

УДК 546.185; 577.152.1; 617.7-002; 615.457

## КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫЕ ЧАСТИЦЫ, СОДЕРЖАЩИЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗУ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГЛАЗ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССОМ

И.И. Никольская, О.В. Безнос\*, В.А. Галицкий, Н.Б. Чеснокова\*, О.А. Кост

(кафедра химической энзимологии Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова; e-mail: iinikolskaya @yandex.ru)

**Оптимизирован метод получения кальций-фосфатных частиц. Получены частицы, содержащие супероксиддисмутазу. Определен размер и заряд поверхности частиц, изучены их стабильность в разных условиях и кинетика высвобождения из них фермента. Исследовано влияние десорбции супероксиддисмутазы на размер и заряд поверхности частиц. Показана более высокая эффективность действия супероксиддисмутазы в составе кальций-фосфатных частиц по сравнению с ферментом в водном растворе при подавлении воспаления в глазу (на модели иммуногенного увеита у кроликов – модели воспалительного процесса, сопровождающегося окислительным стрессом).**

**Ключевые слова:** офтальмология, кальций-фосфатные частицы, супероксиддисмутазу, окислительный стресс, увеит.

Под окислительным стрессом понимают усиление свободнорадикальных процессов на фоне ослабления собственной антиоксидантной системы, которое приводит к повреждению практически всех компонентов тканевых структур, нарушению метаболических процессов и структуры тканей [1]. Высокая вероятность свободнорадикального повреждения тканей глаза обусловлена несколькими причинами. Во-первых, ткани глаза постоянно подвергаются действию света, что приводит к фотоиницированию перекисного окисления липидов (ПОЛ). Во-вторых, липиды, входящие в состав внутриглазных тканей, по своему составу являются чрезвычайно легко окисляемым субстратом для ПОЛ [2].

В условиях окислительного стресса клетки продуцируют в очень больших количествах супероксид-анион, который реагирует с молекулами воды с образованием очень агрессивного гидроксильного радикала, а также с оксидом азота с образованием высокотоксичного пероксинитрита. Гидроксильные радикалы могут легко реагировать с органическими и неорганическими молекулами, способны разрушать практически все структурные и функционально активные компоненты тканей, приводят к образованию органических свободных радикалов. Образующиеся свободные радикалы способствуют возникновению

нарушений в иммунной системе, а также вызывают образование токсических веществ, что усугубляет нарушение микроциркуляции в тканях, приводящее к ишемизации и гипоксии тканей [3].

Практически нет такой офтальмологической патологии, при которой не было бы установлено усиления свободнорадикальных процессов. Например, показана важная роль свободных радикалов в патогенезе глаукомы [4], катаракты [5], внутриглазных кровоизлияний [6], ожоговой болезни глаз [7], диабетической ретинопатии [8] и т.д.

В организме контроль концентрации супероксид-аниона осуществляет в основном антиоксидантный фермент супероксиддисмутазу (СОД), который катализирует реакцию дисмутации супероксидных кислородных радикалов в кислород и перекись водорода. На основе рекомбинантной СОД1 (Cu,Zn-СОД, КФ 1.15.1.1) в России разработан препарат «Рексод-ОФ», рекомендованный для инстилляций в глаз при лечении многих глазных заболеваний [9–11]. Однако известным недостатком препаратов в виде водных растворов при таком введении является их плохое проникновение во внутренние структуры глаза. Кроме того, лекарственный препарат легко смывается слезой с поверхности глаза. В результате только около 5% вводимого лекарственного вещества способно проникнуть через

\*МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца.

роговую оболочку и достичь внутриглазных тканей [12].

Перспективным подходом к решению данной проблемы является использование микро- и наночастиц в качестве систем доставки, так как они способны значительно увеличивать биодоступность лекарственного препарата [13, 14]. Перспективными в этих целях являются кальций-фосфатные частицы (CaPh-частицы), так как они нетоксичны, неиммуногенны и биосовместимы ввиду схожести их химического состава с гидроксиапатитом – основным структурным элементом костей и зубов человека [15, 16]. Неоспоримым преимуществом этих частиц является то, что их получают из водных растворов. Кроме того, с технологической точки зрения CaPh-частицы по сравнению с полимерными частицами просты в получении и могут обладать гораздо меньшей стоимостью. В экспериментах *in vivo* показано, что включение в CaPh-частицы низкомолекулярных препаратов, снижающих внутриглазное давление, позволяет повысить их эффективность по сравнению с водными растворами препаратов [17–21].

