



<https://doi.org/10.34883/PI.2025.15.3.016>
УДК 616.36-089



Билалов Э.Н., Абдуллаев А.О., Билалов Б.Э., Орипов О.И. ✉
Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Узбекистан

Экспериментальная оценка безопасности нового антифибротического препарата барьерного действия, предназначенного для хирургии глаукомы, – гидрогеля на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: дизайн и организация исследования – Билалов Э.Н.; осуществление экспериментальных исследований – Абдуллаев А.О.; статистическая обработка, работа с таблицами и графиками – Орипов О.И.; работа с текстом – Билалов Б.Э.

Благодарность: авторский коллектив выражает свою благодарность профессору А.А. Саримсакову и его коллективу за разработку гидрогеля на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы.

Финансирование: авторы не получали дополнительного финансирования при проведении исследования и написании статьи.

Подана: 26.05.2025

Принята: 08.09.2025

Контакты: okil.oriopov@mail.ru

Резюме

Введение. Послеоперационные спайки представляют собой серьезное осложнение хирургических вмешательств, включая офтальмологические операции, особенно в хирургии глаукомы. Развитие фиброза после хирургии глаукомы может привести к повышению внутриглазного давления и неэффективности лечения, что увеличивает риск необратимой потери зрения. Современные барьерные препараты для профилактики фиброза имеют ряд ограничений, включая токсичность, провокацию воспалительной реакции и технические сложности при применении в чувствительных тканях глаза. Это подчеркивает высокую актуальность разработки новых барьерных средств с улучшенной биосовместимостью и минимальными побочными эффектами для офтальмологической практики, в частности для хирургии глаукомы.

Цель. Оценка безопасности гидрогеля на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-KMЦ) в отношении клеточной линии L929 с целью определения его перспективности в качестве антифибротического препарата барьерного действия для применения в хирургии глаукомы.

Материалы и методы. В эксперименте использовалась культура фибробластов L929. Препарат применяли в концентрациях 2, 3 и 4%. Исследование включало микроскопический анализ, окрашивание кристаллическим фиолетовым, фотометрическое измерение оптической плотности, оценку жизнеспособности клеток с помощью трипанового синего и статистическую обработку данных (ANOVA, тест Тьюки, t-критерий Стьюдента).

Результаты. Установлено, что гидрогель на основе Na-KMЦ не вызывает цитотоксических эффектов и не ингибирует рост клеток в сравнении с контрольной группой. Наиболее выраженные отличия наблюдались при сравнении с актиномицином, где

подавление роста клеток было достоверно выше. Визуальная оценка микроскопических изображений подтвердила нормальную морфологию и плотность клеток в группах, обработанных Na-КМЦ.

Выводы. Гидрогель на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы проявляет высокую биосовместимость, не оказывает цитотоксического и антипролиферативного действия на фибробласты, что делает его перспективным для применения в хирургии глаукомы в качестве физического барьера для профилактики послеоперационного фиброза.

Ключевые слова: хирургия глаукомы, профилактика фиброза, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, антифибротический барьер, гидрогель

Bilalov E., Abdullaev A., Bilalov B., Oripov O. ✉
Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan

Experimental Assessment of the Safety of a New Anti-Fibrotic Barrier Agent Intended for Glaucoma Surgery – a Hydrogel Based on Sodium Carboxymethylcellulose

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: study design and organization – E. Bilalov; conducting experimental research – A. Abdullaev; statistical analysis, preparation of tables and figures – O. Oripov; manuscript preparation – B. Bilalov.

Acknowledgments: the authors express their gratitude to Professor A.A. Sarimsakov and his team for the development of the hydrogel based on sodium carboxymethylcellulose.

Funding: the authors received no additional funding for conducting the research and writing the article.

Submitted: 26.05.2025

Accepted: 08.09.2025

Contacts: okil.oripov@mail.ru

Abstract

Background. Postoperative adhesions represent a serious complication of surgical interventions, including ophthalmic surgeries, particularly glaucoma surgery. The development of fibrosis following glaucoma surgery can lead to elevated intraocular pressure and treatment failure, increasing the risk of irreversible vision loss. Current barrier agents used to prevent fibrosis have several limitations, including toxicity, induction of inflammatory responses, and technical challenges when applied to the sensitive tissues of the eye. This underscores the urgent need for the development of new barrier materials with improved biocompatibility and minimal side effects, specifically for use in ophthalmic practice and glaucoma surgery.

Purpose. To evaluate the safety of a sodium carboxymethylcellulose (Na-CMC)-based hydrogel on the L929 cell line to determine its potential as an anti-fibrotic barrier agent for application in glaucoma surgery.

Materials and methods. The experiment utilized a culture of L929 fibroblasts. The hydrogel was applied at concentrations of 2, 3, and 4%. The study included microscopic analysis, crystal violet staining, photometric measurement of optical density, assessment of cell viability using trypan blue exclusion, and statistical data analysis (ANOVA, Tukey's test, and Student's t-test).



