

Основан в 2013 г.

Беларусь

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь 11.02.2013
Свидетельство № 1603

Учредители:
УП «Профессиональные издания»,
ГУ «Республиканский
научно-практический центр "Мать и дитя"»,
ГУО «Белорусская медицинская академия
последипломного образования»,
УО «Белорусский государственный
медицинский университет»

Адрес редакции:
220049, Минск, ул. Кнорина, 17,
Республика Беларусь.
Тел.: +375 (17) 322-16-77, 322-16-78
e-mail: deti@recipe.by

Директор Евтушенко Л.А.
Заместитель главного редактора Жабинский А.В.
**Руководитель службы рекламы
и маркетинга** Коваль М.А.
Технический редактор Каулькин С.В.

Украина

Журнал зарегистрирован
Государственной регистрационной
службой Украины 02.04.2013
Свидетельство КВ № 19798-9598Р

Учредители:
УП «Профессиональные издания»,
Национальная медицинская академия
последипломного образования
имени П.Л. Шупика

Офис в Украине:
ООО «Профессиональные издания. Украина»
04116, Киев, ул. Старокиевская, 10-г,
сектор «В», офис 201

Контакты:
тел.: +38 (044) 33-88-704, +38 (067) 102-73-64
e-mail: pl_info@ukr.net

Подписка

в каталоге РУП «Белпочта» (Беларусь)
индивидуальный индекс – **00113**
ведомственный индекс – **001132**

00113 – единый индекс в электронных каталогах
«Газеты и журналы» на сайтах агентств:
ООО «Информнаука» (Российская Федерация),
ЗАО «МК-Периодика» (Российская Федерация),
ГП «Пресса» (Украина),
ГП «Пошта Молдовей» (Молдова),
АО «Летувос паштас» (Литва),
ООО «Подписное агентство PKS» (Латвия),
Фирма «INDEX» (Болгария),
Kubon&Sagner (Германия)

По вопросам приобретения журнала
обращайтесь в редакцию в Минске
и офис издательства в Киеве

Электронная версия журнала доступна
на сайте deti.recipe.by, в Научной электронной
библиотеке eLibrary.ru, в базе данных East View,
в электронной библиотечной системе IPRbooks

Подписано в печать: 02.07.2020
Тираж 1 000 экз. (Беларусь)
Тираж 6 000 экз. (Украина)
Заказ № 2406

Журнал выходит 1 раз в 3 месяца.
Цена свободная

Формат 70x100 1/16. Печать офсетная

Отпечатано в типографии
ФЛП Нестерова Л.О. тел. +3 8068 22 62 444

Беларусь

Украина

Главный редактор

Сукало Александр Васильевич,
академик НАН Беларуси, д.м.н., проф.,
заведующий 1-й кафедрой детских болезней
Белорусского государственного медицинского
университета

Редакционная коллегия:

Аверин В.И., д.м.н., проф. (Минск)
Байко С.В., д.м.н., доц. (Минск)
Беляева Л.М., д.м.н., проф. (Минск)
Войтович Т.Н., д.м.н., проф. (Минск)
Парамонова Н.С., д.м.н., проф. (Гродно)
Прилуцкая В.А., к.м.н., доц. (Минск)
Солнцева А.В., д.м.н., проф. (Минск)
Титова Н.Д., д.м.н., доц. (Минск)

Редакционный совет:

Василевский И.В., д.м.н., проф. (Минск)
Волчок В.И. (Минск)
Герасименко М.А., д.м.н., проф. (Минск)
Гнедько Т.В., к.м.н., доц. (Минск)
Кувшинников В.А., д.м.н., проф. (Минск)
Лысенко И.М., д.м.н., проф. (Витебск)
Максимович Н.А., д.м.н., проф. (Гродно)
Мараховский К.Ю., к.м.н. (Минск)
Наумчик И.В., к.м.н. (Минск)
Романова О.Н., д.м.н., проф. (Минск)
Улезко Е.А., д.м.н., доц. (Минск)

Главный редактор

Бекетова Галина Владимировна,
д.м.н., проф., заведующая кафедрой
детских и подростковых заболеваний
Национальной медицинской академии
последипломного образования имени П.Л. Шупика

Редакционная коллегия:

Абатуров А.Е., д.м.н., проф. (Днепр)
Волосовец А.П., член-корр. НАМН Украины,
д.м.н., проф. (Киев)
Волоха А.П., д.м.н., проф. (Киев)
Крамарев С.А., д.м.н., проф. (Киев)
Кривопустов С.П., д.м.н., проф. (Киев)

Редакционный совет:

Беляев А.В., д.м.н., проф. (Киев)
Бережной В.В., д.м.н., проф. (Киев)
Беш Л.В., д.м.н., проф. (Львов)
Бондаренко А.В., д.м.н., проф. (Киев)
Добрянский Д.А., д.м.н., проф. (Львов)
Жербу Л., д.м.н., проф. (Клермон-Ферран, Франция)
Знаменская Т.К., д.м.н., проф. (Киев)
Иванов Д.Д., д.м.н., проф. (Киев)
Каладзе Н.Н., д.м.н., проф. (Симферополь)
Квашнина Л.В., д.м.н., проф. (Киев)
Косаковский А.Л., д.м.н., проф. (Киев)
Крючко Т.А., д.м.н., проф. (Полтава)
Лаббе А., д.м.н., проф. (Клермон-Ферран, Франция)
Лапшин В.Ф., д.м.н., проф. (Киев)
Леженко Г.А., д.м.н., проф. (Запорожье)
Мозговая Г.П., д.м.н., проф. (Киев)
Нагорная Н.В., д.м.н., проф. (Донецк)
Наконечная А., д.м.н., проф. (Ливерпуль, Великобритания)
Охотникова Е.Н., д.м.н., проф. (Киев)
Попп М., д. ест. н., проф. (Ноймаркт, Германия)
Савичук Н.О., д.м.н., проф. (Киев)
Сенаторова А.С., д.м.н., проф. (Харьков)
Татарчук Т.Ф., член-корр. НАМН Украины,
д.м.н., проф. (Киев)
Третьякова О.С., д.м.н., проф. (Симферополь)
Цодикова О.А., д.м.н., проф. (Харьков)
Шадрин О.Г., д.м.н., проф. (Киев)
Штиерна П., д.м.н., проф. (Стокгольм, Швеция)
Шунько Е.Е., член-корр. НАМН Украины,
д.м.н., проф. (Киев)
Яцковска Т., д.м.н., проф. (Варшава, Польша)

Рецензируемое издание

Журнал включен в международные базы EBSCO, Ulrich's Periodicals Directory, РИНЦ.

Журнал входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований (решение коллегии ВАК от 27.06.2013, протокол № 15/3).

Ответственность за точность приведенных фактов, цитат, собственных имен и прочих сведений, а также за разглашение закрытой информации несут авторы.

Редакция может публиковать статьи в порядке обсуждения, не разделяя точки зрения автора.

Ответственность за содержание рекламных материалов и публикаций с пометкой «На правах рекламы» несут рекламодатели.

International Scientific Journal

Pediatrics. Eastern Europe

PEDIATRIJA. VOSTOCHNAJA EVROPA

deti.recipe.by

2020 Volume 8 Number 2

Founded in 2013

Belarus

The journal is registered
in the Ministry of information
of the Republic of Belarus 11.02.2013
Registration certificate № 1603

Founders:
UE "Professional Editions",
Republican Scientific Practical Center "Mother and Child",
Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education,
Belarusian State Medical University

Address of the editorial office:
220049, Minsk, Knorin str., 17,
Republic of Belarus.
Phone: +375 (17) 322-16-77, 322-16-78
e-mail: deti@recipe.by

Director Evtushenko L.
Deputy editor-in-chief Zhabinski A.
Head of advertising and marketing Koval M.
Technical editor Kaulkin S.

Ukraine

The journal is registered
at the State registry
of Ukraine 02.04.2013
Registration certificate № 19798-9598P

Founders:
UE "Professional Editions",
Shupyk National Medical Academy
of Postgraduate Education

Representative office in Ukraine:
LLC "Professional Editions. Ukraine"
04116, Kyiv, Starokievskaya str., 10-g,
sector "B", office 201

Contacts:
phone: +38 (044) 33-88-704, +38 (067) 102-73-64
e-mail: pi_info@ukr.net

Subscription

in the Republican unitary enterprise "Belposhta" (Belarus)
individual index – **00113**
departmental index – **001132**

Index **00113** in the electronic catalogs "Newspapers
and Magazines" on web-sites of agencies:
LLC Interpochta-2003 (Russian Federation),
LLC Informnauka (Russian Federation),
JSC MK-Periodika (Russian Federation),
SE Press (Ukraine),
SE Poshta Moldovey (Moldova),
JSC Letuvos pashtas (Lithuania),
LLC Subscription Agency PKS (Latvia),
INDEX Firm agency (Bulgaria),
Kubon&Sagner (Germany)

Concerning acquisition of the journal address to the editorial
office in Minsk and publishing house representation in Kyiv

The electronic version of the journal
is available on deti.recipe.by,
on the Scientific electronic library elibrary.ru,
in the East View database, in the electronic
library system IPRbooks

Sent for the press: 02.07.2020.
Circulation is 1 000 copies (Belarus)
Circulation is 6 000 copies (Ukraine)
Order № 2406

The frequency of journal is 1 time in 3 months.
The price is not fixed

Format 70x100 1/16. Litho

Printed in printing house
Nesterova L.O. phone: +3 8068 22 62 444

© "Pediatrics. Eastern Europe"

Copyright is protected. Any reproduction of materials of the edition is possible only with written
permission of edition with an obligatory reference to the source.

© "Professional Editions" Unitary Enterprise, 2020

© Design and decor of "Professional Editions" Unitary Enterprise, 2020

Belarus

Editor-in-Chief

Alexander V. Sukalo,
Acad. of the NAS of Belarus, Dr. of Med. Sci., Prof.,
head of the 1st department of children's diseases of
the Belarusian State Medical University

Editorial Board:

Averin V., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Bayko S., Dr. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Belyaeva L., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Paramonova N., Dr. of Med. Sci., Prof. (Grodno)
Prilutskaya V., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Solntseva A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Titova N., Dr. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Voitovich T., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)

Editorial Council:

Gerasimenko M., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Gnedko T., Cand. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Kuvshinnikov V., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Lysenko I., Dr. of Med. Sci., Prof. (Vitebsk)
Maksimovich N., Dr. of Med. Sci., Prof. (Grodno)
Marakhovsky K., Cand. of Med. Sci. (Minsk)
Naumchik I., Cand. of Med. Sci. (Minsk)
Romanova O., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Ulezko E., Dr. of Med. Sci., Assoc. Prof. (Minsk)
Vasilevsky I., Dr. of Med. Sci., Prof. (Minsk)
Volchok V. (Minsk)

