

Электронеурографическое исследование диафрагмального нерва у здоровых детей

В.Б. Войтенков¹, В.Н. Команцев², Н.В. Скрипченко¹, Е.В. Екушева³, А.В. Климкин¹, А.И. Аксёнова¹

¹ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства»;
Россия, 197022 Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 9;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева»
Минздрава России; Россия, 192019 Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 3;

³ФГБОУ ДПО «Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства»;
Россия, 125371 Москва, Волоколамское шоссе, 91

Контакты: Владислав Борисович Войтенков vlad203@inbox.ru

Введение. В отличие от параметров проведения по диафрагмальному нерву у здоровых взрослых, которые отличаются устойчивостью, у детей в норме с возрастом наблюдается разброс показателей.

Цель исследования – изучение латентности и амплитуды М-ответа при электронеурографическом (ЭНГ) исследовании диафрагмального нерва у здоровых детей разного возраста для создания нормативной базы нейрофизиологических данных.

Материалы и методы. Обследованы 48 здоровых детей (28 девочек и 20 мальчиков). Средний возраст составил $9,19 \pm 3,43$ года (1–18 лет). ЭНГ-исследование диафрагмального нерва проводили с использованием модифицированной 3-канальной регистрации М-ответа с диафрагмы при стимуляции правого диафрагмального нерва в области внешнего края нижней трети грудино-ключично-сосцевидной мышцы при параллельном контроле наличия вызванных ответов с дельтовидной, передней зубчатой мышцами, что позволяет избежать нежелательных артефактов исследования.

Результаты. Получены средние значения латентности М-ответа $5,64 \pm 1,25$ мс и амплитуды – $0,66 \pm 0,34$ мВ. При разделении группы детей на возрастные подгруппы 1–2 года ($n = 7$), 3–5 лет ($n = 9$), 6–12 лет ($n = 15$) и 13–18 лет ($n = 17$) латентность составила $4,96 \pm 1,94$; $5,01 \pm 1,13$; $5,42 \pm 0,84$ и $6,44 \pm 1,43$ мс и амплитуда – $1,01 \pm 0,37$; $0,87 \pm 0,31$; $0,61 \pm 0,24$ и $0,45 \pm 0,21$ мВ соответственно. Показатели амплитуды М-ответа у детей 1–2 лет достоверно отличались от таковых у детей в возрасте 6–12 и 13–18 лет.

Заключение. ЭНГ-исследование диафрагмального нерва является простым в исполнении и интерпретации результатов методом. При проведении ЭНГ диафрагмального нерва у детей необходимо учитывать возрастную вариабельность латентности и амплитуды М-ответа. Показатели амплитуды М-ответа у здоровых детей раннего возраста (1–2 года) достоверно выше таковых у детей 6–18 лет.

Ключевые слова: диафрагмальный нерв, нормативные данные, амплитуда, латентность, М-ответ, дети

Для цитирования: Войтенков В.Б., Команцев В.Н., Скрипченко Н.В. и др. Электронеурографическое исследование диафрагмального нерва у здоровых детей. Нервно-мышечные болезни 2018;8(2):53–8.

DOI: 10.17650/2222-8721-2018-8-2-53-58

Conduction studies of phrenic nerve in healthy children

V.B. Voitenkov¹, V.N. Komantsev², N.V. Skripchenko¹, E.V. Ekusheva³, A.V. Klimkin¹, A.I. Aksenova¹

¹Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases of the Federal Medical-Biological Agency of Russia;
9 Professora Pavlova St., Saint Petersburg 197022, Russia;

²V.M. Bekhterev National Medical Research Center of Psychiatry and Neurology; Ministry of Health of Russia;
3 Bekhtereva St., Saint Petersburg 192019, Russia;

³Institute of Advanced Training of the Federal Medical-Biological Agency of Russia; 91 Volokolamskoe shosse, Moscow 125371, Russia

Background. Unlike parameters of phrenic nerve conduction in healthy adults characterized by stability, in children variations with age are observed. **The objective** is to investigate the M-wave latency and amplitude in electroneurographic (ENG) examination of the phrenic nerve in healthy children of different ages for development of a normative database of neurophysiological data.