Results. It was found that the Na-CMC-based hydrogel did not induce cytotoxic effects and did not inhibit cell growth compared to the control group. The most pronounced differences were observed in comparison with actinomycin, where cell growth inhibition was significantly higher. Visual evaluation of microscopic images confirmed normal cell morphology and density in the groups treated with Na-CMC.

Conclusion. The sodium carboxymethylcellulose-based hydrogel demonstrated high biocompatibility and did not exhibit cytotoxic or antiproliferative effects on fibroblasts, indicating its potential for use in glaucoma surgery as a physical barrier for the prevention of postoperative fibrosis.

Keywords: glaucoma surgery, fibrosis prevention, sodium carboxymethylcellulose, anti-fibrotic barrier, hydrogel

■ ВВЕДЕНИЕ

Послеоперационный фиброз представляет собой одну из основных проблем офтальмохирургии, особенно в хирургии глаукомы. Формирование фиброзной ткани в области хирургического вмешательства приводит к нарушению оттока внутриглазной жидкости, повышению внутриглазного давления и, как следствие, снижению эффективности лечения. Фиброз после операций на органе зрения является основной причиной неудач фильтрационных процедур при глаукоме и значительно ограничивает долгосрочные результаты хирургии [1–3].

Несмотря на развитие современных хирургических технологий и использование противofiброзных средств, проблема послеоперационного фиброза остается актуальной. Применение антифибротических агентов, таких как митомицин С и 5-фторурацил, сопровождается риском тяжелых побочных эффектов, включая цитотоксическое повреждение окружающих тканей, воспаление и повышенную вероятность инфекционных осложнений [4–6]. В связи с этим сохраняется необходимость в разработке безопасных и эффективных средств для профилактики фиброза, обладающих высокой биосовместимостью и отсутствием токсического действия на ткани глаза.

Одним из перспективных направлений является создание барьерных материалов, способных физически предотвращать контакт между травмированными тканями, тем самым препятствуя активации фибробластов и формированию рубцовой ткани [2, 7, 8]. В этом контексте особый интерес представляет гидрогель на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ), обладающий гидрофильными свойствами, высокой вязкостью и способностью равномерно покрывать поверхность тканей [9, 10]. За счет формирования защитной пленки гидрогель может выполнять роль физического барьера, предотвращая развитие фиброза без необходимости применения токсичных химических агентов [11, 12].

На сегодняшний день известно, что Na-КМЦ характеризуется хорошей биосовместимостью и минимальной цитотоксичностью, что делает его привлекательным кандидатом для применения в офтальмохирургии. Предполагается, что гидрогель на основе Na-КМЦ может эффективно препятствовать пролиферации фибробластов, способствуя профилактике послеоперационных спаек и рубцевания в области хирургического вмешательства при глаукоме [13–15].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести экспериментальную оценку безопасности нового антифибротического барьерного препарата, предназначенного для хирургии глаукомы, путем изучения влияния гидрогеля на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) на рост культуры клеток L929.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика исследуемого объекта – гидрогеля на основе натриевой карбоксиметилцеллюлозы

Общие сведения. Гидрогель на основе Na-КМЦ является медицинским изделием нового поколения, обладающим антипролиферативными свойствами. Он предназначен для предотвращения спаечных процессов при полостных хирургических вмешательствах, а также применяется в антиглаукоматозных операциях в офтальмологии. Препарат разработан в Институте химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбекистан под руководством профессора А.А. Саримсакова. Разработка защищена патентом Республики Узбекистан (приоритет патента IAP № 20110496 от 28.11.2011).

Производство. На опытном производстве Института химии и физики полимеров Академии наук Республики Узбекистан было изготовлено 5 серий гидрогеля, каждая объемом 10 мл. Это позволило начать доклинические исследования препарата и подтвердить его основные свойства.

Описание медицинского изделия. Гидрогель является стерильным, рассасывающимся материалом с высокой вязкостью. По внешнему виду он представляет собой однородную, прозрачную, бесцветную массу без запаха.

Физико-химические свойства. Молекулярная масса: от 46 000 до 138 000 дальтон. Степень замещения (СЗ) по карбоксиметильным группам – 0,86. Препарат хорошо смешивается с водой, практически не смешиваем в органических растворителях. При смешении с ацетоном и спиртом осаждается в виде белой массы.

Основные компоненты. Активное вещество – очищенная карбоксиметилцеллюлоза. Вспомогательные вещества – вода.

