

DOI 10.23946/2500-0764-2018-3-2-6-11

# МЕХАНИЗМ ТОРМОЗНОГО И СТИМУЛЯТОРНОГО ВЛИЯНИЙ СЕРОТОНИНА НА СОКРАЩЕНИЯ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

СМИРНОВ В.М.<sup>1</sup>, СВЕШНИКОВ Д.С.<sup>2</sup>, КУЧУК А.В.<sup>2</sup>, КУЗНЕЦОВА Т.Е.<sup>1</sup>, ИГНАТОВА Е.Д.<sup>1</sup>, ТРУБЕЦКАЯ Л.В.<sup>1</sup><sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, г. Москва, Россия<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

## ORIGINAL ARTICLE

### MECHANISM OF INHIBITORY AND STIMULATORY EFFECTS OF SEROTONIN ON DUODENAL CONTRACTIONS

VIKTOR M. SMIRNOV<sup>1</sup>, DMITRIY S. SVESHNIKOV<sup>2</sup>, ANDREY V. KUCHUK<sup>2</sup>, TATIANA E. KUZNETSOVA<sup>1</sup>, ELENA D. IGNATOVA<sup>1</sup>,  
LARISA V. TRUBETSKAYA<sup>1</sup><sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University (1, Ostrovityanova Street, Moscow, 117997), Russian Federation<sup>2</sup>Peoples' Friendship University of Russia (6, Miklukho-Maklaya Street, Moscow, 117198), Russian Federation

#### Резюме

**Цель.** Изучить механизм двоякого влияния серотонина адипината на моторику двенадцатиперстной кишки.

**Материалы и методы.** Эксперименты выполнены на крысах линии Вистар (n = 83) в условиях хирургической стадии наркоза. Регистрировали электромиограмму и гидростатическое давление в полости кишки с помощью усилителя BioAmp ML132 (Adinstruments, Австралия), аналого-цифрового преобразователя Macclab 8e (Adinstruments, Австралия), компьютера Macintosh Performa 6400/180 и программы Chart 4.2.3.

**Результаты.** Установили, что при внутриартериальном введении серотонина в дозе 0,05 мг/кг тормозные реакции возникают у 29% животных, при дозе 0,1 мг/кг – у 8,3%, при дозе 0,15 мг/кг – у 6,3%. У других животных возникли стимуляторные реакции, у части живот-

ных реакции отсутствовали. Обнаружен также важный феномен – внутривенное введение серотонина адипината (даже в огромной дозе – 20 мг/кг) не ведет к усилению сокращений кишки.

**Заключение.** Стимуляторные реакции кишки возникают вследствие активации мышечных 5HT-рецепторов (5-гидрокситриптаминовые (серотониновые) рецепторы), тормозные – посредством активации пресинаптических 5HT-рецепторов, локализующихся на адренергических терминалях в органе, и выброса ими тормозного медиатора норадреналина. При использовании серотонина адипината в эксперименте и в клинической практике необходимо учитывать, что эффект на введение его в организм может быть двояким: при малых дозах тормозным, при более высоких – стимуляторным.

**Ключевые слова:** двенадцатиперстная кишка, моторика, регуляция, серотонин.

#### English ►

#### Abstract

**Aim.** To investigate the effects of serotonin on duodenal motor activity.

**Materials and Methods.** Experiments were performed on Wistar rats (n = 83) which received nembutal anesthesia. We further conducted elec-

tromyography and measured hydrostatic pressure in the duodenum.

**Results.** Intraarterial administration of 0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, and 0.15 mg/kg serotonin induced inhibitory responses in 29%, 8.3%, and 6.3% of rats, respectively. Other rats, however, showed

stimulatory responses or no specific response. Intravenous administration of serotonin did not enhance bowel contractions.

**Conclusion.** Inhibitory responses occurred at low doses of serotonin due to the activation of presynap-

tic 5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin) receptors while stimulatory responses were induced by high doses of serotonin through muscular 5-HT receptors.

**Keywords:** duodenum, motor activity, regulation, serotonin.

## Введение

Рядом авторов изучено действие серотонина на сокращения гладких мышц на полосках органов и в условиях целого организма. Так, в опытах на наркотизированных несенсибилизированных морских свинках показано, что внутривенное введение серотонина дозозависимо повышает легочное сопротивление, т.е. серотонин вызывает бронхоспазм [1].

