

УДК 616-092.4:616-001.3

СОПОСТАВИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ НЕЙРОСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ И МАРКЕРОВ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ В ОСТРОМ И РАННЕМ ПЕРИОДАХ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СПИННОГО МОЗГА

¹Ульянов В.Ю., ²Дроздова Г.А., ¹Конюченко Е.А., ¹Пучиньян Д.М., ¹Норкин И.А.

¹ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России, Саратов, e-mail: v.u.ulyanov@gmail.com;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, e-mail: g-drozdova@yandex.ru

Методом иммуноферментного анализа на 1–4-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30 сутки изучено содержание некоторых цитоплазматических нейроспецифических белков (фосфорилированного нейрофиламента-Н, основного белка миелина, нейротрофина-3, нейротрофина-4/5) и маркеров межклеточного матрикса (матриксной металлопротеиназы-2, матриксной металлопротеиназы-9, тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1) в образцах сыворотки крови 40 пациентов с осложненными травматическими повреждениями шейного отдела позвоночника. В остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга выявлены положительные корреляции содержания pNF-H и MMP-9 на 1–4-е, 7-е, 21-е и 30-е сутки, pNF-H и TIMP-1 на 21-е и 30-е сутки, MBP и MMP-2 – на 1–4-е, 7-е и 14-е сутки, MBP и TIMP-1 – на 1–4-е и 14-е сутки и отрицательные, между уровнями pNF-H и TIMP-1 на 7-е и 14-е сутки, характеризующие преобладание механизмов клеточной альтерации нервной ткани. Выявленные на 1–4-е, 14-е, 21-е сутки положительные корреляции содержания NT-3 и TIMP-1 и отрицательные – NT-4/5 и MMP-9 на 21-е сутки свидетельствуют о преобладании механизмов внутриклеточной регенерации нервной ткани.

Ключевые слова: спинной мозг, травматическая болезнь, патогенез, нейроспецифические белки, матриксные металлопротеиназы, тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы, иммуноферментный анализ

COMPARATIVE ANALYSIS OF CONTENT NEUROSPECIFIC PROTEINS AND MARKERS EXTRACELLULAR MATRIX IN SERUM OF THE PATIENTS IN THE ACUTE AND EARLY PERIODS TRAUMATIC SPINAL CORD DISEASES

¹Ulyanov V.Y., ²Drozdova G.A., ¹Konyuchenko E.A., ¹Puchinyan D.M., ¹Norkin I.A.

¹FGBU «SarNIITO» Ministry of Health of Russia, Saratov, e-mail: v.u.ulyanov@gmail.com;

²FGAOU VO «Peoples' Friendship University of Russia», Moscow, e-mail: g-drozdova@yandex.ru

The method of the immunoassay for the 1-4th, 7th, 14th, 21st and 30th days cytoplasmic neurospecific protein content (phosphorylated neurofilament-H, myelin basic protein, neurotrophin-3, neurotrophin-4/5) and markers of the extracellular matrix (MMP-2, MMP-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1) in serum samples of 40 patients with complicated traumatic injuries of the cervical spine. In acute and early periods of traumatic disease of the spinal cord revealed positive correlations content pNF-H and MMP-9 by 1-4th, 7th, 21st and 30th day, pNF-H and TIMP-1 21st and 30th day, MBP-2 and MMP – 1-4th, 7th and 14th day, MBP and TIMP-1 – 1-4th and 14th day and negative between levels of pNF-H and TIMP-1 in the 7th and 14th day, is dominated by the mechanisms of cell alterations in the nervous tissue. Identified by 1-4th, 14th, 21st day of the positive correlation of NT-3 and TIMP-1 and negative – NT-4/5 and MMP-9 on day 21 indicate a predominance of mechanisms of intracellular regeneration of nerve tissue.

Keywords: spinal cord, traumatic disease, pathogenesis, neurospecific proteins, matrix metalloproteinases, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, enzyme immunoassay

Первичная и вторичная альтерация вещества спинного мозга, развивающаяся в результате его травмы, сопровождается возникновением очага первичного некроза и формированием зоны вторичного повреждения [1, 5].