Ukraine

Editor-in-Chief

Galina V. Beketova,
Dr. of Med. Sci., Prof., head of the department of paediatric
and adolescent diseases of the Shupyk National Medical
Academy of Postgraduate Education

Editorial Board:

Abaturov A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Dnipro)
Kramarev S., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Krivopustov S., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Volokha A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Volosovets A., Assoc. of NAMS of Ukraine,
Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)

Editorial Council:

Belyaev A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Berezhnoy V., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Besh L., Dr. of Med. Sci., Prof. (Lviv)
Bondarenko A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Dobryansky D., Dr. of Med. Sci., Prof. (Lviv)
Gerbaud L., Dr. of Med. Sci., Prof. (Clermont-Ferrand, France)
Ivanov D., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Jackowska T., Dr. of Med. Sci., Prof. (Warsawa, Poland)
Kaladze N., Dr. of Med. Sci., Prof. (Simferopol)
Kosakovsky A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Kruchko T., Dr. of Med. Sci., Prof. (Poltava)
Kvashnina L., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Labbe A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Clermont-Ferrand, France)
Lapshin V., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Lezhenko G., Dr. of Med. Sci., Prof. (Zaporozhye)
Mozgovaya G., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Nagornaya N., Dr. of Med. Sci., Prof. (Donetsk)
Nakonechna A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Liverpool, Great Britain)
Okhotnikova E., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Popp M., Dr. Rer. Nat., Prof. (Neumarkt, Germany)
Savichuk N., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Senatorova A., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kharkov)
Tatarchuk T., Assoc. of NAMS of Ukraine,
Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Tretjakova O., Dr. of Med. Sci., Prof. (Simferopol)
Tsodikova O., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kharkov)
Shadrin O., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Stierna P., Dr. of Med. Sci., Prof. (Stockholm, Sweden)
Shunko E., Assoc. of NAMS of Ukraine,
Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)
Znamenskaya T., Dr. of Med. Sci., Prof. (Kyiv)

Peer-Reviewed Edition

The journal is included in the international scientific databases EBSCO, Ulrich's Periodicals Directory, RSCI.

The journal is included into a List of scientific publications of the Republic of Belarus for the publication of the results of the dissertation research (HCC board decision of 27.06.2013, protocol № 15/3).

Responsibility for the accuracy of the given facts, quotes, own names and other data, and also for disclosure of the classified information authors bear.

Editorial staff can publish articles as discussion, without sharing the point of view of the author.

Responsibility for the content of advertising materials and publications with the mark "On the Rights of Advertising" are advertisers.

COVID-19

Болезнь Kawasaki у детей
и педиатрический воспалительный
мультисистемный синдром,
связанный с SARS-CoV-2,
в период пандемии
(клиническая лекция)
Бекетова Г.В., Солдатова О.В. 157

Оригинальные исследования

Характеристика функциональной
активности нейтрофилов
у детей с острой пневмонией
в зависимости от тяжести течения
патологического процесса и
этиологического фактора
*Парамонова Н.С.,
Малолетникова И.М.* 169

Влияние высокочастотного тока
на показатели клеточной гибели
суспензии живых клеток
*Косаковская И.А., Ватлицов Д.В.,
Андряш В.В.* 177

Показатели региональной
оксигенации у новорожденных
с анемическим синдромом
Санковец Д.Н., Гнедько Т.В. 184

Анализ распространенности
компьютерной игровой
зависимости среди школьников
подросткового возраста
в мегаполисе
Цодикова О.А., Гарбар Е.Б. 196

Точность и эффективность
определения костного возраста
методом Грейлиха – Пайла
у детей Республики Беларусь
*Багинский В.А., Денисов С.Д.,
Солнцева А.В.* 206

Определение сывороточного
бис(метилтио)глиотоксина
и галактоманна у детей
с онкологическими
и гематологическими заболеваниями
Кондаурова С.Л., Баслык К.С. 218

Критерии обоснованной
витаминопрофилактики
при хронической патологии
у детей
Ровбуль Т.И. 227

Обзоры. Лекции

Нарушение половой
дифференцировки:
новые концепции диагностики
и ведения пациентов
детского возраста
Солнцева А.В. 239

Ретинобластома: клинические
проявления и особенности
диагностики у детей
Макаревич О.О. 251

Полиненасыщенные жирные
кислоты и развитие ребенка
Колупаева Е.А. 259

Дискуссионный клуб

Терапия антибиотиками
как фактор риска развития
ожирения у детей
Абатуров А.Е., Никулина А.А. 268

В помощь врачу

Резолюция Экспертного совета
по оценке эффективности
и безопасности применения
Линекс Беби® и Линекс® Детские
капли при различных симптомах
нарушений желудочно-кишечного
тракта 291

Актуально

Взрослые проблемы украинской
педиатрии 304

Педиатрия в лицах 306

COVID-19

Kawasaki Disease in Children and Pediatric Multisystem Inflammatory Syndrome Associated with SARS-CoV-2 During the Pandemic (Clinical Lecture)
Beketova G., Soldatova O. 157

Original Researches

Characteristics of Functional Activity of Neutrophils in Children with Acute Pneumonia Depending on the Severity of the Pathological Process and Etiological Factor
Paramonova N., Maloletnikova I. 169

Influence of High-Frequency Current on the Indicators of Cell Death of Suspension of Living Cells
Kosakivska I., Vatlitsov D., Andryash V. 177