Профиль стерильности препарата после хранения. Проведена микробиологическая оценка стерильности гидрогеля после хранения в течение 6 месяцев при температуре +4 °С. Образцы инкубировали на жидких питательных средах в течение 14 суток при температуре 35±2 °С. Во всех образцах роста микроорганизмов не

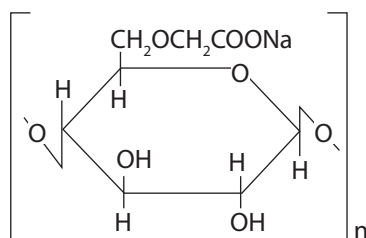


Рис. 1. Эмпирическая формула $[(\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_4)\text{-OCH}_2\text{-COONa}]_n$

Fig. 1. Empirical formula $[(\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_4)\text{-OCH}_2\text{-COONa}]_n$



обнаружено, что свидетельствует о сохранении стерильности и микробиологической стабильности препарата.

Предполагаемый способ введения и выбор доз. Гидрогель на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы наносится после завершения основного этапа операции на ткани в зоне хирургического вмешательства. При открытых операциях гидрогель выдавливают из шприца и наносят непосредственно на ткани. Количество вводимого препарата определяется индивидуально, в зависимости от клинической ситуации и области применения.

Экспериментальная часть. Экспериментальные исследования проводились в лаборатории при центре биомедицинских технологий при Ташкентской медицинской академии.

Перечень использованного оборудования для культивирования клеток: CO₂-инкубатор SANIO MCO801C; центрифуга Beckman; дозатор 2–20 мкл; дозатор 20–200 мкл; дозатор 12-канальный 20–300 мкл; холодильник Pozis XF400-1; фазово-контрастный инвертированный микроскоп с объективом 10× Nikon TMS; мини-орбитальный встряхиватель для микротитрационных планшетов Flow Laboratories Titertek; водяная баня Fisher Scientific; флаконы для клеточных культур соответствующего объема, стерильные Corning/Costar; стерильные 96-луночные планшеты для микротитрования Corning/Costar; вихревой смеситель VortexGenie2; ридер многофункциональный для микропланшета Synergy HT; микроскоп Zeiss Axiovert 40 CFL; объектив Zeiss A-plan 10×/0.25 Ph 1.

Перечень использованных реактивов представлен в табл. 1.

Метод культивирования клеток. При культивировании клеток соблюдались следующие условия: температура воздуха в помещении 24 °C; влажность в помещении 54%; температура в холодильнике 4 °C; температура в термостате 37 °C.

Для исследования использовались клетки линии L929. Концентрация клеток составила 1×10^6 клеток/мл. Ростовая среда – RPMI-1640 с добавлением 10% FBS. Подготовка клеток к испытаниям включала этапы культивирования в течение 3 и затем 4 дней. Процесс подготовки начинается с обработки клеток трипсином и их подсчета. Затем клетки высевают на 75 см² матрицу для культивирования с использованием

Таблица 1
Используемые реактивы
Table 1
Reagents used

Название	Производитель	Кат. номер
Среда MEM	Lonza	12-702F
Гентамицина сульфат, 10 мг/мл	БиолоТ	1.3.16
FBS	Gibco	10500
HEPES	Gibco	15630-056
L-глутамин	Gibco	25030-024
BSA	Sigma	A8412-100ML
Аламар (синий)	Invitrogen	DAL1100
Контрольный образец актиномицин	Sigma	A3415-2MG
Линия клеток L929	ATCC	CCL-1 NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L]

Таблица 2
Разведения препарата
Table 2
Dilutions of the preparation

Лунка	Разведение	Препарат/стандарт (1 мкг/мл), мкл	Объем среды, мкл
1	1	80	300
2	0,63	47	305
3	0,38	28	325
4	0,28	20	325
5	0,2	15	340
6	0,17	13	345
7	0,15	11	340
8	0,13	9	330

20 мл среды MEM Eagle с Earl и HEPES. В первый этап (3 дня) засевают $1,6 \times 10^6$ клеток и инкубируют при температуре 37 °C в атмосфере с 5% CO₂. По завершении этого этапа подсчитывают количество клеток и высевают на следующий срок (4 дня) с концентрацией 8×10^5 клеток на ту же матрицу с 20 мл среды. Инкубация проводится в тех же условиях – при 37 °C и 5% CO₂. Во время культивирования клетки должны демонстрировать свободный рост на дне сосуда с достаточным пространством между отдельными клетками. После завершения второго этапа инкубации (4 дня) клетки подсчитывают и разбавляют свежей средой до концентрации 60 000 клеток/мл. Затем клеточную суспензию помещают в ячейки испытательного планшета: в ячейки колонок 1–11 добавляют по 100 мкл суспензии клеток с соответствующей концентрацией, а в ячейки колонки 12 – по 100 мкл среды без клеток.

После 24-часовой инкубации в планшет переносят разведения испытуемого препарата. Препарат разводят до концентрации 1 мкг/мл при комнатной температуре согласно условиям, приведенным в табл. 2.