Противоположные данные при внутривенном введении серотонина морским свинкам были получены в исследовании Veasey S. [2]. Согласно исследованию, в этом случае наблюдается бронходилатация. Автор объясняет ее тем, что серотонин активирует афферентные волокна, благодаря чему возбуждаются центры, регулирующие активность миоцитов воздухоносных путей. Veasey S. считает, что синдром ночной обструкции дыхания у людей (Obstructive sleep apnea hypornea syndrome – OSAHS) обусловлен нарушением серотонинергического механизма – высвобождение серотонина уменьшено во сне, и это приводит к снижению бронходилатации и возникновению бронхоконстрикции. Автор полагает, что релаксирующее действие серотонина как стимулятора афферентных волокон реализуется за счет активации  $5HT_{2A}$ - и  $5HT_{2C}$ -рецепторов.

В опытах на сегментах верхней брыжеечной артерии нормотензивных крыс линии Sprague-Dawley серотонин ( $10^{-9}$ – $10^{-5}$  М) не оказывал влияния на их тонус, хотя миоциты содержали  $5HT_{1B}$ -,  $5HT_{2A}$ -,  $5HT_{2B}$ - и  $5HT_7$ -рецепторы [3].

*Влияние серотонина на моторику кишечника и желудка.* Согласно одним авторам [4,5], серотонин усиливает перистальтику кишечника и пассаж химуса по нему; согласно другим [6,7,8] – серотонин не имеет прямого отношения к регуляции моторики кишечника.

Однако в опытах на крысах показано, что агонист  $5HT_4$ -рецепторов мозаприда цитрат (mosapride citrate) способен усиливать моторику желудка при интраперитонеальном введении [9].

В исследованиях [10] внутривенное введение серотонина кролику (2мг/кг) вызывало воз-

буждающий и тормозной эффекты подвздошной, слепой и толстой кишок (по мнению авторов) с участием нехолинергического механизма.

Таким образом, единого мнения о влиянии серотонина на сокращения гладких мышц не сложилось. Мы предприняли попытку изучить одну из возможных причин противоречивых данных по этому вопросу – различные дозы серотонина. Знание этого механизма важно и для экспериментальных исследований, и для медицины, поскольку серотонин используется в клинической практике [11,12]. В частности [12] наблюдали улучшение моторной функции толстой кишки у пациентов после приема внутрь агониста  $5HT_4$  – рецепторов тегазерада (по 6 мг дважды в день). Этот препарат разрешен FDA для лечения запоров.

## Цель исследования

Изучить механизм двоякого влияния серотонина адипината на моторику двенадцатиперстной кишки.

## Материалы и методы

Эксперименты выполнены на половозрелых крысах линии Вистар обоего пола, массой тела 250-450 г. Исследования проводили на животных натощак (спустя 12 ч после приема пищи) в состоянии хирургической стадии наркоза (нембутал 60 мг/кг внутримышечно). В течение опытов, средняя продолжительность которых составляла 2,5 ч, наркоз был достаточным и проходил без осложнений. До эксперимента по три крысы содержались в одной клетке тип - 4. О сократительной деятельности двенадцатиперстной кишки (ДПК) судили по изменению гидростатического давления в ее полости (регистрировали с помощью катетера) и электромиографии (ЭМГ) продольного слоя гладких мышц ДПК (регистрировали с помощью электрода). Сигналы от катетера и электрода поступали на усилитель BioAmp ML132 (Adinstruments, Австралия), далее – на аналого-цифровой преобразователь MacLab 8e (Adinstruments, Австралия), соединенный с

**Таблица 1.**  
Распределение ре-  
акций ДПК крыс на  
внутриартериальное  
введение различных  
доз серотонина

Вид реакций <i>Response</i>	0,05 mg/kg n = 31	0,1 mg/kg n = 36	0,15 mg/kg n = 16
Стимуляторные <i>Stimulatory</i>	7 (22,6%)	23 (63,9%)	10 (62,5%)
Тормозные <i>Inhibitory</i>	9 (29%)	3 (8,3%)	1 (6,3%)
Отсутствуют <i>No</i>	15 (48,4%)	10 (27,8%)	5 (31,2%)

**Table 1.**  
Duodenal response  
to intraarterial  
administration  
of serotonin at  
ascending doses

компьютером Macintosh Performa 6400/180, где с помощью программы Chart 4.2.3 вели регистрацию.

После проверки данных на нормальность статистическую обработку данных проводили, используя парный критерий Стьюдента, принимая за уровень значимости  $p < 0.05$ .