Materials and methods. 48 healthy children (28 girls and 20 boys) were examined. Mean age was 9.19 ± 5.43 years (1–18 years). ENG examination of the phrenic nerve was performed with the modified standard procedure of stimulation at the level of the outer margin of the lower third of the sternocleidomastoid muscle with registration of M-wave from standard diaphragm point and parallel registration of the muscle activity from m.deltoideus and m.serratus anterior.

Results. Mean values of the M-response latency were 5.64 ± 1.25 ms, amplitude – 0.66 ± 0.34 mV. For age-differentiated subgroups 1–2 years ($n = 7$), 3–5 years ($n = 9$), 6–12 years ($n = 15$), and 13–18 years ($n = 17$), the latency was 4.96 ± 1.94 ; 5.01 ± 1.13 ; 5.42 ± 0.84 ,

and 6.44 ± 1.43 ms, respectively; the amplitude was 1.01 ± 0.37 ; 0.87 ± 0.31 ; 0.61 ± 0.24 , and 0.45 ± 0.21 mV, respectively. The M-response amplitude values in children aged 1–2 years significantly differed from the values in children aged 6–12 and 13–18 years.

Conclusion. ENG examination of the phrenic nerve is a technically uncomplicated procedure, and the obtained data is easy to interpret. During phrenic nerve ENG in children, it is necessary to take age variability of the M-wave latency and amplitude into account. The M-wave amplitude in healthy toddlers (1–2 years old) was significantly lower than in children aged 6–18 years.

Key words: phrenic nerve, normative data, amplitude, latency, M-wave, children

For citation: Voitenkov V.B., Komantsev V.N., Skripchenko N.V. et al. Conduction studies of phrenic nerve in healthy children. *Nervno-myshechnye bolezni = Neuromuscular Diseases* 2018;8(2):53–8.

Введение

Диафрагмальный нерв (*n.phrenicus*) – парный смешанный нерв, образованный передними ветвями СIII–CV спинномозговых корешков шейного сплетения. Большую часть диафрагмального нерва составляют двигательные волокна, которые иннервируют диафрагму, участвуя в акте дыхания. Около трети волокон являются чувствительными, иннервируют плевру, перикард (перикардиальная ветвь, *r. pericardiacus*) и покрывающую диафрагму брюшину (диафрагмально-брюшинные ветви, *nn. phrenicoabdominales*) [1].

Одностороннее поражение диафрагмального нерва протекает, как правило, асимптомно и обычно является случайной находкой при рентгенографии легких. Поражение проявляется симптомокомплексом «сухого плеврита» или «затянувшейся стенокардии», не купируемой валидолом или нитроглицерином. Возникающая при этом боль может иррадиировать в область шеи и плеча, усиливаться при глотании, глубоком дыхании и кашле [2], иногда наблюдается ослабление нижнего диафрагмального дыхания (т.е. при вдохе исчезает движение передней брюшной стенки), реже – пароксизмы длительной икоты. Билатеральная патология диафрагмального нерва приводит к снижению переносимости физической нагрузки, диспноэ, ортопноэ или одышке в положении лежа, гиперкапнической дыхательной недостаточности, выраженной утомляемости и повышению артериального давления. В ряде случаев развиваются серьезные жизнеугрожающие состояния [2–4]. Новорожденным с двусторонним поражением диафрагмального нерва требуется искусственная вентиляция легких.

В клинической практике при поражении диафрагмального нерва, передних рогов и передних корешков III–IV шейных сегментов спинного мозга наблюдается парадоксальный тип дыхательных движений брюшной стенки, при которых объем грудной клетки уменьшается во время вдоха и увеличивается во время выдоха, т.е. происходят дыхательные движения «с точностью наоборот». Рентгенологическими признаками данного процесса являются высокое стояние и неподвижность диафрагмы.

Регистрация M-ответа при электронейрографическом (ЭНГ) исследовании диафрагмального нерва

с анализом латентности и амплитуды позволяет объективно оценить функциональное состояние собственно нерва и диафрагмы [3, 5].

Первые исследования по измерению скорости проведения по диафрагмальному нерву (которая составила 78 м/с) на трупном материале были выполнены еще в 1936 г. [6]. В 1948 г. была предпринята одна из первых попыток электрических стимуляций диафрагмального нерва в лечебных целях [7]. В 1967 г. впервые ЭНГ диафрагмального нерва в клинических условиях выполнена английским неврологом J.N. Davis, зарегистрировавшим у взрослых лиц среднюю латентность M-ответа $7,7 \pm 0,8$ мс [8]. Аналогичное исследование у детей впервые проведено А. Мооса в 1981 г. Было продемонстрировано, что латентность M-ответа диафрагмального нерва у детей пропорциональна длине нерва по мере увеличения роста ребенка [9].