Regional Oxygenation in Neonates with Anemia
Sankovets D., Hnedzko T. 184

Analysis of the Prevalence of Computer Gaming Addiction among Teenage Students in the Metropolis
Tsodikova O., Harbar K. 196

Accuracy and Effectiveness of Bone Age Assessment with Greulich – Pyle Method in Children of the Republic of Belarus
Baginskiy V., Denisov S., Solntseva A. 206

Determination of Serum Bis(Methylthio)Gliotoxin and Galactomannan in Children with Oncological and Hematological Diseases
Kandaurava S., Baslyk K. 218

Criteria of Justified Vitamin Prevention of Chronic Pathology in Children
Rovbut's T. 227

Reviews. Lectures

Disorders of Sex Development: New Concepts of Diagnostics and Management in Children
Solntsava A. 239

Retinoblastoma: Clinical Manifestations and Diagnostic Features in Children
Makarevich O. 251

Polyunsaturated Fatty Acids and Development of Children
Kolupaeva E. 259

Discussion Club

Antibiotic Therapy as a Risk Factor of Obesity Development in Children
Abaturov A., Nikulina A. 268

Уважаемые коллеги! Дорогие друзья!

2020 год оказался для нас достаточно сложным. 31 декабря 2019 года власти Китая проинформировали ВОЗ о вспышке неизвестной пневмонии в городе Ухань, провинция Хубэй. Изначально мировое сообщество не догадывалось о масштабах и последствиях этого «предновогоднего подарка», но уже 30 января 2020 года ВОЗ признала вспышку нового коронавируса чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение. 11 февраля 2020 года ВОЗ присвоила официальное название инфекции, вызванной новым коронавирусом, – COVID-19 («Coronavirus disease 2019»), а Международный комитет по таксономии вирусов присвоил официальное название возбудителю инфекции – SARS-CoV-2.

Высокая контагиозность, тяжелое течение и смертность сделали COVID-19 самым опасным заболеванием в XXI веке как по числу человеческих жертв, так и по негативному влиянию на мировую экономику. Несмотря на высокий уровень развития технологий и колоссальные денежные вложения, пройдет еще немало времени, прежде чем будет найдено адекватное решение для борьбы с инфекцией, а также разработаны профилактические меры по предупреждению подобных ситуаций.

Во всех странах мира, в том числе и в Беларуси, медицинские работники, как на фронте, на передовой линии обороны, принимают главный удар инфекции и сами становятся жертвами COVID-19. На текущий момент, по предварительным оценкам, число зараженных коронавирусом медиков в мире превысило число инфицированных в Китае. Только грамотное использование принципов инфекционного контроля в сочетании со средствами индивидуальной защиты может помочь снизить риск распространения COVID-19 среди них.

Заболееваемости COVID-19 подвержены люди всех возрастов, в том числе дети, хотя они, по-видимому, страдают реже. В Беларуси нет педиатрического лечебного учреждения, которое не столкнулось бы с данной инфекцией. Как и во всем мире, белорусские педиатры накапливают опыт по клинике, диагностике и принципам лечения COVID-19 в детском возрасте, постоянно обсуждают и делятся своим опытом с коллегами.

На фоне продолжающейся пандемии появлялись сообщения о детях с мультисистемным воспалительным синдромом, который имеет общие клинические особенности с болезнью Кавасаки (БК), синдромом шока БК и синдромом токсического шока. Частота его неизвестна, и, по-видимому, он является редким постинфекционным осложнением COVID-19 у детей. Эпидемиология

мультисистемного воспалительного синдрома отличается от классической БК и заключается в том, что большинство случаев его наблюдается у детей старшего возраста и подростков, которые ранее были здоровы. Лечение мультисистемного воспалительного синдрома у детей требует консолидации многих специалистов: специалиста по детским инфекционным заболеваниям, детского ревматолога, кардиолога, реаниматолога и гематолога, врачей-эпидемиологов. Тем не менее изучение COVID-19 у детей продолжается. Необходимо помнить, что за каждым диагнозом стоят маленький пациент и его жизнь.

Данный номер открывается клинической лекцией ведущих педиатров Украины, посвященной болезни Кавасаки у детей и педиатрическому воспалительному мультисистемному синдрому, связанному с SARS-CoV-2.

Заведующая кафедрой детских инфекционных
болезней БГМУ,
главный внештатный специалист
по детским инфекционным болезням
Министерства здравоохранения
Республики Беларусь
доктор медицинских наук, профессор
Романова Оксана Николаевна



Заведующая кафедрой эпидемиологии
и микробиологии БелМАПО,
член Экспертного совета по иммунизации
Министерства здравоохранения
Республики Беларусь
доктор медицинских наук, профессор
Коломиец Наталья Дмитриевна



DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2020.8.2.003>
УДК 616-07:061.62

Косаковская И.А., Ватлицов Д.В., Андрияш В.В.
Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика,
Киев, Украина

Kosakivska I., Vatlitsov D., Andryash V.
Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

Влияние высокочастотного тока на показатели клеточной гибели суспензии живых клеток

Influence of High-Frequency Current on the Indicators of Cell
Death of Suspension of Living Cells

Резюме

Введение. При совершенствовании традиционных хирургических методик перспективным направлением является использование высокочастотной биполярной электротермоадгезии биологических тканей.

Цель. Изучить влияние различных режимов высокочастотного тока на показатели клеточной гибели суспензии живых клеток при электротермоадгезии в эксперименте.

