citochine proinfiammatorie, infiltrazione linfocitaria, proliferazione fibroblastica, perdita dei microvilli corneali, così come riduzione della densità delle cellule globet, cheratinizzazione epiteliale e metaplasia squamosa, con conseguenti instabilità del film lacrimale e iperosmolarità lacrimale<sup>11</sup>.

Diversi studi hanno ipotizzato che la prolungata esposizione al BAK potrebbe contribuire al peggioramento del glaucoma, per la caratteristica del conservante di accumularsi nel trabecolato e di danneggiarne, già a basse concentrazioni, la normale funzionalità, causando un ridotto deflusso e, in sostanza, mimando la patologia stessa<sup>12</sup>. È stata ipotizzata la possibilità di un effetto tossico diretto sul nervo ottico e, secondo alcuni autori, gli effetti del BAK potrebbero avere un ruolo chiave in quella percentuale di pazienti glaucomatosi la cui malattia progredisce nonostante un buon controllo della pressione intraoculare<sup>13</sup>.



**Figura 1. (A)** Il BAK si accumula nella cornea, nel cristallino, nella congiuntiva, nell'iride, nell'epitelio del muscolo ciliare e nel trabecolato. **(B)** Il trabecolato e il canale di Schlemm sono a meno di 1 mm dalle superfici corneali e congiuntivali, dove sono applicati i colliri. (da 'Benzalkonium Chloride and Glaucoma, Carol A. Rasmussen, Paul L. Kaufman, and Julie A. Kilands, Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics, Volume 30, Numbers 2 and 3, 2014)

La capacità del BAK di causare la OSD potrebbe, secondo alcuni studi, sia in vitro<sup>14</sup> che in vivo<sup>15</sup>, variare a seconda del principio attivo con il quale il conservante è associato.

È probabile che alcuni pazienti abbiano una maggiore sensibilità al BAK rispetto ad altri e sarebbe auspicabile la loro precoce individuazione, al fine di instaurare la strategia terapeutica più idonea, soppesando i costi e i benefici di usare soluzioni senza conservanti<sup>1</sup>. La tossicità da BAK sulla superficie oculare ha un'ulteriore implicazione negativa a lungo termine nel trattamento del glaucoma, ovvero l'impatto negativo che l'infiammazione cronica può avere su un'eventuale chirurgia filtrante, spesso ultima opzione terapeutica disponibile nei casi più aggressivi.

Numerosi studi hanno, infatti, dimostrato come il fallimento della terapia filtrante sia correlato alla durata e al numero dei farmaci antiglaucomatosi adoperati dal paziente<sup>16,17</sup> e all'esposizione preoperatoria al BAK<sup>18</sup>.

L'aumentato numero di cellule infiammatorie nella congiuntiva causato dal conservante rappresenterebbe, appunto, un fattore di rischio per il fallimento della trabeculectomia<sup>19</sup>, e l'infiammazione relativa alla

tossicità da BAK potrebbe, verosimilmente, influire sulla fibrosi della bozza, causata da proliferazione fibroblastica, sintesi del collagene e deposizione di glicosaminoglicani.

Alla luce delle problematiche connesse all'uso del benzalconio cloruro, sono stati immessi sul mercato nuovi conservanti non-BAK, con una ridotta tossicità rispetto al suddetto<sup>20</sup>.

Essi includono il Poly-quaternium-1, un composto dell'ammonio quaternario, ad attività detergente, derivato dal BAK, ma con minore tossicità rispetto al suo precursore, inizialmente sviluppato per le soluzioni delle lenti a contatto, che è attratto dalle cellule batteriche, ma respinto dalle cellule dell'epitelio corneale umano<sup>21</sup>. Il suo spettro di attività comprende principalmente batteri e alcuni miceti, ma ha una limitata attività nei confronti di altri funghi e di *Acanthamoebae*<sup>22</sup>.

Un'altra classe di conservanti sono gli *ossidanti*, piccole molecole che passano la parete cellulare dei microbi e ne distruggono la funzione enzimatica interna; tendono a essere meno tossici nei confronti delle cellule della superficie oculare, ma la loro efficacia nei confronti di classi di patogeni non incluse nei test classici non è ben nota.

Appartiene a tale classe il complesso oxyclo stabilizzato (SOC), una combinazione di diossido di cloro, clorito e clorato, che causa ossidazione dei lipidi intracellulari e del glutathione, interrompendo enzimi vitali per la funzione e la sopravvivenza cellulari<sup>23</sup>. Esso appare ben tollerato, degradandosi rapidamente quando esposto alla superficie oculare, e dotato di un'ampia attività antimicrobica, anche a concentrazioni molto basse (0,005%)<sup>24</sup>, grazie alla sua capacità di generare radicali liberi ossidanti.