Нормативные данные исследуемых параметров M-ответа при ЭНГ диафрагмального нерва у взрослых и детей приводятся в ряде работ (см. таблицу). Латентность M-ответа и показатели проведения по диафрагмальному нерву у взрослых различаются стабильностью и малым разбросом. В детской популяции наблюдается, во-первых, больший разброс латентности и амплитуды, во-вторых, представленные данные отличаются значительной вариабельностью в разных возрастных группах, что затрудняет их оценку и применение в клинической практике.

Это обуславливает необходимость набора собственных нормативных данных нейрофизиологических показателей для диафрагмального нерва у детей.

Цель исследования – изучение вариабельности латентности и амплитуды M-ответа при ЭНГ-исследовании диафрагмального нерва у здоровых детей разного возраста.

Материалы и методы

В Детском научно-клиническом центре инфекционных болезней в целях создания собственной нормативной базы нейрофизиологических данных были обследованы 48 здоровых детей (28 девочек и 20 мальчиков). Средний возраст составил $9,19 \pm 3,43$ года (1–18 лет). Регистрацию M-ответа с диафрагмы

Показатели латентности и амплитуды М-ответа диафрагмы при ЭНГ-исследовании диафрагмального нерва по данным литературы
Literature data on the phrenic nerve M-wave latency and amplitude measured by electroneurography

Автор, год Author, year	Латентность М-ответа, мс M-wave latency, ms	Амплитуда М-ответа, мВ M-wave amplitude, mV	Пациенты, возраст Patients, age
J.N. Davis, 1967 [8]	7,7 ± 0,8	—	Взрослые Adults
I.C. MacLean, T.A. Mattioni, 1981 [10]	7,4 ± 0,6	0,8 ± 0,4 (0,2–2)	Взрослые Adults
M. Carvalho et al., 1991 [11]	7,77 ± 0,20	0,62–0,91	Взрослые Adults
U. Zifko et al., 1996 [12]	6,5 ± 0,8	0,66 ± 0,21	Взрослые Adults
T. Similowski et al., 1997 [13]	6,57 ± 0,97	0,45–0,87	Взрослые Adults
H.J. Lee, J. DeLisa, 2004 [14]	7,7 ± 0,8	0,16–0,50	Взрослые Adults
S. Podnar, 2013 [2]	6,48–6,51	0,84–0,96	Взрослые Adults
D.C. Preston, B.E. Shapiro, 2013 [15]	6,3 ± 0,8	0,68 ± 0,14	Взрослые Adults
A. Moosa, 1981 [9]	(2,6 ± 0,3) – (4,2 ± 0,7) (с возрастом)	—	Дети, 1–15 лет Children, 1–15 years
M.C. Martinez de Posadas et al., 1997 [16]	4,78–6,0 (с возрастом), ± 0,31	—	Дети, 1–15 лет Children, 1–15 years
T. Imai et al., 2000 [17]	6,2 ± 0,9	0,45 ± 0,31	Дети до 1 года Children younger than 1 year
T. Imai et al., 2000 [17]	5,7 ± 0,5	0,47 ± 0,31	Дети, 1–4 года Children, 1–4 years
R.I. Russell et al., 2001 [18]	4,8–6,3 (с возрастом)	—	Дети, 1–18 лет Children, 1–18 years

Примечание. ЭНГ – электронейрографический.
Note. ENG – electroneurographic.

проводили при наложении активного электрода на мечевидный отросток грудины, референтного – на VII межреберный промежуток по срединно-ключичной линии [10]. Чтобы избежать параллельную стимуляцию волокон плечевого сплетения и регистрацию артефакта активности дельтовидной и зубчатой мышц, что может отразиться на показателях латентности, уменьшая ее в среднем на 3 мс [19], использована модифицированная схема 3-канальной регистрации с наложением регистрирующих электродов также на дельтовидную мышцу и переднюю зубчатую мышцу (рис. 1).