Серотонина адипинат в различных концентрациях вводили внутриартериально, так как в первых (пробных) опытах мы обнаружили неожиданный результат – внутривенное введение различных доз серотонина (до 20 мг/кг) не усиливало сокращения кишки. Использование же в эксперименте больших доз медиатора или гормона обесценивает полученные результаты. Кроме того, при внутриартериальном введении серотонина исключается влияние с рефлексогенных зон малого круга кровообращения на полученные результаты. Известно, что сосуды малого круга, а также различные структуры сердца содержат серотониновые рецепторы, их активация обуславливает развитие прямых и рефлекторных реакций, приводящих к изменениям системного артериального давления [13,14]. Это является нежелательным при изучении моторной деятельности кишечника, так как изменения гемодинамики способны существенным образом повлиять на фоновую моторику органа. Следует заметить, что и внутриартериальное введение серотонина активирует серотонинорецепторы аорты и ее ветвей, при этом развиваются и иные, менее выраженные системные реакции [15]. Эти нежелательные явления в наших экспериментах предотвращались двусторонним пересечением блуждающих и языкоглоточных нервов

**Таблица 2.**  
Повышение гидро-  
статического давле-  
ния в полости ДПК  
крыс на внутриарте-  
риальное введение  
различных доз серо-  
тонина адипината

Дозы серотонина адипината <i>Dose of serotonin (mg/kg)</i>	Фон до введения серотонина <i>Before serotonin administration (mmHg)</i>	Результат после введения серотонина <i>After serotonin administration mmHg (+ %)</i>
0,05	9,7±1,2	12,3±2,1 (+26%)
0,1	10,8±1,6	13,4±1,6 (+24%)
0,15	10,2±1,5	13,0±1,6 (+27%)

**Table 2.**  
Alterations in  
duodenal pressure  
after intraarterial  
administration  
of serotonin at  
ascending doses

на шее. Показано также [16], что серотонин несущественно влияет непосредственно на просвет мезентеральных сосудов.

Таким образом, использование наших экспериментальных подходов ограничивает действие серотонина на системный кровоток и повышает надежность полученных результатов.

Эффекты серотонина адипината на моторную активность ДПК исследовали в трех сериях опытов с внутриартериальным введением различных доз препарата: 0,05; 0,1; 0,15 мг/кг. Серотонин вводили в объеме 0,1 мл в течение 30 с.

## Результаты

**В первой серии экспериментов** на 31 крысе обнаружили, что внутриартериальное введение серотонина в дозе 0,05 мг/кг ведет к развитию двух типов реакций ДПК (**таблица 1**). Амплитуда волн электромиограммы увеличивалась с  $0,71 \pm 0,15$  до  $0,93 \pm 0,11$  мВ (+31%,  $p < 0,05$ ).

Степень выраженности стимуляторных реакций по трем сериям опытов представлена в **таблице 2**.

У 9 животных из 31 первой серии введение серотонина в дозе 0,05 мг/кг приводило к развитию противоположного – тормозного эффекта. Величина внутриполостного давления через  $5,11 \pm 3,5$  с уменьшилась с  $11,1 \pm 3,23$  до  $8,54 \pm 1,14$  мм рт.ст. (-23,1%,  $p < 0,05$ ). Амплитуда медленных волн электромиограммы, напротив, возрастала через  $4,23 \pm 2,17$  с  $0,73 \pm 0,23$  до  $0,95 \pm 0,14$  мВ (+30,1%,  $p < 0,05$ ).

**Во второй серии экспериментов** введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг у 23 животных из 36 вызывало усиление сокращения ДПК (**при-**

сунок 1, подробнее см. таблицу 2). Амплитуда волн электромиограммы возрастала с  $0,71 \pm 0,21$  до  $1,5 \pm 0,27$  мВ ( $+111\%$ ,  $p < 0,01$ ).

Только у 3 животных из 36 второй серии введение серотонина в дозе 0,1 мг/кг приводило к развитию тормозного эффекта (рисунок 2).

В третьей серии экспериментов серотонин (0,15 мг/кг) вводили 16 животным (распределение реакций см. таблицу 1). Степень выраженности стимуляторных эффектов представлена в таблице 2. Амплитуда волн электромиограммы возрастала с  $0,82 \pm 0,17$  мВ до  $1,7 \pm 0,21$  мВ ( $+107\%$ ,  $p < 0,01$ ).

При повторных введениях одинаковых доз серотонина (по 2 раза с интервалом 15 мин.) направление реакций и степень их выраженности во всех сериях не изменялись в течение опыта. Электрическая активность изменялась после введения серотонина во всех сериях опытов через  $4,03 \pm 2,1$  с., механическая – через  $5,14 \pm 3,5$  с. Продолжительность стимуляторных реакций после введения серотонина 0,05 мг/кг составила  $154 \pm 27$  с., при дозах 0,1 и 0,15 мг/кг –  $185 \pm 63$  с.