С использованием пипетки в испытуемый планшет помещают по 50 мкл каждого из 8 разведений препарата из ячеек разведения. В качестве контроля используют клетки без препарата, добавляя 50 мкл среды в соответствующие ячейки.

Таблица 3
Схема планшета
Table 3
Plate layout

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
B	200	ИО1	ИО1	ИО1	ИО1	ИО1	ИО1	ИО1	ИО1	200	200	200
C	200	ИО2	ИО2	ИО2	ИО2	ИО2	ИО2	ИО2	ИО2	200	200	200
D	200	ИО3	ИО3	ИО3	ИО3	ИО3	ИО3	ИО3	ИО3	200	200	200
E	200	АМ	АМ	АМ	АМ	АМ	АМ	АМ	АМ	200	200	200
F	200	КК	КК	КК	КК	КК	КК	КК	КК	200	200	200
G	200									200	200	200
H	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200

Примечания: ИО1 – исследуемый препарат 2%; ИО2 – исследуемый препарат 3%; ИО3 – исследуемый препарат 4%; АМ – актиномицин, контрольный препарат; КК – контроль клеток.



Испытуемый планшет инкубируют в течение 48 часов при температуре 37 °C и в атмосфере с 5% CO₂. Схема размещения в планшете представлена в табл. 3.

Процесс культивирования клеток был стандартизирован и включал этапы пассажа клеток, обеспечения их адекватной плотности и жизнеспособности, а также подготовки планшетов с равномерным распределением клеточной суспензии. Все манипуляции проводились в ламинарном боксе класса II с использованием стерильной посуды и одноразовых расходных материалов. Критически важным этапом являлось соблюдение однородности суспензии при заполнении лунок, что обеспечивало сопоставимость результатов.

Оценка клеточной жизнеспособности выполнялась с применением трипанового синего – стандартного метода определения количества живых и мертвых клеток, позволяющего дифференцировать клетки с поврежденной мембраной.

Окрашивание кристаллическим фиолетовым предоставляло возможность количественной оценки клеточной массы после фиксации, благодаря связыванию красителя с ДНК и белками. После 2-дневной инкубации жидкость из планшета удаляли путем переворачивания и энергичного однократного встряхивания. Затем пипеткой в каждую ячейку добавляли по 50 мкл раствора кристаллического фиолетового и выдерживают в течение 15 мин. По истечении времени раствор удаляют таким же способом. Планшет промывают 5 раз для удаления несвязанного красителя. Для промывки планшет погружают в воду, затем высушивают на бумажной салфетке. Процедуру повторяют 4 раза. После последней промывки планшет сушат при комнатной температуре в вытяжном шкафу в течение 30 мин. После высушивания в каждую ячейку пипеткой добавляют по 100 мкл реакционного раствора. Планшет перемешивают при скорости 300 об/мин в течение 15 мин, чтобы обеспечить равномерное растворение красителя. Измерение оптической плотности проводит фотометр при длине волны 620 нм. Обработку полученных данных выполняют с использованием программного обеспечения PLA 2.0 для построения четырехпараметрической кривой.

Обработка трипсином и подсчет клеток. Среду удаляют из культуры клеток, добавляют 3 мл фосфатно-солевого буферного раствора, аккуратно перемешивают и удаляют жидкую фазу. На клеточный слой наносят 3 мл раствора трипсин-ЭДТА и выдерживают 2–4 мин. Для остановки действия трипсина добавляют 22 мл свежей среды. Полученную суспензию клеток переносят в центрифужную пробирку вместимостью 50 мл и центрифугируют при температуре 4 °C и скорости 1100 об/мин в течение 10 мин. Надосадочную жидкость удаляют, осадок клеток ресуспендируют в 5 мл свежей среды. Для подсчета живых клеток смешивают 20 мкл клеточной суспензии с 80 мкл трипанового синего. Живые клетки подсчитывают под микроскопом, используя гемоцитометр (рис. 2).

Учет результатов. Значения флуоресценции измеряют в каждой лунке в относительных единицах с использованием прибора для считывания флуоресценции в планшетах. Для измерения используют длины волн возбуждения 530 нм и испускания 590 нм. Полученные данные фиксируют для последующей обработки и анализа.

Для минимизации субъективного влияния при интерпретации морфологических данных микроскопии была проведена слепая оценка. Изображения кодировались и анализировались 2 независимыми исследователями, не осведомленными о распределении групп. Консенсусное заключение формировалось на основе согласованных оценок, что обеспечивало снижение риска интерпретационного смещения (bias).