Цель данной работы – оптимизация метода получения CaPh-частиц, включение в них высокомолекулярного препарата СОД1, характеристика полученных частиц *in vitro* и проведение экспериментов *in vivo* путем сравнения терапевтического действия СОД в растворе и в составе CaPh-частиц на модели иммуногенного увеита у кроликов (модель воспалительного процесса, сопровождающегося окислительным стрессом во внутренних структурах глаза).

### Материалы и методы

CaPh-частицы получали по методике, предложенной в работе [19]. Внедрение СОД в CaPh-частицы проводили на стадии их получения. Для повышения стабильности частиц был использован покрывающий агент  $\beta$ -D-целлобиоза. Для этого после окончания озвучивания частиц в суспензию добавляли по каплям предварительно отфильтрованный на фильтре («Macherey-Nagel», Германия) с диаметрами пор 0,22 мкм 1%-й раствор целлобиозы, затем смесь интенсивно перемешивали на магнитной мешалке в течение 6 ч при комнатной температуре. Следует отметить, что для стабилизации CaPh-частиц, покрытых целлобиозой, их необходимо выдерживать в течение 36 ч при температуре 4°C.

Активность СОД определяли с помощью кверцетина, при этом за единицу активности принимали такое количество фермента, которое в течение 20 мин вызывает ингибирование реакции авто-

окисления кверцетина на 50% при pH 10,2 и температуре 25°C [22].

Для оценки эффективности инкапсулирования СОД в CaPh-частицы полученную суспензию СОД-содержащих частиц фильтровали через мембрану Microcon 50 кДа («Amicon», США) центрифугированием при 9000 g в течение 5 мин, а затем определяли активность СОД в прошедшем через мембрану растворе. Количество СОД, внедренной в частицы, рассчитывали как разность между исходной активностью фермента и активностью фермента в фильтрате.

Определение времени установления равновесия между СОД в частицах и СОД в растворе проводили следующим образом. На несколько мембран (50 кДа) помещали суспензию СОД-содержащих CaPh-частиц и центрифугировали при 9000 g в течение 5 мин для отделения частиц от раствора свободной СОД. Затем к частицам на мембранах добавляли 0,15 М раствор NaCl до первоначального объема, суспензии инкубировали в течение разных промежутков времени, после чего каждый раствор вновь центрифугировали. Количество СОД определяли в фильтратах, как описано выше. Каждую серию экспериментов проводили не менее 3 раз.

Изучение кинетики десорбции СОД из CaPh-частиц проводили следующим образом. Равные объемы суспензии частиц, в которой было достигнуто равновесие между СОД в составе частиц и СОД в растворе, центрифугировали на нескольких мембранах, затем доводили до начального объема и инкубировали в течение разных промежутков времени. Затем проводили центрифугирование и определение активности СОД в фильтратах. К частицам на мембранах вновь добавляли раствор NaCl и проводили описанный эксперимент до полной десорбции СОД из частиц.

Определение размеров и электрофоретической подвижности ( $\zeta$ -потенциал) CaPh-частиц проводили методом динамического светорассеяния на многофункциональном приборе «ZetasizerNanoZS» («Malvern Instrument», Великобритания) в специализированных кюветах при температуре ячейки 25°C. Перед анализом полученные частицы фильтровали через фильтры «Macherey-Nagel» (Германия) с диаметрами пор 0,22 и 0,45 мкм, а также анализировали нефильтрованный образец.

Стабильность CaPh-частиц, покрытых целлобиозой и не содержащих СОД, изучали при хранении в растворе, содержащем 0,2 мг/мл  $\text{NaN}_3$ , (антибактериальный агент) при +4°C в течение 1 месяца. После хранения определяли размер и  $\zeta$ -потенциал частиц, как описано выше. Для СОД-содержащих

CaPh-частиц изучена их стабильность при лиофилизации и концентрировании (в 20 раз) на мембранах «Microcon 50 кДа» (США), а также при хранении в высушенном состоянии и в растворе, содержащем 0,3 мг/мл хлорида бензалкония (антибактериальный агент), при +4°C в течение трех недель. Во всех случаях были определены размер,  $\zeta$ -потенциал частиц и активность фермента.