Материалы и методы. Проведены исследования с применением электротермоадгезии (ЭТА) на линейной перевиваемой культуре Namalwa в 24 луночных планшетах, концентрация 1×10^6 клеток/мл. В качестве высокочастотного источника тока использовали биполярный электрокоагулятор EK-300M1.

Результаты и обсуждение. Исследование влияния различных режимов ЭТА и гальванокаутера на показатели клеточной гибели показало, что даже непродолжительная экспозиция ЭТА и гальванокаутера приводит к значительным изменениям в показателях гибели клеток. Так, наблюдался рост количества Annexin V+/PI- клеток в образцах, которые подвергались ЭТА в режимах «сварка», «перекрытие» и «коагуляция», а также после использования гальванокаутера, на основании чего можно сделать вывод о мембранно-ориентированном влиянии указанных манипуляций. Изменения количества Annexin V+/PI+ указывают на отсутствие деструктивного влияния режимов ЭТА «сварка», «коагуляция» и гальванокаутера на цитоплазматическую мембрану клеток культуры Namalwa. Важным является тот факт, что ЭТА и гальванокаутер не оказывали влияния на митохондрии клеток, что отражалось в отсутствии изменений количества клеток с пониженным митохондриальным мембранным потенциалом (PI-/R123-). Наиболее деструктивным оказался режим ЭТА «резка», что подтверждается статистически значимо ($p < 0,05$) большими значениями количества Annexin V+/PI+ (поздняя стадия апоптоза) и PI+/R123- (некроз) клеток при снижении концентрации Annexin V+/PI-.

Выводы. Проведенные исследования выявили зависимость количества клеток, имеющих признаки гибели по различным типам, от режима ЭТА. Было показано, что наибольшее деструктивное влияние суспензия клеток претерпела под воздействием высокочастотного тока (66 кГц) в режиме «резка», а наименьшее – в режиме «сварка».

Полученные результаты указывают на то, что ЭТА влияет не только на молекулы коллагена или эластина, но и на структурные элементы цитоплазматической мембраны клеток. Интересен тот факт, что проведенные исследования не выявили влияния ЭТА на внутриклеточные структуры.

Ключевые слова: апоптоз, эксперимент, электротермоадгезия, биполярный электрокоагулятор, высокочастотный ток, суспензия живых клеток.

Abstract

Introduction. The use of high-frequency bipolar electric thermal adhesion of biological tissues is a promising direction in the improvement of traditional surgical methods.

Purpose. To study the effect of different modes of high-frequency current on the rates of cell death of living cells suspension in electric thermal adhesion in experiment.

Materials and methods. There were conducted the studies with the use of electric thermal adhesion (ETA) at the line of inoculation of Namalwa culture in 24-well plates with concentration of 1×10^6 cells/ml. Bipolar electric coagulator EK-300M1 was used as the source of high-frequency current.

Results and discussion. The study of the influence of various ETA and galvanocauter modes on cell death rates showed that even a short exposure of ETA and galvanocauter leads to significant changes in the cell death rates. Thus, the increase of the number of Annexin V+/PI- cells was observed in the samples subjected to ETA in the "welding", "overlapping" and "coagulation" modes, as well as after using a galvanocauter, on the base of which it is possible to make the conclusion about the membrane-oriented effect of these manipulations. Changes in the number of Annexin V+/PI+ indicate the absence of a destructive effect of the ETA "welding", "coagulation" and galvanocauter modes on the cytoplasmic membrane of Namalwa culture cells. It is important that ETA and the galvanocauter did not affect the mitochondria of the cells, which was reflected in the absence of changes in the number of cells with the reduced mitochondrial membrane potential (PI-/R123-). The most destructive ETA regime was "cutting", which is confirmed by statistically significant ($p < 0.05$) large values of the number of Annexin V+/PI+ (late stage apoptosis) and PI+/R123- (necrosis) cells with the decrease of the concentration of Annexin V+/PI-.

Conclusions. There was found the dependence of the number of cells with different signs of death on the mode of ETA. The cell suspension underwent the greatest destructive effect under the influence of the high-frequency current (66 kHz) in "cutting" mode and the minimum effect – in "welding" mode. The obtained results indicate that ETA affects not only the molecules of collagen or elastin, but also the structural elements of the cytoplasmic membranes of the cell. An important point is that the studies found no effect of ETA on intracellular structures.

Keywords: apoptosis, experiment, electric thermal adhesion, bipolar electric coagulator, high-frequency current, cells suspension.

■ ВВЕДЕНИЕ

Традиционно для разъединения и соединения тканей и гемостаза во время хирургических вмешательств используют скальпель, монополярный электронож, зажимы, шовный материал. Данные методики имеют определенные недостатки, в частности, отторжение шовного материала, ожог и некроз тканей, необходимость длительного времени для хирургического вмешательства и гемостаза, длительное заживление ран, образование рубцов и деформации тканей, что отрицательно влияет на конечный результат лечения.

Перспективным направлением при совершенствовании традиционных хирургических методик является использование высокочастотной биполярной электротермоадгезии (ЭТА) биологических тканей [1].

Оборудование для сварки живых тканей состоит из двух частей, которые вместе составляют единый электросварочный хирургический комплекс. Это высокочастотный источник питания (генераторы высокочастотного тока) и специализированный электрохирургический инструментарий.

Рабочая частота тока источника ЕК-300М1 составляет 66 кГц и имеет 4 режима работы: резка, коагуляция, перекрытие (ручная сварка) и сварка (автоматическая сварка). Данный аппарат может работать с любыми инструментами, созданными для сварки живых тканей.