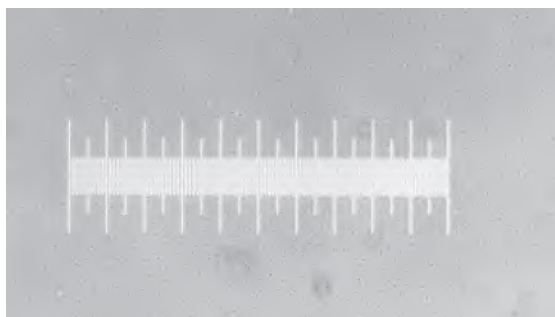


Рис. 2. Фотография объект-микрометра. Длина линейки 1 мм, 1 деление равно 0,01 мм
Fig. 2. Photograph of the object micrometer. The ruler length is 1 mm, one division is 0.01 mm

Методика статистической обработки результатов. В исследовании был использован однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) для сравнения средних значений между всеми группами на разных временных точках (24, 48, 72 ч) и тест Тьюки для попарного сравнения групп после ANOVA, что позволяет определить, какие группы различаются статистически значимо. Для проверки значимости различий между Na-KMЦ (4%) и актиномицином был использован t-критерий Стьюдента. Дисперсионный анализ (ANOVA) и t-критерий Стьюдента применялись для первичной оценки различий, при анализе данных с малым числом повторов дополнительно – непараметрический тест Манна – Уитни для межгруппового сравнения.

Этические аспекты. Данное исследование проведено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации и одобрено этическим комитетом Ташкентской медицинской академии. Все экспериментальные процедуры соответствовали институциональным и международным требованиям к проведению биомедицинских исследований.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

На представленном графике (рис. 3) отображена динамика изменения количества клеток в лунке в течение 72 ч наблюдения для контрольной группы (клеточная культура L929), актиномицина (референтный препарат с антипролиферативной активностью) и гидрогеля на основе Na-KMЦ в концентрациях 2, 3 и 4%. В лунке с актиномицином отмечалось выраженное подавление роста культуры клеток, в связи с чем средние показатели были достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в остальных исследуемых лунках. В контрольной группе наблюдается стабильный рост клеток, который увеличивается линейно на протяжении всего эксперимента, достигая максимума к 72 ч. Аналогичная тенденция прослеживалась в группах с 2 и 3% Na-KMЦ, где рост клеток несколько замедлен, но незначительно отличается от контроля. При концентрации 4% Na-KMЦ отмечался менее выраженный рост, однако средние показатели количества клеток не имеют статистически достоверных различий в сравнении с лунками с контролем и с концентрациями 2 и 3%.

На графике (рис. 4) представлена динамика изменения оптической плотности при длине волны 595 нм, что отражает метаболическую активность клеточной культуры L929 в различных экспериментальных группах. В контрольной группе наблюдается

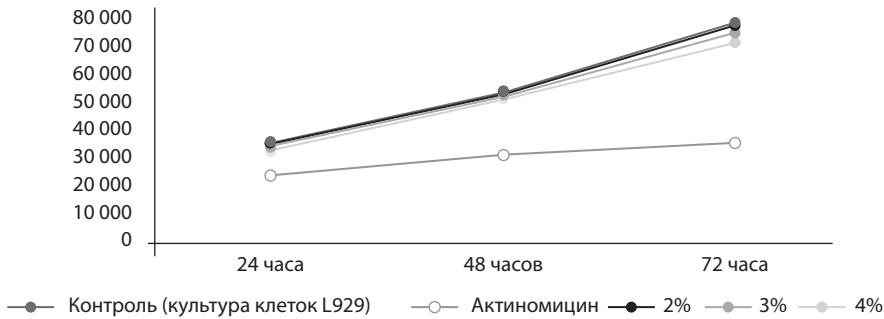


Рис. 3. Динамика показателя количества клеток в лунке в течение 72 ч наблюдения в разных лунках

Fig. 3. Dynamics of the cell count in a well during 72 hours of observation in different wells

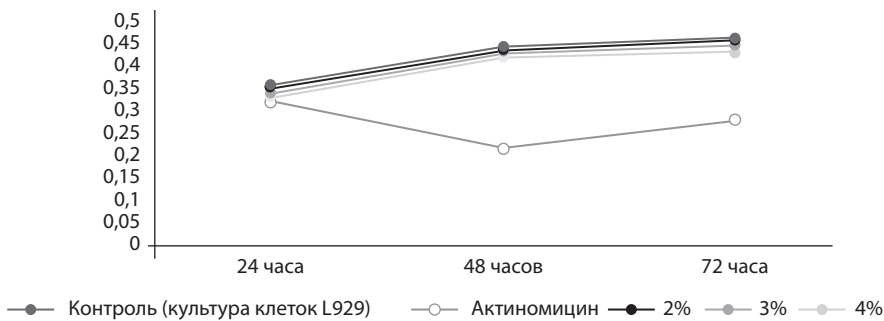


Рис. 4. Динамика показателя оптической плотности в лунке в течение 72 ч наблюдения в разных лунках

Fig. 4. Dynamics of the optical density in a well during 72 hours of observation in different wells

постепенный рост оптической плотности, что указывает на увеличение клеточной пролиферации. Аналогичная тенденция отмечается в группах с Na-KMЦ в концентрациях 2, 3 и 4%. Группы с 2 и 3% Na-KMЦ демонстрируют незначительные различия с контролем, подтверждая слабое влияние на метаболическую активность клеток.