Эксперименты *in vivo* проведены в Институте глазных болезней им. Гельмгольца. В эксперименте было задействовано 15 кроликов породы шиншилла массой 2,0–2,5 кг. У 10 животных воспроизводили иммуногенный увеит по методике, описанной в работе [23]. Пять кроликов оставались интактными. Кролики в каждой серии экспериментов были разбиты на 3 группы по 5 животных (10 глаз). Первой группе ежедневно в течение 7 дней проводили инстилляцию препарата Рексод-ОФ (ООО «НПП Ферментные технологии», Россия, представляющий собой рекомбинантную СОД1 человека) в 0,15 М растворе NaCl (рН 6,5) с активностью 200 кУ/мл 3 раза в день по 30 мкл в оба глаза. Второй группе проводили инстилляцию суспензии СОД1 в составе CaPh-частиц в 0,15 М растворе NaCl (рН 6,5) с той же активностью и в том же режиме, а третьей группе – плацебо, 0,15 М раствор NaCl (рН 6,5).

За клинической картиной течения увеита следили ежедневно в течение 8 дней после его начала путем биомикроскопии с помощью щелевой лампы. В условных баллах по четырехбалльной шкале (0 – отсутствие признака, 1 – слабое проявление, 2 – среднее проявление, 3 – серьезное проявление) оценивали следующие внутренние и внешние признаки заболевания: отек радужки, отек роговицы, отек и гиперемия век, количество фибрина в передней камере глаза, наличие задних синехий, помутнение хрусталика, интенсивность неоваскуляризации роговицы. Статистическую достоверность полученных результатов оценивали по U-критерию Манна–Уитни.

### Результаты

Ранее [21] для получения нано- и микро- CaPh-частиц использовали достаточно небольшую эквимольную концентрацию (12,5 мМ)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  и  $\text{CaCl}_2$ . Для возможного повышения выхода частиц мы повысили их концентрацию до 50 мМ. Получение частиц контролировали методом динамического светорассеяния. Оказалось, что при повышении концентрации солей в 2 раза вместе с образованием CaPh-частиц протекает реакция, сопровождающаяся выделением белого осадка. Возможно, что при этом образуется дигидрат орто-

фосфата кальция  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , который наиболее стабилен при данном значении рН [12]. При увеличении концентрации солей в 4 раза образования нано- и микро-CaPh-частиц уже не происходит, а выпадает осадок. Таким образом, для получения CaPh-частиц необходимо использовать разбавленные растворы.

В некоторых работах, например [24], получение CaPh-частиц проводят в присутствии цитрата натрия как стабилизирующего агента, а в некоторых, например [25], частицы получают без его использования. Мы сравнили эти два метода. Оказалось, что в присутствии цитрата натрия средний гидродинамический радиус частиц был существенно ниже (160 нм), чем у частиц, полученных в отсутствие цитрата натрия (400 нм). Возможно, что стабилизирующий агент при получении CaPh-частиц препятствует их коагуляции на стадии получения. В дальнейшем получение CaPh-частиц мы проводили в присутствии цитрата натрия.

Для повышения стабильности сформированных CaPh-частиц их покрывают реагентами различной природы. Нами в качестве покрывающего агента была выбрана целлобиоза в концентрации 0,5%, согласно [24]. Физико-химические характеристики частиц до и после покрытия их раствором целлобиозы, которые определяли как для нефилтрованных, так и для отфильтрованных (через фильтры различной пористости) образцов частиц, представлены в табл. 1. Как видно, размеры частиц, покрытых целлобиозой, несколько превышают размеры исходных частиц, а значение  $\zeta$ -потенциала повышается (по модулю) в результате покрытия в среднем на 4–5 мВ.