Вторичное повреждение спинного мозга в результате апоптоза приводит к отсроченной гибели активных нейронов и глиальных клеток [3]. Апоптоз нейронов и глиальных клеток инициируется сосудистыми нарушениями, иммунологическими реакциями, оксидативным стрессом, кальциево-глутаматным конфликтом, приводящими к отеку и повреждению клеточных мембран нейроцитов и олигодендроцитов [4]. Наряду с вторичным повреждением функциональной паренхимы

происходит альтерация белковых компонентов межклеточного матрикса и гемато-спинномозгового барьера за счет активации продукции нейтрофильными лейкоцитами, глиальными макрофагами и Т-лимфоцитами металлопротеиназ, обусловленной эксайтотоксичностью и гиперцитокинемией (фактор некроза опухоли, интерлейкины 1_β, 6) [9]. Матриксные металлопротеиназы также увеличивают лейкоцитарную инфильтрацию нервной ткани, дегградацию миелиновых волокон, клеточную миграцию и подвижность астроцитов, приводя к ускоренному рубцеванию глиальной ткани [8].

Механизмы вторичного повреждения нервной ткани в посттравматическом периоде лимитируются усилением продукции

паренхиматозной микроглией цитокинов, факторов роста нервной ткани и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ [7, 10]. Последние определяют возможность внутриклеточной регенерации нейронов, ремиелинизации нервных волокон и баланс между деструкцией и формированием межклеточного матрикса [6].

Соотношение клеточных механизмов реорганизации и ремоделирования нервной ткани в посттравматическом периоде определяет суммарное количество активных нейронов, глиальных клеток и межклеточного матрикса в поврежденном спинном мозге, определяя конечный функциональный результат [2].

Цель – на основании сопоставительного анализа содержания нейроспецифических белков и маркеров межклеточного матрикса в сыворотке крови пациентов с осложненными повреждениями шейного отдела позвоночника выявить патофизиологически значимые корреляции, характеризующие ремоделирование нервной ткани в посттравматическом периоде.

Материал и методы исследования

Объектом исследования явились 40 пациентов обоего пола в возрасте $24 \pm 7,5$ лет с осложненными травматическими повреждениями шейного отдела позвоночника, находившихся в клинике нейрохирургии ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России в период с 2011 по 2013 гг. Все пациенты поступили в стационар в течение 1–4 суток с момента получения травмы и были сопоставимы по механизму повреждений и степени выраженности неврологического дефицита (класс А, В по шкале Frankel). Контрольную группу составили 40 условно здоровых лиц, также сопоставимых по полу и возрасту.

В обеих группах обследованных в утренние часы и натощак при пункции локтевой вены осуществляли взятие проб крови в объеме 5 мл. Кровь оставляли

для свертывания при комнатной температуре, центрифугировали при 2000 об/мин в течение 10 минут для получения сыворотки. Методом иммуноферментного анализа изучали количественное содержание в сыворотке крови нейроспецифических белков – фосфорилированного нейрофиламента-Н (pNF-H), (Buhlmann, Switzerland), основного белка миелина (MBP), (BioVendor, Czech Republic), нейротрофина-3 (NT-3), (Ray Bio Human), нейротрофина-4/5 (NT-4/5), (Ray Bio Human) и маркеров межклеточного матрикса – матриксной металлопротеиназы-2 (MMP-2), (R and D Systems, Inc. Human), матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9) (Bender MedSystems, BMS2016 h), тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 (TIMP-1), (Bender MedSystems, BMS2018 h). Исследования нейроспецифических белков и маркеров межклеточного матрикса в сыворотке крови в исследуемой группе осуществляли на 1-4-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки с момента получения травмы, в контрольной группе – однократно.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS 20 Statistics. Проверяли гипотезы о виде распределений (критерий Шапиро – Уилкса). Большинство наших данных не соответствовало закону нормального распределения, поэтому для сравнения значений использовали непараметрические критерии (U-критерий Манна – Уитни). Сопоставительный анализ статистически значимых показателей проводили с помощью определения коэффициента корреляции рангов Спирмена (R). Рассчитывали показатель достоверности (p), который определяли как статистически значимый при значениях $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У больных с осложненной травмой шейного отдела позвоночника при определении содержания нейроспецифических белков – маркеров альтерации нервной ткани и маркеров межклеточного матрикса были выявлены некоторые корреляции (табл. 1).