Для оценки цитотоксического действия гидрогеля на основе Na-KMЦ на клеточную линию L929 была проведена количественная оценка жизнеспособности клеток методом окраски трипановым синим. Результаты представлены в табл. 4. Во всех группах с Na-KMЦ наблюдалась высокая жизнеспособность клеток на протяжении 72 ч, без признаков токсического действия. В отличие от них, в группе с актиномицином жизнеспособность снижалась прогрессивно, с достоверным уменьшением уже к 24 ч и выраженным падением к 72 ч.

В табл. 5 представлена морфологическая характеристика клеток через 48 ч инкубации (микроскопия, окраска кристаллическим синим). На представленных микроскопических изображениях (рис. 5) лунок через 48 ч наблюдения можно визуальнo оценить изменения в клеточной культуре под воздействием различных концентраций испытуемого препарата. Микроскопия клеток в контрольной лунке показывает, что клетки занимают значительную площадь лунки, демонстрируют нормальную

Таблица 4
Доля жизнеспособных клеток (%) по результатам окраски трипановым синим на 24, 48 и 72 ч (M±SD)
Table 4
Proportion of viable cells (%) according to the results of trypan blue staining at 24, 48 and 72 hours (M±SD)

Группа	24 ч	48 ч	72 ч
Контроль	97,5±0,9	96,3±1,1	94,8±1,4
Na-КМЦ 2%	96,8±1,2	95,2±1,3	93,6±1,5
Na-КМЦ 3%	95,4±1,3	93,7±1,6	92,1±1,7
Na-КМЦ 4%	94,0±1,5	91,4±1,8	89,9±2,1
Актиномицин	55,1±3,6	42,8±3,2	36,5±3,7

Таблица 5
Морфологическая характеристика клеток через 48 ч инкубации (микроскопия, окраска кристаллическим синим)
Table 5
Morphological characteristics of cells after 48 hours of incubation (microscopy, crystal blue staining)

Группа	Морфология клеток
Контроль	Клетки равномерно распределены по поверхности лунки, плотно прилегают к субстрату, имеют удлинённую фибробластную форму. Цитоплазма светлая, ядра овальной формы, видны четкие границы клеток. Признаков дегенерации или апоптоза не выявлено
Na-КМЦ 2%	Клетки сохраняют типичную фибробластную морфологию, структура сходна с контролем. Отмечается умеренное снижение плотности клеток, но без признаков деструкции. Ядра и цитоплазма отчетливо визуализируются, клеточный слой равномерный
Na-КМЦ 3%	Морфология клеток аналогична группе с 2% Na-КМЦ. Клетки жизнеспособны, распределены равномерно, межклеточные контакты сохранены. Незначительное снижение плотности, но без структурных изменений. Обнаруживаются единичные округлые клетки
Na-КМЦ 4%	Умеренное снижение клеточной плотности по сравнению с контролем. Клетки сохраняют удлинённую форму, присутствуют единичные клетки с округлой формой (возможно, на стадии деления или стресса), однако признаки апоптоза или лизиса отсутствуют
Актиномицин	Значительное снижение плотности клеток. Клетки преимущественно округлой формы, рыхло прикреплены, множество клеток в состоянии деструкции. Цитоплазма фрагментирована, ядра гиперхромны, отмечаются морфологические признаки апоптоза и некроза

морфологию и не имеют выраженных признаков дегенерации или гибели. В лунке с актиномицином отмечается выраженное снижение плотности клеток и признаки их гибели. Микроскопическая картина в лунках с 2, 3 и 4% растворами испытуемого препарата также практически аналогична картине в контрольной лунке.

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Проблема послеоперационного фиброза в хирургии глаукомы остается одной из основных причин неэффективности антиглаукоматозных операций. Активная пролиферация фибробластов в области хирургического вмешательства приводит к образованию рубцовой ткани, нарушению оттока внутриглазной жидкости и повышению внутриглазного давления [1, 3]. Стандартные антифибротические агенты, такие как митомицин С и 5-фторурацил, широко применяемые в офтальмологии, эффективны в подавлении фиброза, однако связаны с высоким риском токсических осложнений, включая некроз тканей, истончение склеры и воспаление [2, 4, 6].