Для выбора оптимальной концентрации целлобиозы (помимо предложенной в работе [24] концентрации 0,5%) нами были использованы растворы с содержанием целлобиозы 0,33 и 0,67%. В табл. 2, 3 обобщены данные по влиянию различных концентраций целлобиозы на параметры CaPh-частиц. Можно видеть, что при понижении концентрации целлобиозы с 0,5 до 0,33% размер частиц изменяется незначительно, однако при повышении концентрации до 0,67% не удается обнаружить самые маленькие частицы, которые можно обычно детектировать после фильтрации через фильтр с порами 0,22 мкм. В то же время использование целлобиозы с концентрацией 0,33% не дает выигрыша в  $\zeta$ -потенциале. Таким образом, раствор целлобиозы в концентрации 0,5% является оптимальным.

Включение СОД в CaPh-частицы проводили, получая частицы в присутствии фермента с последующим покрытием целлобиозой. При этом

Т а б л и ц а 1

**Влияние покрытия CaPh-частиц 0,5%-й целлобиозой на их средний гидродинамический радиус (Rh) и заряд поверхности ( $\zeta$ -потенциал)**

Образец	Rh, нм			$\zeta$ , мВ		
	0,22 мкм	0,45 мкм	нефильтро- ванный образец	0,22 мкм	0,45 мкм	нефильтрованный образец
CaPh-частицы без покрытия	46±10	77±12	160±20	-9±3	-11±3	-12±1
CaPh-частицы, покрытые целлобиозой	55±10	110±15	263±15	-13±3	-16±3	-17±2

Т а б л и ц а 2

**Средний гидродинамический радиус (Rh) CaPh-частиц при различных концентрациях покрывающего агента (целлобиозы)**

Концентрация целлобиозы (%)	Rh, нм		
	0,22 мкм	0,45 мкм	нефильтрованный образец
0	46±10	77±12	160±20
0,33	55±5	153±12	210±23
0,50	55±10	110±15	263±15
0,67	нет	130±14	269±40

Т а б л и ц а 3

**Заряд поверхности ( $\zeta$ -потенциал) CaPh-частиц при различных концентрациях покрывающего агента (целлобиозы)**

Концентрация целлобиозы (%)	$\zeta$ , мВ		
	0,22 мкм	0,45 мкм	нефильтрованный образец
0	-9±3	-11±3	-12±1
0,33	-11±2	-12±4	-14±2
0,50	-13±3	-16±3	-17±2
0,67	Нет	-16±3	-19±2

было отмечено значительное увеличение размера частиц при включении СОД после фильтрования через фильтр (0,45 мкм) с 110±15 до 233±25 нм и падение (по модулю)  $\zeta$ -потенциала от -16±3 до -4±2 мВ. Возможно, что СОД помимо внедрения в структуру частиц может адсорбироваться на их поверхности или встраиваться в структуру слоя покрывающего агента, уменьшая тем самым поверхностный заряд частиц. Процент внедрения СОД в частицы оказался высоким и составил 50±5%.

Процесс десорбции СОД из частиц протекает достаточно быстро, и уже через 30 мин система достигает состояния равновесия. При этом в раствор переходит лишь около 25–30% фермента. После отделения частиц от раствора и добавления следующей порции 0,1 М NaCl состояние равновесия достигается примерно через

30 мин, при этом вымывается еще 25–30% СОД. Для полного высвобождения СОД из частиц достаточно осуществить 4 промывки физиологическим раствором.

После установления каждого равновесного состояния измеряли средний гидродинамический радиус частиц и их  $\zeta$ -потенциал. Полученные данные представлены в табл. 4. Видно, что после полного высвобождения СОД размеры частиц изменяются очень слабо и не достигают значений, полученных для пустых частиц. Что касается  $\zeta$ -потенциала, то его значение постепенно растет при каждом последующем промывании частиц и при полной десорбции СОД становится равным  $\zeta$ -потенциалу пустых CaPh-частиц. Это еще раз указывает на возможность внедрения СОД не только внутрь частиц, но и в приповерхностный слой.