Высокочастотный ток подается на биполярный инструмент и подводится к тканям оперируемого пациента. Электрохирургический эффект резки, коагуляции и сварки базируется на обеспечении достаточно высокой степени воздействия на биологическую ткань узкого потока высокочастотного тока между концами биполярного сварочного электроинструмента. Ток и напряжение в процессе сварки задаются и контролируются системой автоматического управления.

В основе высокочастотной биполярной электросварки биологических тканей лежит принцип использования термической энергии для разъединения и соединения тканей [2]. В результате действия температурного фактора (в пределах 40–70 °С) происходит испарение внеклеточной и внутриклеточной жидкости, разрыв клеточных мембран и образование гомогенного субстрата, который состоит из денатурированных белковых молекул эластина и коллагена. При застывании они образуют «белковые мостики», которые удерживают соединенные поверхности тканей [3, 4]. Под воздействием электрического тока происходит дозированная денатурация молекул белков. Свободные окончания молекул белка в дальнейшем вступают в соединение друг с другом. Вариантами соединения являются как реполяризация, так и запуск различных реакций. Реполяризация волокон коллагена, образование соединений между различными коллагеновыми волокнами, коллагеновыми и мышечными волокнами, волокнами и мембранами клеток приводит к соединению двух участков ткани. Наличие полноценных волокон коллагена на линии шва создает морфологическую основу прочности электросварочного соединения.

Доказанным является тот факт, что изменение полярности или электрохимического потенциала мембран клеток приводит к активации программируемой клеточной гибели. Одним из триггерных механизмов запуска программы гибели является деполяризация плазматической мембраны клеток, что активирует FAS-рецепторы клеток [5], также перемобилизация мембран приводит к запуску каспаза-независимых путей развития апоптоза [6].

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния различных режимов высокочастотного тока на показатели клеточной гибели суспензии живых клеток при электротермоадгезии в эксперименте.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на линейной перевиваемой культуре Namalwa в 24 луночных планшетах, концентрация 1×10^6 клеток/мл.

Использовали культуральную среду RPMI-1640 с L-глутамином (Sigma), добавлением 10% FBS (Sigma) и антибиотиков в бактериостатической концентрации.

Обработку суспензии клеток проводили в асептических условиях с использованием аппарата биполярного высокочастотного (66 кГц) коагулятора EK-300M1 в режимах «сварка», «коагуляция», «перекрытие», «резка» и гальванокаутера («каутер») с экспозицией 1 с. в культуральной среде с максимальным погружением без касания стенок планшета.

Состояние клеток после применения различных режимов ЭТА оценивали по показателям индекса апоптоза и изменениям митохондриального мембранного потенциала. Для определения влияния различных режимов ЭТА изучали уровень апоптоза по анексиновому методу и изменениям мембранного потенциала митохондрий после 3 часов инкубации на питательной среде при 37 °С.

Исследование уровня апоптоза анексиновым методом с использованием набора для определения апоптоза Annexin V-FITC Apoptosis detection Kit I (BD Bioscience Pharmingen, США) и изменений мембранного потенциала митохондрий (ММП), по общепринятой методике с родамином 123 («Fluka»), проводили на проточном цитометре PAS (Partec, Германия). Результаты, полученные с использованием проточного цитометра, дифференцировали следующим образом: Annexin V+ (AnV+) – клетки на разных стадиях апоптоза; AnV+/PI– – клетки на ранней стадии апоптоза; AnV+/Propidium Iodide+ (PI+) – клетки на поздней стадии апоптоза; Rhodamine 123– (R123–)/PI– – клетки, погибшие в результате апоптоза; R123–/PI+ – клетки, погибшие в результате некроза; R123+/PI+ – клетки с нарушением проницаемости цитоплазматической мембраны.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Statistica, применяли t-критерий Стьюдента и описательную статистику. Доверительные интервалы средних значений определяли путем подсчета стандартной ошибки. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования прямого влияния ЭТА на злокачественно трансформированные клетки иммунной системы (Namalwa) обнаружили статистически значимые отличия влияния различных режимов ЭТА на уровень Annexin V+ (апоптотические) (рис. 1). Так, 1 с. экспозиция в режиме «сварки» привела к статистически значимому ($p < 0,05$) увеличению количества Annexin V+ клеток до $8,65 \pm 1,63\%$ (здесь и далее – $M \pm SD$) относительно контрольного значения $6,81 \pm 0,60\%$, в режиме «коагуляция» – до значения $10,24 \pm 0,67\%$, в режиме «перекрытие» – до $10,06 \pm 2,71\%$, в режиме «резка» – до $10,27 \pm 2,27\%$, а использование каутера увеличило количество Annexin V+ клеток до $11,66 \pm 2,55\%$ после 3-часовой инкубации на питательной среде (рис. 1).