Лунка с АМ (Well with Am)



2%



3%



4%



Контроль (Control)

Рис. 5. Снимки микроскопического исследования культур клеток после 48 ч инкубации в разных лунках (окраска кристаллическим синим)

Fig. 5. Microscopic images of cell cultures after 48 hours of incubation in different wells (stained with crystal blue)

В этом контексте разработка новых средств, обладающих барьерной функцией и высокой биосовместимостью без цитотоксических эффектов, является актуальной задачей. Представленный в данном исследовании гидрогель на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) показал высокую безопасность *in vitro* при воздействии на клеточную линию фибробластов L929. Полученные результаты демонстрируют отсутствие цитотоксического и антипролиферативного действия на клетки, что принципиально отличает его от стандартных антифибротических средств. Проведенное исследование подтвердило, что гидрогель Na-КМЦ не оказывает негативного влияния на клеточную морфологию, жизнеспособность и метаболическую

активность. Эти данные сопоставимы с результатами других работ [10–14], где гидрогели на основе карбоксиметилцеллюлозы применялись для профилактики фиброза в хирургии других локализаций, а также демонстрировали хорошую биосовместимость и эффективность. В частности, исследования применения Na-КМЦ в абдоминальной хирургии показали снижение частоты формирования спаек без существенного токсического влияния на ткани [13].

Важно отметить, что механизм действия гидрогеля Na-КМЦ, по всей вероятности, основан на создании физического барьера между поврежденными тканями, что препятствует их слипанию и активации фибробластов. Такой подход имеет значительное преимущество перед фармакологическим ингибированием клеточной пролиферации, поскольку позволяет минимизировать риск повреждения здоровых тканей и системных побочных эффектов [11, 15].

В данном исследовании использовались концентрации Na-КМЦ 2, 3 и 4%, что обусловлено следующими факторами. Во-первых, предварительные испытания показали, что при концентрациях свыше 4% гидрогель приобретает чрезмерно высокую вязкость, что затрудняет его равномерное нанесение на офтальмологические ткани и снижает клиническую применимость. Во-вторых, чрезмерная вязкость может препятствовать диффузии питательных веществ и кислорода к клеткам *in vitro*, искажая результаты цитотоксичности и жизнеспособности.

Гидрогели на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ) широко используются в клинической практике благодаря их высокой гидрофильности, способности образовывать биосовместимые и биоразлагаемые пленки, а также высокой прозрачности. Однако, по сравнению с Na-КМЦ, ПЭГ-гидрогели зачастую требуют химической модификации и наличия инициаторов сшивки, что может сопровождаться остаточной токсичностью. Кроме того, структура ПЭГ-гидрогелей менее вязкая, что может ограничивать их эффективность в удержании на офтальмологических поверхностях [2, 4, 5]. В отличие от них, Na-КМЦ демонстрирует природную вязкость, хорошую адгезию к тканям и не требует дополнительных компонентов для стабилизации, что делает его особенно удобным в хирургических условиях глаза. Исследования [10, 12, 14] также показывают, что гидрогели на основе Na-КМЦ обладают сопоставимой или лучшей антиадгезивной активностью по сравнению с ПЭГ-полимерами, при этом отличаясь меньшим риском иммуноопосредованных реакций.

Na-КМЦ является доступным и относительно недорогим полимером, широко применяемым в фармацевтической и пищевой промышленности, что делает его производство экономически выгодным, особенно учитывая то, что он является продуктом отечественного производства в Республике Узбекистан. Кроме того, простота применения Na-КМЦ-гидрогеля снижает требования к обучению медицинского персонала и не требует изменения хирургических протоколов, что дополнительно повышает его рентабельность.

Тем не менее основным ограничением данного исследования является его проведение исключительно *in vitro*. Несмотря на убедительные результаты на клеточной культуре, для окончательной валидации эффективности и безопасности гидрогеля необходимы дальнейшие *in vivo* испытания с использованием соответствующих моделей глаукоматозных операций. В таких исследованиях необходимо будет оценить не только способность материала предотвращать фиброз, но и его влияние на исход хирургии глаукомы, внутриглазное давление и визуальные функции пациентов.