Отсутствие или минимизация активации других эфферентов контролировалась амплитудой М-ответа с дельтовидной и передней зубчатой мышц. Для получения М-ответа максимальной амплитуды во время вдоха предъявляли электрический стимул на уровне нижней трети наружного края грудино-ключично-сосцевидной мышцы; максимальная сила тока 40 мА,

длительность стимула 0,2 мс. Регистрацию проводили на 4-канальном электронейромиографе Нейро-МВП (Нейрософт, Россия). Законные представители детей, родители или попечители, подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Для статистической оценки полученных данных применяли дисперсионный анализ на базе компьютерной программы Statistica для Windows 7.0. Обработку результатов проводили с использованием программы Microsoft Excel для Windows 7.0. Последующий анализ полученных данных позволил построить графики распределения величин амплитуд и латентностей М-ответа с изображением полиномиальной линии тренда, расчетом коэффициента аппроксимации R^2 .

Результаты

Все обследуемые дети хорошо перенесли ЭНГ-исследование, жалоб на болевые ощущения или иной

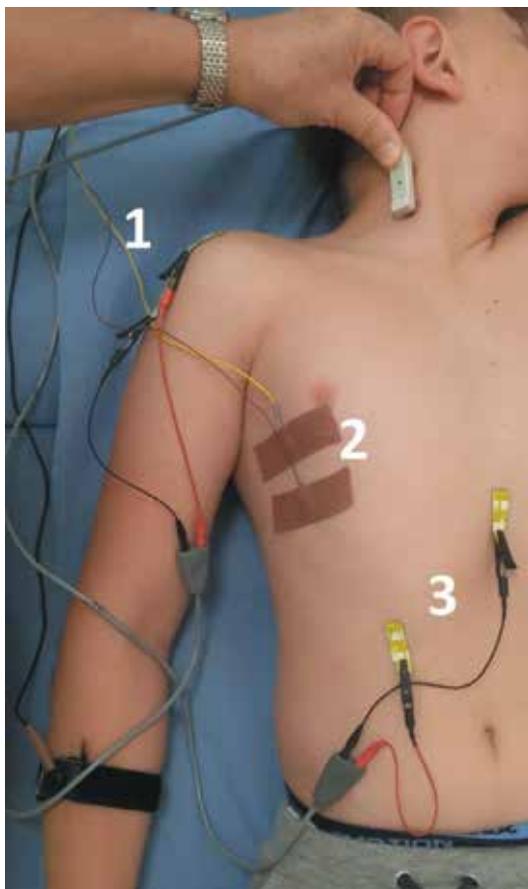


Рис. 1. Схема наложения электродов при модифицированной 3-канальной регистрации при стимуляции правого диафрагмального нерва. Расположение активных электродов для отведения М-ответа: 1 – с дельтовидной мышцы, 2 – с передней зубчатой мышцы, 3 – с диафрагмы. Референтные электроды – провода красного и желтого цвета. Заземляющий электрод располагается на предплечье, стимулирующий электрод – в проекции внешнего края нижней трети грудино-ключично-сосцевидной мышцы

Fig. 1. Diagram of electrode localization for modified 3-channel registration with stimulation of the right phrenic nerve. Location of the active electrodes for M-wave recording: 1 – from the deltoid muscle, 2 – from the serratus anterior, 3 – diaphragm. Reference electrodes are red and yellow cables. Grounding electrode is located on the forearm, stimulating electrode – on the projection of the outer margin of the lower third of the sternocleidomastoid muscle

дискомфорт не предъявляли. Предельная сила тока, при которой регистрировался М-ответ максимальной амплитуды, не превышала 40 мА. Средние значения латентности и амплитуды М-ответа по всей группе соответственно составили $5,64 \pm 1,25$ мс и $0,66 \pm 0,34$ мВ. При разделении на возрастные подгруппы 1–2 года ($n = 7$), 3–5 лет ($n = 9$), 6–12 лет ($n = 15$) и 13–18 лет ($n = 17$) латентность составила $4,96 \pm 1,94$; $5,01 \pm 1,13$; $5,42 \pm 0,84$ и $6,44 \pm 1,43$ мс, амплитуда – $1,01 \pm 0,37$; $0,87 \pm 0,31$; $0,61 \pm 0,24$ и $0,45 \pm 0,21$ мВ соответственно. Значения амплитуды М-ответа для детей в возрасте 1–2 лет отличались от таковых у детей в возрасте 6–12 и 13–18 лет ($p < 0,05$). При этом достоверных различий латентности между детьми разного возраста не получено.