Таблица 1

Корреляции содержания маркеров альтерации нервной ткани и маркеров межклеточного матрикса в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга

Маркеры альтерации нервной ткани	Маркеры межклеточного матрикса	Сутки наблюдения				
		1–4-е	7-е	14-е	21-е	30-е
pNF-H, пг/мл	MMP-2, нг/мл	R = –0,107 p = 0,512	R = 0,253 p = 0,116	R = –0,059 p = 0,719	R = 0,063 p = 0,699	R = 0,057 p = 0,727
	MMP-9, нг/мл	R = 0,372 p = 0,030	R = 0,425 p = 0,042	R = –0,007 p = 0,965	R = 0,418 p = 0,007	R = 0,377 p = 0,016
	TIMP-1, пг/мл	R = 0,080 p = 0,625	R = –0,386 p = 0,043	R = –0,155 p = 0,036	R = 0,316 p = 0,024	R = 0,483 p = 0,043
MBP, нг/мл	MMP-2, нг/мл	R = 0,479 p = 0,049	R = 0,327 p = 0,041	R = 0,429 p = 0,045	R = 0,119 p = 0,464	R = –0,209 p = 0,194
	MMP-9, нг/мл	R = –0,151 p = 0,354	R = –0,003 p = 0,986	R = –0,136 p = 0,403	R = 0,376 p = 0,047	R = 0,430 p = 0,043
	TIMP-1, пг/мл	R = 0,365 p = 0,021	R = 0,025 p = 0,879	R = 0,464 p = 0,003	R = 0,118 p = 0,469	R = –0,316 p = 0,047

Примечания: R – коэффициент корреляции рангов Спирмена; p – показатель достоверности.

Сопоставительный анализ уровня pNF-H и MMP-9 свидетельствовал о наличии положительных средней силы корреляций на 1–7-е и 21–30-е сутки с момента получения травмы ($p < 0,05$). Содержание pNF-H и TIMP-1 коррелировало отрицательно со средней силой на 7-е сутки и со средней силой – на 14-е сутки с момента травмы ($p < 0,05$). На 21-е и 30-е сутки обнаруживались средней силы положительные корреляции концентраций pNF-H и TIMP-1 ($p < 0,05$). Статистически значимых корреляций между содержанием pNF-H и MMP-2 во все сроки наблюдения выявлено не было.

Изучение взаимосвязи между содержанием MBR и MMP-2 выявило наличие средней силы положительных корреляций на 1-е, 7-е и 14-е сутки с момента получения травмы ($p < 0,05$). Содержание MBR и MMP-9 положительно со средней силой коррелировало лишь на 30-е сутки наблюдения ($p < 0,05$). Содержание MBR и TIMP-1 коррелировало положительно со средней силой на 1–4-е и 14-е сутки и отрицательно со средней силой – на 30-е сутки с момента травмы ($p < 0,05$).

При изучении содержания нейроспецифических белков – маркеров регенерации нервной ткани и маркеров межклеточного матрикса – также были выявлены некоторые корреляции (табл. 2).

Обнаружены средней силы положительные корреляции между содержанием NT-3 и TIMP-1 на 1–4-е, 14-е и 21-е сутки с момента травмы ($p < 0,05$). Каких-либо корреляций содержания исследуемого нейроспецифического белка и MMP-2, MMP-9 выявлено не было.

Оценка содержания NT-4/5 не выявила корреляций с уровнями MMP-2 во все

периоды наблюдения. Уровень NT-4/5 со средней силой отрицательно коррелировал с показателем содержания MMP-9 лишь на 21-е сутки с момента травмы ($p < 0,05$).

Сопоставительный анализ концентраций NT-4/5 и TIMP-1 свидетельствовал о наличии положительных средней силы корреляций на 7–14-е сутки ($p < 0,05$).