Dotato della stessa capacità di scomparire a contatto con il film lacrimale, il perborato di sodio agisce generando perossido di idrogeno, un potente agente ossidante e antimicrobico<sup>25</sup>.

Un'altra interessante alternativa è rappresentata da una formula ionica, tamponata, composta di zinco, borato, propilene glicolico e sorbitolo, che agisce in maniera simile a un ossidante, causando danno ossidativo e conseguente morte agli organismi privi degli enzimi citocromo ossidasi e catalasi, come molte specie di batteri. Mostra pertanto una ridotta tossicità, significativamente inferiore al BAK<sup>26</sup>, a carico delle cellule epiteliali corneali e congiuntivali<sup>27,28</sup>, che posseggono tali enzimi, e si consuma rapidamente quando in contatto con la superficie oculare.

Ormai poco utilizzati per le gravi reazioni avverse, soprattutto di natura allergica, a carico della superficie oculare, sono i *composti organomercuriali* e l'**acido sorbico**, dotato di minima attività antimicrobica, ma capace di acidificare l'ambiente cellulare inibendo la crescita microbica<sup>29</sup>.

Il **Clorobutanolo** è formato dalla combinazione di cloroformio e acetone e agisce, come il BAK, distruggendo non specificamente le membrane cellulari, con un ampio spettro di attività antimicrobica, ma ha limitata applicazione come conservante oftalmico per la sua labilità

all'esposizione alle alte temperature e per la sua tossicità, comunque maggiore rispetto a quella dei composti ossidanti<sup>30</sup>.

Riguardo i sistemi conservanti suddetti, va però sottolineato che l'attività antimicrobica della maggior parte di essi rimane, purtroppo, ancora poco definita, ponendo potenzialmente le preparazioni che li contengono a un rischio poco conosciuto di contaminazione da parte di microrganismi non inclusi nei test; allo stesso modo, la mancanza di uniformità nei test di tossicità complica ulteriormente il giudizio del clinico riguardo il rapporto rischio/beneficio di usare una particolare formulazione<sup>31</sup>.

Sono state sviluppate, recentemente, formulazioni multidose completamente prive di conservanti, che impediscono la penetrazione dei batteri all'interno del flacone<sup>32</sup> attraverso una membrana porosa o tramite un sistema a valvola.

L'alternativa più interessante disponibile oggi sul mercato è rappresentata dalle formulazioni **monodose**, una soluzione che elimina non solo la necessità del conservante, ma anche il ciclo di contaminazione, incubazione e proliferazione, che aumenterebbe la concentrazione di microbi a un livello tale da causare infezione.

I principali svantaggi di tali formulazioni sono il costo maggiore, oltre che la minore maneggevolezza e la minore facilità di impiego da parte dei pazienti più anziani<sup>33</sup>.

Diversi studi hanno dimostrato come l'efficacia ipotonizzante dei farmaci antiglaucoma in formulazione senza conservanti, così come quella dei farmaci contenenti conservanti alternativi, come il SofZia o il Polyquad, sia equivalente (o non inferiore) alle formulazioni con benzalconio cloruro<sup>34,35</sup>.

Inoltre, rimane l'indicazione di preferire, per l'alta percentuale di pazienti in cui sono necessari più principi attivi per ottenere un buon controllo della pressione intraoculare (ben il 40% dei pazienti glaucomatosi, dopo 5 anni dalla diagnosi<sup>36</sup>), quando possibile, **associazioni fisse**, che rappresentano una valida alternativa al fine di ridurre l'esposizione ai conservanti, aumentare la compliance del paziente ed eliminare l'effetto wash-out presente nelle multiterapie<sup>37,38</sup>.

In conclusione, si può affermare che il livello di attività antimicrobica di tutte le attuali formulazioni conservanti in commercio sia, per lo più, inversamente proporzionale alla loro compatibilità con la superficie oculare.

Il benzalconio cloruro, nonostante la sua ormai ben definita tossicità sulla superficie oculare, rimane tuttora il più efficace tra i sistemi di conservazione oculare, per la sua ampia attività antimicrobica e la maggiore capacità di penetrazione che, interrompendo la continuità della barriera cellulare, conferisce al principio attivo; alcuni autori hanno ipotizzato che il BAK stesso potrebbe avere un effetto terapeutico, in pazienti affetti da diverse forme di cheratiti infettive, nei quali l'uso a breve termine del conservante può considerarsi relativamente sicuro<sup>39</sup>.