Следующим этапом экспериментальных исследований было изучение влияния различных типов ЭТА на различные стадии и типы клеточной гибели. Использование предложенных методик в ходе исследований позволило дифференцировать как тип гибели, апоптоз или некроз, так и стадию развития апоптоза. Дифференцировали раннюю

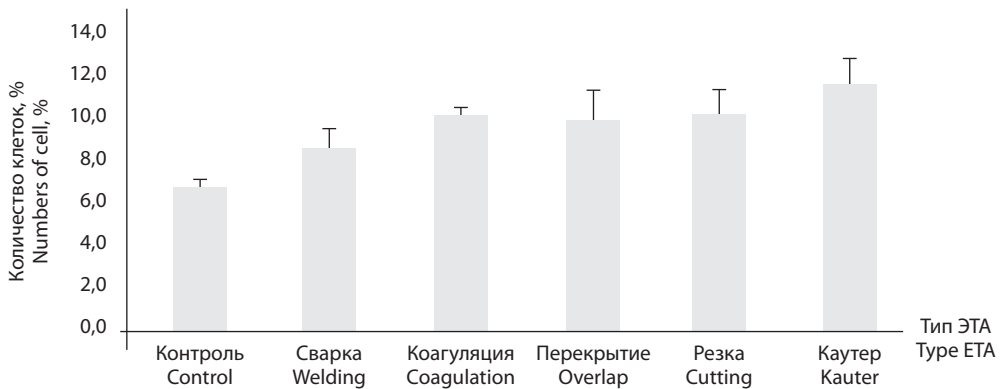


Рис. 1. Изменение количества Annexin V+ (апоптотических) клеток в зависимости от типа электротермоадгезии после 1 с. экспозиции

Fig. 1. Change of the number of Annexin V+ (apoptotic) cells depending on the type of electrothermal adhesion after 1 s exposure

стадию (Annexin V+/PI-) и позднюю (Annexin V+/PI+), откуда отнимали значение количества некротических клеток (PI+/Rhodamine 123-). Итак, результаты, полученные в ходе проведенных исследований, выявили, что наибольшее влияние на мембранные структуры клеток (Nanalwa) имели манипуляции ЭТА в режиме «коагуляция» и каутер $8,98 \pm 0,58\%$ и $10,02 \pm 2,65\%$ соответственно против $5,45 \pm 0,44\%$ контрольного значения количества Annexin V+/PI- клеток. Что касается других режимов, то ЭТА в режимах «сварка» и «перекрытие» приводила к почти идентичным изменениям количества Annexin V+/PI- клеток – $7,24 \pm 1,74\%$ и $7,34 \pm 2,38\%$ соответственно. Наименьшее количество Annexin V+/PI- клеток, меньше контрольного значения, было обнаружено в образцах, которые подвергались 1 с. экспозиции ЭТА в режиме «резка» (рис. 2).

Исследование влияния различных режимов ЭТА на количество Annexin V+/PI+ (поздняя стадия апоптоза) выявило, что использование ЭТА в режимах «сварка» и «коагуляция», а также 1 с. экспозиция при использовании каутера почти не влияло на количество Annexin V+/PI+ клеток Nanalwa ($1,44 \pm 0,20\%$; $1,26 \pm 0,17\%$ и $1,63 \pm 0,24\%$ соответственно), показатель в контрольных образцах – $1,27 \pm 0,19\%$. Однако использование ЭТА в режиме «перекрытие» приводило к статистически значимому ($p < 0,05$), более чем в два раза, увеличению Annexin V+/PI+ клеток ($2,72 \pm 0,78\%$), а использование ЭТА в режиме «резка» – к увеличению показателя более чем в четыре раза ($5,33 \pm 0,81\%$) (рис. 2).

Важным показателем «стабильности» клеточной системы является активность митохондрий клеток. Снижение митохондриального мембранного потенциала отражает развитие митохондрий-зависимого апоптоза, однако, исходя из того, что апоптоз является энергозависимым процессом и зависит от активного синтеза АТФ, функционирование митохондрий является крайне важным фактором развития клеточной гибели. Итак, определение изменений митохондриального мембранного потенциала при исследовании клеточной гибели является крайне важным, поскольку отражает не только количество клеток, погибших

путем апоптоза (PI-/Rhodamine 123-), но и нарушение целостности цитоплазматической мембраны (PI+/Rhodamine 123+) и количество клеток, погибших путем некроза (PI+/Rhodamine 123-). Было показано, что ЭТА и коагутер, кроме режима «коагуляция» ($4,03 \pm 0,28\%$), не влияют на мембранный потенциал митохондрий, что отражалось в отсутствии статистически значимых отличий от значений контрольных образцов ($4,87 \pm 0,35\%$). Однако изучение нарушения проницаемости цитоплазматической мембраны клетки после воздействия различных режимов ЭТА и коагутера выявило статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение количества клеток с повышенной проницаемостью цитоплазматической мембраны после 1 с. экспозиции ЭТА в режимах «коагуляция» ($2,99 \pm 0,234\%$), «перекрытие» ($3,68 \pm 0,59\%$), «резка» ($5,40 \pm 0,72\%$) и коагутер ($2,65 \pm 0,78\%$) относительно контрольного значения $1,76 \pm 0,11\%$.

По количеству клеток, погибших вследствие некроза, выявлено некоторое снижение количества PI+/Rhodamine 123- (некроз) клеток в образцах после 1 с. экспозиции ЭТА в режиме «коагуляция» ($0,11 \pm 0,01\%$), экспозиция ЭТА в других режимах приводила к статистически значимому ($p < 0,05$) увеличению количества PI+/Rhodamine 123- клеток до $0,24 \pm 0,05\%$ в режиме «перекрытие», $0,36 \pm 0,05\%$ в режиме «резка» и $0,20 \pm 0,09\%$ при использовании коагутера (рис. 2).