Согласно современным представлениям, травматическое повреждение вещества спинного мозга сопровождается апоптотической гибелью активных нейронов и глияльных клеток. Альтерация клеточных мембран нейронов приводит к высвобождению цитоплазматических нейроспецифических белков в спинномозговую жидкость и системный кровоток, что, наряду с другими метаболитами и биологически активными веществами, инициирует транскрипцию факторов роста нервной ткани, оказывающих трофные и тропные влияния в зоне вторичного повреждения. Наряду с повреждением клеточных элементов нервной ткани происходит обусловленная преимущественно механическим повреждением деструкция белковых компонентов межклеточного матрикса и гемато-спинномозгового барьера за счет стимуляции транскрипции матриксных металлопротеиназ, способствующих резорбции нервной ткани и формированию грубого глио-мезодермального рубца. Ограничивают данный процесс тканевые ингибиторы металлопротеиназ, которые блокируют разрушение экстрацеллюлярного матрикса, стимулируют клеточную пролиферацию и ангиогенез. Данные процессы составляют основу ремоделирования нервной ткани в посттравматическом периоде [2].

Таблица 2

Корреляции содержания маркеров регенерации нервной ткани и маркеров межклеточного матрикса в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга

Маркеры регенерации нервной ткани	Маркеры межклеточного матрикса	Сутки наблюдения				
		1–4-е	7-е	14-е	21-е	30-е
NT-3, пг/мл	MMP-2, нг/мл	R = 0,067 p = 0,683	R = –0,166 p = 0,305	R = 0,036 p = 0,824	R = –0,044 p = 0,789	R = –0,024 p = 0,881
	MMP-9, нг/мл	R = –0,094 p = 0,562	R = 0,063 p = 0,701	R = –0,158 p = 0,330	R = –0,089 p = 0,583	R = –0,102 p = 0,533
	TIMP-1, пг/мл	R = –0,310 p = 0,041	R = 0,166 p = 0,306	R = 0,371 p = 0,041	R = 0,304 p = 0,047	R = 0,018 p = 0,913
NT-4/5, пг/мл	MMP-2, нг/мл	R = –0,185 p = 0,254	R = 0,106 p = 0,514	R = –0,052 p = 0,748	R = 0,122 p = 0,455	R = 0,159 p = 0,329
	MMP-9, нг/мл	R = 0,188 p = 0,246	R = 0,030 p = 0,853	R = –0,078 p = 0,633	R = –0,374 p = 0,047	R = –0,020 p = 0,901
	TIMP-1, пг/мл	R = 0,271 p = 0,032	R = 0,471 p = 0,031	R = 0,378 p = 0,033	R = 0,052 p = 0,749	R = 0,137 p = 0,400

Примечания: R – коэффициент корреляции рангов Спирмена; p – показатель достоверности.

Сопоставительный анализ корреляций содержания маркеров альтерации нервной ткани и межклеточного матрикса позволил выявить некоторые закономерности. Полученные нами данные свидетельствуют о наличии положительных корреляций уровней рNF- κ B и MMP-9 на 1-7-е и 21-30-е сутки посттравматического периода, что, по нашему мнению, совпадает с данными литературы о сроках развития стадий реализации апоптоза и удаления погибших клеток. Исполнителями на этих стадиях являются не только эндонуклеазы и эффекторные каспазы, но и матриксные металлопротеиназы [3].

Наличие отрицательных корреляций содержания рNF- κ B и TIMP-1 на 7-е и 14-е сутки после травмы, на наш взгляд, обусловлено относительной недостаточностью продукции TIMP-1, что отдельными авторами связывается с усилением его потребления в период максимальной деструкции нервной ткани, локализуемой преимущественно в зоне первичного повреждения [8]. Появление положительных корреляций между концентрацией рNF- κ B и TIMP-1 на 21-30-е сутки, вероятно, связано с усилением транскрипции TIMP-1 в ответ на прогрессирующую деструкцию аксонов (нервных волокон) вследствие вторичного повреждения вещества спинного мозга, что соответствует данным [4].

Отсутствие каких-либо корреляций между уровнями рNF- κ B и MMP-2 мы связываем с ингибированием инициации транскрипции MMP-2 в условиях отсутствующей регенерации клеточных компонентов нервной ткани, о чем имеются сведения, приводимые в работе [2].