Рис. 2. Нормальный М-ответ с диафрагмы при стимуляции диафрагмального нерва у ребенка 12 лет

Fig. 2. Normal M-wave from the diaphragm during stimulation of the phrenic nerve in a child aged 12

На рис. 2 представлен пример нормального М-ответа при ЭНГ диафрагмального нерва у ребенка 12 лет.

Обсуждение

Полученные результаты демонстрируют существенную вариабельность значений латентности и амплитуды вызванного М-ответа при стимуляции диафрагмального нерва у здоровых детей. При этом наблюдались тенденция к увеличению показателей латентности с возрастом и достоверное снижение показателей амплитуды. Последнее обстоятельство отражает увеличение толщины мышечно-кожного слоя с возрастом и, соответственно, ухудшение условий регистраций с относительно глубоко залегающей мышцы, как диафрагма.

Вызванный при стимуляции нерва М-ответ представляет собой сумму ответов двигательных единиц иннервируемой им мышцы. Показатель латентности М-ответа и скорость распространения импульса косвенно отражают длину проводника (в данном случае *n. phrenicus*), в то время как показатель амплитуды М-ответа свидетельствует о числе активированных двигательных единиц. Таким образом, увеличение значения латентности М-ответа закономерно и объясняется увеличением длины проводника с возрастом. Эти данные совпадают с результатами, полученными ранее при оценке проведения по другим моторным нервам, обычно анализируемым при нейрофизиологических исследованиях [20].

Наличие базы нормативных показателей ЭНГ-исследования диафрагмального нерва у детей и взрослых необходимо для исключения neuropathies, поражения цервикальных сегментов спинного мозга, а также при прогнозе дыхательной недостаточности у пациентов с острой и хронической патологией периферической нервной системы (синдром Гийена–Барре,

перинатальная травма шейного сплетения, боковой амиотрофический склероз и др.), мониторинге эффективности лечебного процесса [20].

Заключение

- ЭНГ-исследование диафрагмального нерва является простым в исполнении и интерпретации результатов методом.