Т а б л и ц а 4

**Значения среднего гидродинамического радиуса и  $\zeta$ -потенциала СаPh-частиц на разных стадиях десорбции из них СОД**

Кратность промывки	Радиус частиц, нм	$\zeta$ , мВ
1	238±15	-5±1
2	220±14	-7±2
3	222±14	-11±3
4	218±13	-13±3

Изучены свойства СОД-содержащих СаPh-частиц (размер и  $\zeta$ -потенциал частиц, активность включенного фермента) в зависимости от условий хранения. Оказалось, что частицы в лиофильно высушенном состоянии могут храниться без потери своих физико-химических свойств и без потери ферментативной активности в течение 6 месяцев, а в растворе при 4°C не менее трех месяцев. Кроме того, свойства частиц не изменялись при концентрировании в 15 раз или растворении в меньшем объеме после лиофилизации, что важно для подбора концентрации препарата при проведении терапии.

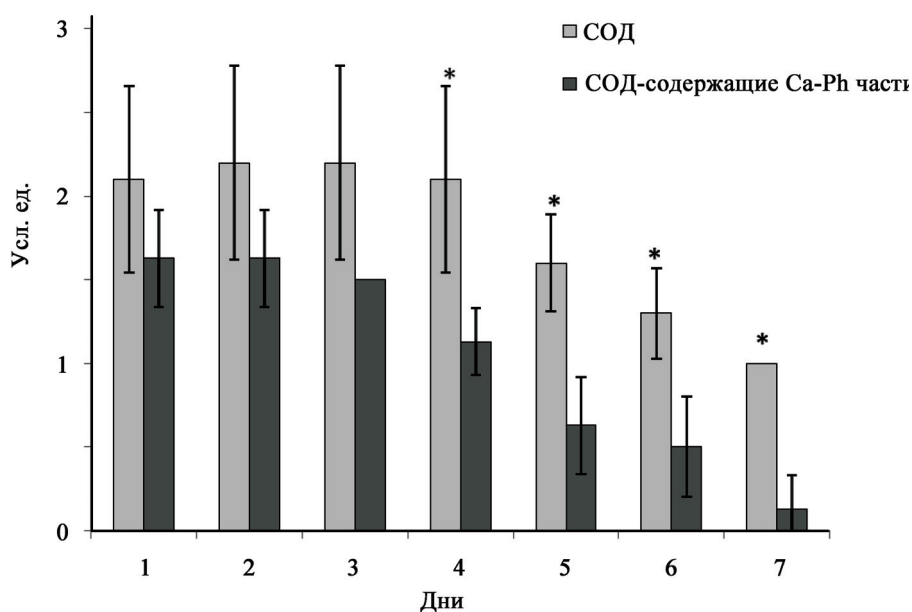
Сравнительное изучение терапевтического действия *in vivo* СОД в растворе и СОД в составе СаPh-частиц мы проводили на модели иммуногенного увеита у кроликов (модель воспалительного процесса, сопровождающегося окислительным стрессом во внутренних структурах глаза). Выбор данной модели обусловлен тем, что при увеите имеется высокая степень корреляции между выраженностью воспаления и окислительным стрессом. Кроме того, СОД в значительной степени снижает уровень окислительного стресса во внутренних средах глаза при увеите [26]. Следует подчеркнуть, что поскольку патогенетические механизмы развития иммуногенного увеита у кроликов соответствуют закономерностям развития увеита у человека, эта модель используется для обоснования новых методов лечения увеита [27]. В предварительных экспериментах мы показали, что инстилляцией пустых СаPh-частиц не вызывает раздражения или воспаления в глазу при их закапывании 3 раза в день в течение недели.

В результате проведенного исследования терапевтического действия СОД в растворе и СОД в составе СаPh-частиц показано, что по таким клиническим проявлениям увеита как отек радужки, отек роговицы, помутнение хрусталика, интенсивность неоваскуляризации роговицы не было получено достоверных различий в действии препаратов.