Таким образом, исследование влияния различных режимов ЭТА и гальванокоагутера на показатели клеточной гибели показало, что даже непродолжительная экспозиция ЭТА и гальванокоагутера приводит к значительным изменениям в показателях гибели клеток. Так, наблюдался рост количества Annexin V+/PI- клеток в образцах, которые подвергались ЭТА в режимах «сварка», «перекрытие» и «коагуляция», а также после использования гальванокоагутера, на основании чего можно сделать вывод о мембранно-ориентированном влиянии указанных манипуляций. Изменения количества Annexin V+/PI+ указывают на отсутствие деструктивного влияния режимов ЭТА «сварка», «коагуляция» и гальванокоагутера на цитоплазматическую мембрану клеток культуры

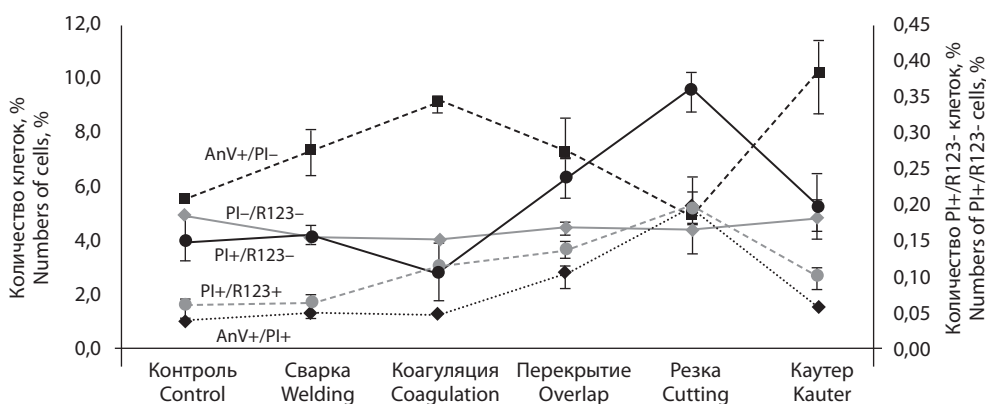


Рис. 2. Влияние различных типов электротермоадгезии на количество клеток на разных стадиях и типах клеточной гибели

Fig. 2. The effect of various types of electrothermal adhesion on the number of cells at different stages and types of cell death

Namalwa, поскольку не наблюдалось увеличения количества клеток с инкорпорированным PI, который является суправитальным красителем. Важным является тот факт, что ЭТА и гальванокаутер не оказывали влияния на митохондрии клеток, что отражалось в отсутствии изменений количества клеток с пониженным митохондриальным мембранным потенциалом (PI-/R123-). Наиболее деструктивным оказался режим ЭТА «резка», что подтверждается статистически значимо ($p < 0,05$) большими значениями количества Annexin V+/PI+ (поздняя стадия апоптоза) и PI+/R123- (некроз) клеток при снижении концентрации Annexin V+/PI-.

Проведенные исследования выявили зависимость количества клеток, имеющих признаки гибели по различным типам, от режима ЭТА. Было показано, что наибольшее влияние суспензия клеток претерпела при использовании ЭТА в режиме «резка», а самое маленькое – в режиме «сварка».

Полученные результаты указывают на то, что ЭТА влияет не только на молекулы коллагена или эластина, но и на структурные элементы цитоплазматической мембраны клеток. Интересен тот факт, что проведенные исследования не выявили влияния ЭТА на внутриклеточные структуры клеток.

■ ВЫВОДЫ

1. Количество клеток, имеющих признаки гибели по различным типам, зависит от режима электротермоадгезии. Наибольшее деструктивное влияние суспензия клеток претерпевает при использовании электротермоадгезии в режиме «резка», а наименьшее – в режиме «сварка».
2. Под воздействием высокочастотного тока (66 кГц) с экспозицией 1 с. в культуральной среде наблюдаются изменения цитоплазматической мембраны клеток, а внутриклеточные структуры сохраняются неповрежденными.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. (2009) *Tkanesohranljusčaja visokochastotnaja elektrovarochnaja hirurgija* [Tissue-saving high-frequency electrowelding surgery]. Atlas. K.: Naukova dumka, 200 p. (in Russian)
2. Paton Bye (2004). Elektrycheskaja svarka mjadgkih tkanei v hirurgii [Electric welding of soft tissues in surgery]. *Avtomatičeskaja svarka*, vol. 9, pp. 7–11.
3. Novitsky Y.W., Rosen M.J., Harrell A.G. (2005). Evaluation of the efficacy of the electrosurgical bipolar vessel sealer (LigaSure) devices in sealing lymphatic vessels. *Surg Innov.*, vol. 2, pp. 155–160.
4. Shen W.T., Baumbusch M.A., Kebebew E., Duh Q.Y. (2005) Use of the electrothermal vessel sealing system versus standard vessel ligation in thyroidectomy. *Asian J. Surg. Apr.*, vol. 28(2), pp. 86–9.
5. Bortner C.D., Gomez-Angelats M., Cidlowski J.A. (2001). Plasma Membrane Depolarization without Repolarization Is an Early Molecular Event in Anti-Fas-induced Apoptosis. *J. Biol. Chem.*, vol. 276, pp. 4304–4314. doi:10.1074/jbc.M005171200
6. Dübmann H., Rehm M., Kögel D., Prehn J.H.M. (2003). Outer mitochondrial membrane permeabilization during apoptosis triggers caspase-independent mitochondrial and caspase-dependent plasma membrane potential depolarization: a single-cell analysis. *J. Cell Sci.* vol. 116, pp. 525–536. doi:10.1242/jcs.00236

Поступила/Received: 22.03.2020

Контакты/Contacts: alkoss@ukr.net