Таким образом, полученные данные свидетельствуют о высоком потенциале гидрогеля на основе Na-КМЦ как нового антифибротического барьерного средства для офтальмохирургии. Его дальнейшее развитие и клиническая апробация могут значительно расширить арсенал безопасных методов профилактики послеоперационного фиброза в хирургии глаукомы.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что гидрогель на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) обладает высокой биосовместимостью и не оказывает цитотоксического или антипролиферативного воздействия на клетки фибробластной линии L929. В отличие от актиномицина, использование гидрогеля не сопровождалось снижением жизнеспособности клеток, что подтверждает его безопасность в условиях *in vitro*. Основной механизм действия Na-КМЦ-гидрогеля, вероятно, заключается в создании физического барьера, препятствующего развитию фиброзного процесса без активного вмешательства в клеточную пролиферацию. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения гидрогеля на основе Na-КМЦ в качестве антифибротического барьерного средства при хирургии глаукомы. Таким образом, гидрогель на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы продемонстрировал благоприятный профиль безопасности *in vitro*, однако дальнейшее его применение должно включать обязательную фазу исследований *in vivo*.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. De Oliveira CM, Ferreira JLM. Overview of cicatricial modulators in glaucoma fistulizing surgery. *International Ophthalmology*. 2020 Oct;40(10):2789–2796. doi: 10.1007/s10792-020-01454-w
2. Shao CG, Sinha NR, Mohan RR, Weibel AD. Novel Therapies for the Prevention of Fibrosis in Glaucoma Filtration Surgery. *Biomedicines*. 2023 Feb 21;11(3):657. doi: 10.3390/biomedicines11030657
3. Dave B, Patel M, Suresh S, Ginjupalli M, Surya A, Albdour M, Kooner KS. Wound Modulations in Glaucoma Surgery: A Systematic Review. *Bioengineering (Basel)*. 2024 Apr 30;11(5):446. doi: 10.3390/bioengineering11050446
4. Collotta D, Colletta S, Carlucci V, Fruttero C, Fea AM, Collino M. Pharmacological Approaches to Modulate the Scarring Process after Glaucoma Surgery. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023 Jun 19;16(6):898. doi: 10.3390/ph16060898
5. Sacchi M, Tomaselli D, Ruggeri ML, Aiello FB, Sabella P, Dore S, Pinna A, Mastropasqua R, Nubile M, Agnifili L. Fighting Bleb Fibrosis After Glaucoma Surgery: Updated Focus on Key Players and Novel Targets for Therapy. *Int J Mol Sci*. 2025 Mar 5;26(5):2327. doi: 10.3390/ijms26052327
6. Wolters JEJ, van Mechelen RJS, Al Majidi R, Pinchuk L, Webers CAB, Beckers HJM, Gorgels TGMF. History, presence, and future of mitomycin C in glaucoma filtration surgery. *Curr Opin Ophthalmol*. 2021 Mar 1;32(2):148–159. doi: 10.1097/ICU.0000000000000729
7. Park H, Baek S, Kang H, Lee D. Biomaterials to Prevent Post-Operative Adhesion. *Materials (Basel)*. 2020 Jul 8;13(14):3056. doi: 10.3390/ma13143056
8. Chen X, Feng Y, Zhang P, Ni Z, Xue Y, Liu J. Hydrogel Fibers-Based Biointerfacing. *Advanced Materials*. 2025 Jan;37(4):e2413476. doi: 10.1002/adma.202413476
9. Siebert T, Moersdorf G, Colberg T. Laparoscopic application of sodium hyaluronate-carboxymethylcellulose barrier in abdominopelvic surgery: A Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses for Systematic Review Protocols-compliant systematic review and meta-analysis. *Surgery*. 2024 May;175(5):1358–1367. doi: 10.1016/j.surg.2024.01.014
10. Kunjalukkal Padmanabhan S, Lamanna L, Friuli M, Sannino A, Demitri C, Licciulli A. Carboxymethylcellulose-Based Hydrogel Obtained from Bacterial Cellulose. *Molecules*. 2023 Jan 13;28(2):829. doi: 10.3390/molecules28020829
11. Santos Filho PVD, Hirano ES. Experimental evaluation of the use of starch and carboxymethylcellulose in the prevention of intraperitoneal adhesions in hernia surgery with coated meshes. *ACTA Cirúrgica Brasileira*. 2023 Sep 18;38:e383323. doi: 10.1590/acb383323
12. Deng Y, Wang B, Jiang H, Luan W, Pan B, Li C. Sodium Carboxymethylcellulose Serves as Sustained-Release Agents for Providing Analgesia at the Donor Site After Costal Cartilage Harvesting in Ear Reconstruction. *Aesthetic Plastic Surgery*. 2024 Nov 21. doi: 10.1007/s00266-024-04504-1
13. DSouza AA, Amiji MM. Dual-Polymer Carboxymethyl Cellulose and Poly(Ethylene Oxide)-Based Gels for the Prevention of Postsurgical Adhesions. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A*. 2025 Jan;113(1):e37852. doi: 10.1002/jbm.a.37852
14. Budharaju H, Bagewadi S, Devanathan P, Chellappan D, Chinnaswamy P, Sethuraman S, Sundaramurthi D. Carboxymethyl cellulose-agarose hydrogel in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) nanofibers: A novel tissue engineered skin graft. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024 Apr;264(Pt 1):130565. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.130565
15. Lin G, Ramdas S, Hadid H, Van Vleet J, Lue TF, Poulakidas S. Regulating Tissue Growth Factors for Healing With Etherified Carboxymethylcellulose Matrix. *Journal of Burn Care & Research*. 2024 Nov 14;45(6):1566–1576. doi: 10.1093/jbcr/irae124