Pertanto, secondo le evidenze disponibili oggi, vi è l'indicazione di

scegliere, per terapie a breve termine, nelle quali il rischio di contaminazione o di infezione secondaria è alto, conservanti con la maggiore efficacia, come nel caso di cheratiti infettive, nella profilassi per difetti epiteliali o nella profilassi chirurgica, e di preferire, al contrario, formulazioni senza conservanti o comunque prive di benzalconio cloruro, in tutti i casi in cui siano previste terapie multiple o prolungate, nei pazienti in cui siano già presenti disturbi della superficie oculare o effetti collaterali locali e in quelli per cui vi sia già la prospettiva di una futura indicazione alla terapia filtrante.

## Bibliografia

1. Freeman P.D. and Kahook M.Y. Preservatives in topical ophthalmic medications: historical and clinical perspectives. *Expert Rev. Ophthalmol.* 4:59-64, 2009.
2. Fechtner R.D., Godfrey D.G., et al. Prevalence of ocular surface complaints in patients with glaucoma using topical intraocular pressure-lowering medications. *Cornea.* 29:618-621, 2010.
3. Rasmussen Carol A, Kaufman Paul L., and Kiland Julie A. Benzalkonium Chloride and Glaucoma, *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 30, Numbers 2 and 3, 2014.
4. Schein O.D., Munoz B., Tielsch J.M., Bandeen-Roche K, and West S. Prevalence of dry eye among the elderly. *Am J. Ophthalmol.* 124:723-728, 1997.
5. Leung, E.W., Medeiros, F.A., and Weinreb, R.N. Prevalence of ocular surface disease in glaucoma patients. *J. Glaucoma.* 17:350-355, 2008.
6. Kastelan S., Tomic M., Soldo K. M., Salopek-Rabatic J. How ocular surface disease impacts the glaucoma treatment outcome. Review Article, *BioMed Research International*, Sep 2013.
7. Tu EY, Shoff ME, Gao W, Joslin CE. Effect of low concentration of Benzalkonium Chloride on acanthamoeba survival and its potential impact on empirical therapy of infectious keratitis. *JAMA Ophthalmol* 2013;131(5):595-600.
8. Baudouin C., Detrimental effect of preservatives in eyedrops: implications for the treatment of glaucoma, *Acta Ophthalmologica*, vol. 86, no.7, pp. 716-726, 2008.
9. Tripathi BJ, Tripathi RC, Kolli SP. Cytotoxicity of ophthalmic preservatives on human corneal epithelium. *Lens Eye Toxic Res* 1992;9(3-4):361-75.
10. Ichijima H., Petroll W. M., Jester J.V., and Cavanagh H.D. Confocal microscopic studies of living rabbit cornea treated with benzalkonium chloride, *Cornea*, vol.11. no.3, pp. 221-225, 1992.
11. Servat J.J. and Bernardino C.R., Effects of common topical antiglaucoma medications on the ocular surface, eyelids and periorbital tissue, *Drugs and Aging*, vol. 28, n°4, pp. 267-282, 2011.
12. Samples J. R., Binder P.S. and Nayak S. The effect of epinephrine and benzalkonium chloride on cultured corneal endothelial and trabecular meshwork cells. *Exp. Eye Res.* 49:1-12, 1989.
13. Brignole-Baudouin F., Desbenoit N., Hamm G., et al. A new safety concern for glaucoma treatment demonstrated by mass spectrometry imaging of benzalkonium chloride distribution in the eye, an experimental study in rabbits. *PLoS One.* 7:e50180, 2012.
14. Guenoun J. M., Baudouin C., Rat P., et al. In vitro comparison of cytoprotective and antioxidative effects of latanoprost, travoprost, and bimatoprost on conjunctiva-derived epithelial cells. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005; 40:4594-4599.
15. Pisella P. J., Debbasch C., Hamard P., et al. Conjunctival proinflammatory and proapoptotic effects of latanoprost and preserved and unpreserved timolol: an ex vivo and in vitro study. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 45:1360-1368, 2004.
16. Johnson D. H., Yoshikawa K., Brubaker R.F. and Hodge D.O. The effect of long-term medical therapy on the outcome of filtration surgery, *American Journal of Ophthalmology*, vol. 117, n°2, pp-139-148, 1994.
17. Baudouin C., Ocular surface and external filtration surgery: mutual relationship. *Developments in Ophthalmology*, vol. 50, pp. 64-78, 2012.
18. Boimer C., and Birt C.M. Preservative exposure and surgical outcomes in glaucoma patients: the PESO study. *J. Glaucoma*, 2013 DOI: 10.1097/IJG.0b013e31825af67d.
19. Malvitte L., Montange T., Vejux A., et al. Measurement of inflammatory cytokines

- assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs. *Br. J. Ophthalmol.* 91:29-32, 2007.
20. Baudouin C., Labbè A, Liang H, Pautly A, and Brignole-Baudouin F. Preservatives in eyedrops: the good, the bad and the ugly. *Prog. Retin. Eye Res.* 29:312-334, 2010.
  21. Freeman P.D., and Kahook M.Y. Preservatives in topical ophthalmic medications: historical and clinical perspectives. *Expert Rev Ophthalmol.* 4:59-64, 2009.
  22. Codling CE, MAillad JY, Russel AD. Aspect of the antimicrobial mechanisms of action of a polyquaternium and an amidoamine. *J Antimicrob Chemother* 2003;51(5):1153-8.
  23. Noecker R. Effects of common ophthalmic preservatives on ocular health. *Adv Ther* 2001;18(5):205-15.
  24. Noecker R.J., Herrygers L.A. and Anwaruddin R. Corneal and conjunctival changes caused by commonly used glaucoma medications. *Cornea.* 23:490-496, 2004.
  25. Rosenthal RA, Buck SL, Henry CL, Sclech BA. Evaluation of the preserving efficacy of lubricant eye drops with a novel preservative system. *J Ocul Pharmacol Ther* 2006;22(6):440-8.
  26. Yamazaki S, Nanno M, Kimura T, Suzumura H, Yoshikawa K. Effects of switching to SofZia-preserved travoprost in patients who presented with superficial punctate keratopathy while under treatment with latanoprost. *Jpn J Ophthalmol* 2010;54(1):7-14.
  27. Aihara M., Oshima H., Araie M. EXTraKT study group. Effects of SofZia-preserved travoprost and benzalkonium chloride-preserved latanoprost on the ocular surface – a multicenter randomized single-masked study. *Acta Ophthalmol.* 91:e7-e14, 2013.
  28. Ammar D.A., Noecker R.J., and Kahook M.Y. Effects of benzalkonium chloride-preserved, polyquad preserved, and SofZia-preserved topical glaucoma medications on human ocular epithelial cells. *Adv. Ther.* 27:837-845, 2010.
  29. Kaur IP, Lal S, Rana C, Kakkar S, Singh H. Ocular preservatives: associated risks and newer options. *Cutan Ocul Toxicol* 2009;28(3):93-103.
  30. Epstein SP, Ahdoot M, Marcus E, Asbell PA. Comparative toxicity of preservatives on immortalized corneal and conjunctival epithelial cells. *J Ocul Pharmacol Ther* 2009;25(2):113-9.
  31. Elmer Y. Tu, Balancing antimicrobial efficacy and toxicity of currently available topical ophthalmic preservatives. *Dry Eye and Ocular Surface Disease, Saudi Journal of Ophthalmology* (2014) 28, 182-187.
  32. Bagnis A., Papadia M., Scotto R., Traverso C. E.. Antiglaucoma Drugs: the role of preservative-free formulation. *Saudi Journal of Ophthalmology* (2011) 25, 389-394
  33. Swymer C. and Neville M. W. Tafuprost: the first preservative-free prostaglandin to treat open-angle glaucoma and ocular hypertension. *The Annals of Pharmacotherapy*, vol. 46, n°11, pp. 1506-1510, 2012.
  34. Rouland J. F., Traverso C.E., STalmans I, et al. Efficacy and safety of preservative-free latanoprost eyedrops, compared with BAK-preserved latanoprost in patients with ocular hypertension or glaucoma. *Br J. Ophthalmol.* 97:196-200, 2013.
  35. Gandolfi S., Paredes T., Goldberg I, et al., Comparison of a travoprost BAK-free formulation preserved with polyquaternium-1 with BAK preserved travoprost in ocular hypertension or open-angle glaucoma. *Eur J. Ophthalmol.* 22:34-44, 2012.
  36. Kass M. A., Heuer D. K., Higginbotham E. J. Et al. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma, *Archives of Ophthalmology*, vol. 120, n°6, pp. 701-713, 2002.
  37. Hommer A. Role of fixed combination in the management of open-angle glaucoma, *Expert Review of Pharmacoeconomics and Outcomes Research*, vol. 11, n°1, pp. 91-99, 2011.
  38. Cheng J. W., Cheng S. W., Gao L. D., Lu G.C. and Wei R. L., Intraocular pressure-lowering effects of commonly used fixed combination drugs with timolol: a systematic review and meta-analysis, *PLOS One*, vol. 7, n°9, article e45079, 2012.
  39. Brignole-Baudouin F, desbenoit N, Hamm G, et al. A new safety concern for glaucoma treatment demonstrated by mass spectrometry imaging of benzalkonium chloride distribution in the eye, an experimental study in rabbits. *PLOS One* 2012;7(11):e50180.