Показано, однако, что СОД в составе частиц проявляет лучшую эффективность по сравнению

с СОД в растворе (статистически достоверные различия) по таким параметрам как отек и гиперемия век (снижение интенсивности воспаления в среднем на 20%,  $p < 0,05$ ) и образование задних синехий (в среднем на 25%,  $p < 0,05$ ) в острый период воспаления (второй–третий день от начала увеита). На протяжении всего периода наблюдения (1–9 сут) было отмечено значительное снижение количества фибриновых сгустков в передней камере глаза при лечении СОД в составе СаPh-частиц по сравнению с водным раствором СОД (рисунок). Этот результат очень важен, поскольку характерной особенностью увеита является повышение проницаемости сосудов переднего отдела увеального тракта глаза. Это влечет за собой проникновение из плазмы крови во внутриглазную жидкость белков, в том числе фибриногена, который, оказавшись вне сосудистого русла, превращается в нерастворимый фибрин, что выражается в появлении его сгустков в передней камере глаза. Чем более выражено воспаление, тем больше фибриногена проникает в переднюю камеру. Наличие фибрина в передней камере способствует возникновению вторичной глаукомы, так как фибрин забивает пути оттока внутриглазной жидкости, а также способствует снижению прозрачности оптических сред глаза, поскольку образуются преципитаты на роговице и хрусталике глаза.

Таким образом, нами получены содержащие СОД СаPh-частицы с достаточно высоким процентом внедрения фермента (около 50%). Показана стабильность в разных условиях СОД-содержащих СаPh-частиц по таким параметрам, как размер и заряд поверхности частиц, а также активность внедренной СОД. Проведенные исследования *in vivo* на модели увеита продемонстрировали, что внедрение СОД в СаPh-частицы позволяет обеспечить усиление терапевтического эффекта при лечении заболеваний, сопровождающихся окислительным стрессом во внутренних структурах глаза. К таким заболеваниям могут относиться воспалительные процессы любой этиологии и локализации, нейродегенеративные процессы в сетчатке, включая глаукому и воз-



Содержание фибрина в передней камере глаза при лечении увеита: серые столбики – лечение раствором СОД; черные столбики – лечение раствором СОД в составе кальций-фосфатных частиц. По оси абсцисс – время после начала заболевания увеитом в сутках, по оси ординат – выраженность признака в условных баллах. Звездочкой (\*) отмечены статистически достоверные различия,  $p < 0,01$

растную дистрофию сетчатки, а также диабетическая ретинопатия. Кроме того, использование

препаратов такого рода может быть использовано для профилактики катаракты.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологический аспекты. М., 2001.
2. Catala A. // Front. Biosci. (Schol Ed). 2011. Vol. 3. P. 52.
3. Carubelli R., Nodquist R.E., Rowsey J.J. // Cornea. 1990. Vol. 9. P. 161.
4. Зиангирова Г.Г., Антонова О.В. // Вестн. Офтальмол. 2003. № 4. С. 54.
5. Garner B., Davies V.J., Truscott R.J.W. // Exp. Eye Res. 2000. Vol. 70. P. 81.
6. Ромащенко А.Д., Гундорова Р.А., Касавина Б.С. // Вестн. Офтальмол. 1981. № 2. P. 51.
7. Гулидова О.В., Любичкий О.Б., Клебанов Г.И., Чеснокова Н.Б. // Бюл. эксп. биол. мед. 1999. Т. 128. № 11. С. 571.
8. Булатова О.С., Кондратьев Я.Ю., Миленская Т.М. // Эндокринология. 1999. Т. 45. № 4. С. 3.
9. Алексеев В.Н., Мартынова Е.Б., Чурилова И.В. Пат. РФ № 2144343, 1997.
10. Алексеев В.Н., Корелина В.Е., Чжан Шаши // Клини. Офтальм. 2008. Т. 9. № 3. С. 82.
11. Журавлева Л.В., Чурилова И.В., Дроздова Ю.И., Леонова Н.В., Зыбина Н.Н., Коробова М.В. Рексод в комплексной антиоксидантной терапии больных возрастной макулодистрофией. Сб. науч. тр. VI всерос. школы офтальмолога. М., 2007.
12. Ahmad I., Patton T. // Invest. Ophthalm. Vis. Sci., 1985. Vol. 26. P. 584.
13. Araujo J., Gonzalez E., Egea M.A., Garcia M.L., Souto E.B. // Nanomedicine. 2009. Vol. 5. P. 394.
14. Sahoo S.K., Dilnawaz F., Krishnakumar S. // Drug Discov. Today. 2008. Vol. 13. P. 144.
15. Bell S., He Q., Morco T. Therapeutic calcium phosphate particles and methods of manufacture and use. Pat. US. № 6355271; 2002.
16. Hu J., Kovtun A., Tomaszewski A., Singer B., Seitz B., Epple M., Steuhl K., Ergün S., Fuchluger T. // Acta Biomater. 2012. Vol. 8. P. 1156.
17. He Q., Chu T.-C., Potter D. // J. Ocular Pharmacol. and Therap. 2002. Vol. 18. P. 507.
18. Zhang X., Yuan W., Zhou D., Wu J. // Nanotech. 2008. Vol. 2. P. 401.
19. Шимановская Е.В., Безнос О.В., Клячко Н.Л., Кост О.А., Никольская И.И., Павленко Т.А., Чеснокова Н.Б., Кабанов А.В. // Вестн. Офтальмол. 2012. № 3. С. 15.
20. Никольская И.И., Шимановская Е.В., Кост О.А., Чеснокова Н.Б., Павленко Т.А., Безнос О.В., Биневский П.В., Клячко Н.Л., Кабанов А.В. Способ снижения внутриглазного давления. Патент РФ. № 2472471, 2013.
21. Шимановская Е.В., Никольская И.И., Биневский П.В., Безнос О.В., Клячко Н.Л., Павленко Т.А., Чеснокова Н.Б., Кост О.А. // Рос. нанотех. 2014. Т. 9. № 3–4. С. 100.
22. Костюк В., Потапович А., Ковалёва Ж. // Вопр. мед. хим. 1990. Т. 36. С. 88.
23. Нероев В.В., Давыдова Г.А., Перова Т.С. // Бюл. эксп. биол. мед. 2006. Т. 142. № 5. С. 598.
24. Bell S., He Q., Chu T., Potter D. US Patent № WO 2004050065 (A1), prior. 2004.