Обнаруженные нами положительные корреляции между уровнями MVR и MMP-2 на 1-14-е сутки после травмы свидетельствуют о выраженности процессов демиелинизации аксонов (нервных волокон), обусловленной деструкцией белковых компонентов миелина под воздействием матриксных металлопротеиназ. Аналогичные сведения приведены в работе [7].

Появление положительных корреляций MVR и MMP-9 к 30-м суткам наблюдения, вероятно, связано с описываемой в литературных источниках мобилизацией матрикс-связанных факторов роста и процессингом цитокинов, обуславливающих ремиелинизацию нервных волокон и ремоделирование межклеточного матрикса [8].

Положительные корреляции MVR и TIMP-1 на 1-4-е и 14-е сутки обусловлены активизацией процессов демиелинизации нервных волокон, когда повышение активности TIMP-1 направлено на санацию нервной ткани от клеточного детрита и пред-

упреждения его попадания в межклеточный матрикс. Активация ремиелинизации нервных волокон к 30-м суткам наблюдения совпадает со снижением активности TIMP-1, что было обнаружено нами в виде отрицательной корреляции к 30-м суткам.

Сопоставительный анализ маркеров регенерации нервной ткани и маркеров межклеточного матрикса выявил наличие положительных взаимосвязей между уровнями содержания NT-3 и TIMP-1 на 1-4-е, 14-е и 21-е сутки, что совпадало с периодами максимального повышения концентрации NT-3. Согласно данным литературы это является одним из саногенетических механизмов, направленных на повышение чувствительности нервной ткани к действию нейротрофических факторов при условии максимального очищения ее от клеточного детрита и восстановления структуры межклеточного матрикса [8, 10].

Выявленная на 21-е сутки посттравматического периода отрицательная корреляция между уровнями NT-4/5 и MMP-9, на наш взгляд, также может свидетельствовать об инициации под влиянием MMP-9 клеточной пролиферации.

Отсутствие каких-либо корреляций между уровнями NT-3, NT-4/5 и MMP-2, MMP-9, возможно, может свидетельствовать о преобладании внутриклеточной регенерации над резорбцией нервной ткани, однако сведений по этому вопросу в доступной литературе мы не обнаружили.

Выводы

1. Процесс ремоделирования спинного мозга в остром и раннем периодах травматической болезни определяется совокупностью механизмов альтерации и регенерации нервной ткани, направленность и выраженность которых может характеризоваться динамическими изменениями содержания нейроспецифических белков и маркеров межклеточного матрикса в биологических субстратах.

2. Положительные корреляции содержания рNF- κ B и MMP-9, выявленные на 1-4-е, 7-е, 21-е и 30-е сутки, рNF- κ B и TIMP-1 на 21-е и 30-е сутки, MVR и MMP-2 – на 1-4-е, 7-е и 14-е сутки, MVR и TIMP-1 – на 1-4-е и 14-е сутки и отрицательные, между уровнями рNF- κ B и TIMP-1 на 7-е и 14-е сутки характеризуют преобладание механизмов клеточной альтерации нервной ткани и являются патогенетически значимыми при травматической болезни спинного мозга.

3. Выявленные на 1-4-е, 14-е, 21-е сутки положительные корреляции содержания NT-3 и TIMP-1 и отрицательные – NT-4/5 и MMP-9 на 21-е сутки свидетельствуют

о преобладании механизмов внутриклеточной регенерации нервной ткани и являются саногенетически значимыми при ее ремоделировании в посттравматическом периоде.