- При ЭНГ-исследовании диафрагмального нерва необходимо учитывать вариабельность показателей латентности и амплитуды М-ответа у здоровых детей разного возраста.
- Показатели амплитуды М-ответа у здоровых детей раннего возраста (1–2 года) достоверно выше, чем у детей 6–18 лет.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Perotto A.O., Delagi E.F., Iazzetti J., Daniel M. Anatomical guide for the electromyographer: the limbs and trunk. 5th edn. Thomas C.C. Publisher, LTD., 2011. 378 p.
2. Podnar S. Idiopathic phrenic neuropathies: a case series and review of the literature. *Muscle Nerve* 2015;52(6):986–92. DOI: 10.1002/mus.24673. PMID: 25846409.
3. Gaber T.A.-Z.K. Case studies in neurological rehabilitation. Cambridge University Press, 2008. 193 p.
4. Jenkins J.A., Sakamuri S., Katz J.S. et al. Phrenic nerve conduction studies as a biomarker of respiratory insufficiency in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener* 2016;17(3–4):213–20. DOI: 10.3109/21678421.2015.1112406. PMID: 26618854.
5. Smith B.K., Corti M., Martin A.D. et al. Altered activation of the diaphragm in late-onset Pompe disease. *Respir Physiol Neurobiol* 2016;222:11–5. DOI: 10.1016/j.resp.2015.11.013. PMID: 26612101.
6. Heinbecker P., Bishop G.H., O'Leary J.L. Functional and histologic studies of somatic and autonomic nerves of man. *Arch Neur Psych* 1936;35(6):1233–55. DOI: 10.1001/archneur-psyc.1936.02260060075007.
7. Sarnoff S.J., Hardenbergh E., Whittenberger J.L. Electrophrenic respiration. *Am J Physiol* 1948;155(1):1–9. DOI: 10.1152/ajplegacy.1948.155.1.1. PMID: 18102659.
8. Davis J.N. Phrenic nerve conduction in man. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1967;30(5):420–6. DOI: 10.1136/jnnp.30.5.420. PMID: 4294147.
9. Moosa A. Phrenic nerve conduction in children. *Dev Med Child Neurol* 1981;23(4):434–48. DOI: 10.1111/j.1469-8749.1981.tb02016.x. PMID: 7274591.
10. MacLean I.C., Mattioni T.A. Phrenic nerve conduction studies: a new technique and its application in quadriplegic patients. *Arch Phys Med Rehabil* 1981;25:229–36. PMID: 6972202.
11. Carvalho M., Alves M., Sales-Luis M.L. Neurophysiologic study of the phrenic nerve. *Acta Med Port* 1991;4(6):297–300. PMID: 1807093.
12. Zifko U., Chen R., Remtulla H. et al. Respiratory electrophysiological studies in Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996;60(2):191–4. DOI: 10.1136/jnnp.60.2.191. PMID: 8708652.
13. Similowski T., Mehiri S., Duguet A. et al. Comparison of magnetic and electrical phrenic nerve stimulation in assessment of phrenic nerve conduction time. *J Appl Physiol* 1997;82(4):1190–9. DOI: 10.1152/jappl.1997.82.4.1190. PMID: 9104856.
14. Lee H.J., DeLisa J. Manual of nerve conduction study and surface anatomy for needle electromyography. 4th edn. Philadelphia, 2004. 301 p.
15. Preston D.C., Shapiro B.E. Electromyography and neuromuscular disorders. 3rd edn. Saunders, Philadelphia, 2013. 664 p.
16. Martinez de Posadas M.C., Liste H., Cottini C., Aranafe N. Combined phrenic nerve conduction and diaphragmatic ultrasound, in children's neuromuscular diseases. *J Neurol Sci* 1997;150(1):S95. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/S0022-510X(97)85305-1.
17. Imai T., Shizukawa H., Imaizumi H. et al. Phrenic nerve conduction in infancy and early childhood. *Muscle Nerve* 2000;23(6):915–8. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4598(200006)23:6<915::AID-MUS11>3.0.CO;2-T. PMID: 10842268.
18. Russell R.I., Helps B.A., Helms P.J. Normal values for phrenic nerve latency in children. *Muscle Nerve* 2001;24(11):1548–50. DOI: 10.1002/mus.1181. PMID: 11745959.
19. Aminoff M.J. Aminoff's electrodiagnosis in clinical neurology. 6th edn. Saunders, Philadelphia, 2012.
20. Войтенков В.Б., Команцев В.Н., Скрипченко Н.В. и др. Возрастная динамика состояния периферической нервной системы и мышц конечностей у здоровых людей. *Успехи геронтологии* 2017;130(1):78–83. [Voitenkov V.B., Komantsev V.N., Skripchenko N.V. et al. Age-related changes of peripheral nerve system and muscles of the limbs in healthy persons. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology* 2017;130(1):78–83. (In Russ.)].

Вклад авторов

В.Б. Войтенков: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

В.Н. Команцев: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа;

Н.В. Скрипченко: разработка дизайна исследования;

Е.В. Екушева: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;

А.В. Клишкин, А.И. Аксёнова: получение данных для анализа.

Authors' contributions

V.B. Voitenkov: developing the research design, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing;

V.N. Komantsev: developing the research design, obtaining data for analysis;

N.V. Skripchenko: developing the research design;

E.V. Ekusheva: developing the research design, article writing, reviewing of publications of the article's theme;

A.V. Klimkin, A.I. Aksenova: obtaining data for analysis.

ORCID авторов

В.Б. Войтенков: <https://orcid.org/0000-0003-0448-7402>

Н.В. Скрипченко: <https://orcid.org/0000-0001-8927-3176>

Е.В. Екушева: <https://orcid.org/0000-0002-3638-6094>

А.В. Клишкин: <https://orcid.org/0000-0002-6180-4403>

А.И. Аксёнова: <https://orcid.org/0000-0002-4668-5530>

ORCID of authors

V.B. Voitenkov: <https://orcid.org/0000-0003-0448-7402>

N.V. Skripchenko: <https://orcid.org/0000-0001-8927-3176>

E.V. Ekusheva: <https://orcid.org/0000-0002-3638-6094>

A.V. Klimkin: <https://orcid.org/0000-0002-6180-4403>

A.I. Aksenova: <https://orcid.org/0000-0002-4668-5530>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Родители пациентов подписали информированное согласие на участие детей в исследовании.

Informed consent. There is given the parental informed consent to the children's participation in the study.

Статья поступила: 31.05.2017. **Принята к публикации:** 30.05.2018.

Article received: 31.05.2017. **Accepted for publication:** 30.05.2018.