25. Li J., Hu Y., Huang L. // *Biomaterials*. 2014. Vol. 35. P. 3027.
26. Чеснокова Н.Б., Нероев В.В., Безнос О.В., Бейшенева Г.А., Никольская И.И., Кост О.А., Биневский П.В., Шехтер А.Б. // *Вестн. Офтальмол.* 2014. № 5. С. 30.
27. Yadav U.C.S., Kalariya N.M., Ramana K.V. // *Curr. Med. Chem.* 2011. Vol. 18. P. 931.

Поступила в редакцию 01.12.15

## CALCIUM PHOSPHATE PARTICLES CONTAINING SUPEROXIDE DISMUTASE – PERSPECTIVE AGENT FOR THE TREATMENT OF EYE DISEASES ACCOMPANIED BY OXIDATIVE STRESS

I.I. Nikolskaya, O.V. Beznos, V.A. Galitskiy, N.B. Chesnokova, O.A. Kost

*(Enzymology Division, Chemistry Department, M.V. Lomonosov Moscow State University)*

**Method for the preparation of calcium phosphate particles was optimized. The particles with entrapped superoxide dismutase were obtained. The size, surface charge, and stability of calcium phosphate particles under different conditions were determined. The kinetics of the enzyme release from the particles and the influence of the drug release on the size and surface charge of the particles were investigated. On the rabbit model of immunogenic uveitis (the model of inflammatory process in the eye accompanied by oxidative stress), it was shown that superoxide dismutase enclosed in calcium phosphate particles possessed higher anti-inflammatory effect than that of superoxide dismutase in water solution.**

**Key words:** ophthalmology, calcium phosphate particles, superoxide dismutase, oxidative stress, uveitis.

**Сведения об авторах:** *Никольская Ирина Ивановна* – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (iinikolskaya@yandex.ru); *Безнос Ольга Валерьевна* – науч. сотр. отдела патофизиологии и биохимии МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца (olval2011@mail.ru); *Галицкий Владимир Алексеевич* – сотр. факультета наук о материалах (msu.galitskiy.v@gmail.com); *Чеснокова Наталья Борисовна* – профессор МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца, докт. биол. наук (nchesnokova2012@yandex.ru); *Кост Ольга Алексеевна* – вед. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (olga.a.kost@gmail.com).