Список литературы

1. Белевич С.Б., Войнов В.А. Молекулярные механизмы в патологии человека: Руководство для врачей. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2012. — 208 с.
2. Борщенко И.А. Некоторые аспекты патофизиологии травматического повреждения и регенерации спинного мозга // Вопросы нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко. — 2000. — № 2. — С. 28–31.
3. Конюченко Е.А., Ульянов В.Ю., Пучиньян Д.М., Норкин И.А., Дроздова Г.А. Сопоставительный анализ содержания нейроспецифических белков и цитокинов в сыворотке крови пациентов в остром и раннем периодах травматической болезни спинного мозга // Фундаментальные исследования. — 2014. — № 7–5. — С. 974–979.
4. Конюченко Е.А., Ульянов В.Ю., Гладкова Е.В., Пучиньян Д.М. Иммунологические маркеры повреждения нервной ткани при осложненной травме верхнешейного отдела позвоночника / Вертебрология в России: итоги и перспективы развития // Сб. тезисов V съезда хирургов-вертебрологов России. — Саратов, 2014. — С. 86–87.
5. Норкин И.А., Чехонацкий А.А., Нинель В.Г., Островский В.В. Лечение перелома шейного отдела позвоночника при болезни Бехтерева // Хирургия позвоночника. — 2007. — № 2. — С. 23–25.
6. Одинак М.М., Цыган Н.В. Факторы роста нервной ткани в центральной нервной системе. — СПб.: Наука, 2005. — 157 с.
7. Рогова Л.Н., Шестернина Н.В., Замечник Т.В., Фастова И.А. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) // Вестник новых медицинских технологий. — 2011. — № 2. — С. 86–89.
8. Суфианова Г.З., Шапкин А.Г. Повреждение нервной ткани: механизмы, модели, методы оценки. — М.: Изд-во РАМН, 2014. — 288 с.
9. Ульянов В.Ю., Норкин И.А., Дроздова Г.А., Конюченко Е.А. Факторы роста нервной ткани как маркеры оценки процессов нейрогенеза при травматической болезни спинного мозга // Саратовский научно-медицинский журнал. — 2014. — № 3. — С. 446–449.

10. Yang J., Wang G., Gao C. Effects of hyperbaric oxygen on MMP-2 and MMP-9 expression and spinal cord edema after spinal cord injury // Life Sci. — 2013. — № 93. — P. 1033–1038.

References

1. Bolevich S.B., Vojnov V.A. Molekuljarnye mehanizmy v patologii cheloveka: Rukovodstvo dlja vrachej (Molecular mechanisms in human pathology: a guide for doctors). Moscow: «Medicinskoe informacionnoe agentstvo», 2012. 208 p.
2. Borshhenko I.A. Voprosy nejrohirurgii im. N.N. Burdenko, 2000, no. 2, pp. 28–31.
3. Konyuchenko E.A., Ul'yanov V.Y., Puchin'yan D.M., Norkin I.A., Drozdova G.A. Fundamental'nye issledovaniya, 2014, no. 7–5, pp. 974–979.
4. Konyuchenko E.A., Ul'yanov V.Yu., Gladkova E.V., Puchin'yan D.M. Vsezd khirurgov-vertebrologov Rossii: Vertebrologiya v Rossii: itogi i perspektivy razvitiya (V Congress of Spine Surgeons of Russia «Vertebrology in Russia: Results and Prospects»). Saratov, 2014, pp. 86–87.
5. Norkin I.A., Chekhonatskiy A.A., Ninel' V.G., Ostrovskiy V.V. Khirurgiya pozvonochnika, 2007. no. 2, pp. 23–25.
6. Odnak M.M., Cygan N.V. Faktory rosta nervnoy tkani v tsentral'noy nervnoy sisteme (Nerve growth factors in the central nervous system). St. Petersburg: Nauka, 2005. 157 p.
7. Rogova L.N., Shesternina N.V., Zamechnik T.V., Fastova I.A. Vestnik novykh meditsinskih tekhnologiy, 2011, no. 2, pp. 86–89.
8. Sufianova G.Z., Shapkin A.G. Povrezhdenie nervnoy tkani: mekhanizmy, modeli, metody otsenki (Damage to the nervous tissue: mechanisms, models, methods of assessment). Moscow: RAMC, 2014. 288 p.
9. Ul'yanov V.Yu., Norkin I.A., Drozdova G.A., Konyuchenko E.A. Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal, 2014, no. 3, pp. 446–449.
10. Yang J., Wang G., Gao C. Life Sci, 2013, no. 93, pp. 1033–1038.

Рецензенты:

Щуковский В.В., д.м.н., профессор, ГУЗ «Перинатальный центр», г. Саратов;

Слободской А.Б., д.м.н., заведующий отделением ортопедии ГУЗ «Областная клиническая больница», г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 02.02.2015.