## Обсуждение

Во-первых, необходимо обсудить, почему же малые дозы экзогенного серотонина вызывают не только усиление, но и угнетение сокращений ДПК? С нашей точки зрения, это объясняется тем, что на симпатических (адренергических) терминалях органа имеются пресинаптические 5HT-рецепторы, которые обнаружены другими авторами [13, 14, 17]. Мы полагаем, что чувствительность их к серотонину выше постсинаптических 5HT-рецепторов, локализующихся на гладкомышечных волокнах. Поэтому малые дозы серотонина активируют только пресинаптические 5HT-рецепторы и обеспечивают высвобождение норадреналина симпатическими терминалями в органе, норадреналин действует на гладкие мышцы ДПК, что ведет к их расслаблению. Более высокие дозы серотонина активируют и пре-, и постсинаптические 5HT-рецепторы. При этом прямое стимулирующее действие серотонина на гладкие мышцы преобладает над тормозным (опосредованным). Поэтому развивается усиление сокращений мышц ДПК.

Во-вторых, по поводу способа введения серотонина необходимо заметить следующее. В первых собственных опытах при внутривенном способе введения серотонина мы обнаружили весьма важный, но нежелательный в эксперименте факт — для получения стимуляторного

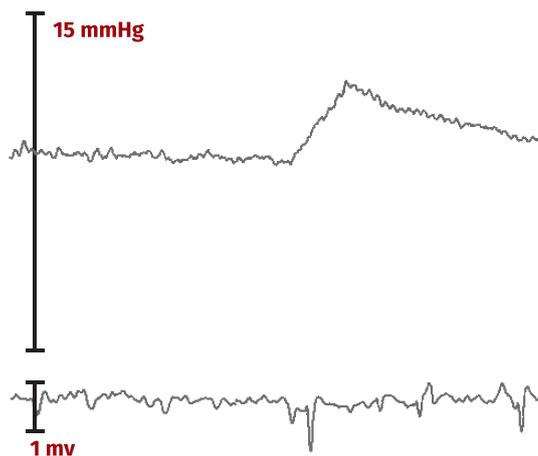


Рисунок 1.

Усиление сокращений ДПК у крысы на введение серотонина (0,1 мг/кг): вверх — гидростатическое давление в полости кишки, вниз — электромиограмма; жирная горизонтальная линия внизу — отметка введения серотонина (30 с)

Figure 1.

Enhanced duodenal contractions after administration of serotonin (0.1 mg/kg): top line denotes duodenal pressure while bottom line represents electrocardiogram. Bold horizontal line at the bottom marks administration of serotonin

эффекта ДПК необходимо было вводить очень большие дозы серотонина (до 20 мг/кг). Но и при такой дозе стимуляторный эффект отсутствовал или был слабо выражен. С нашей точки зрения, это объясняется тем, что серотонина адипинат связывается с 5HT-рецепторами различных органов организма — особенно рецепторами легких, а также быстро разрушается. Поэтому вводили серотонин внутриартериально, что исключало выявленный нами недостаток и уменьшало возможные рефлекторные влияния серотонина на сокращения органа.

В третьих, следует также отметить, что в ряде наших экспериментов увеличение амплитуды волн электромиограммы возникало при отсутствии изменений сократительной деятельности кишки или даже при угнетении сокращений органа (рисунок 2). Это свидетельствует о том, что оценка сократительной деятельности полого мышечного органа посредством регистрации внутриполостного гидростатического давления с помощью современной электронной аппаратуры является более надежным способом по сравнению с электромиографией.

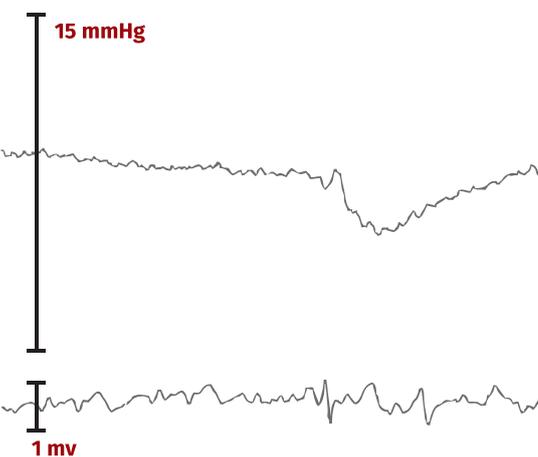


Рисунок 2.

Тормозное влияние серотонина (0,1 мг/кг) на сокращение ДПК у крысы: вверх — гидростатическое давление в полости кишки; вниз — электромиограмма; жирная горизонтальная линия внизу — отметка введения серотонина (30 с)

Figure 2.

Inhibitory action of serotonin (0.1 mg/kg): top line denotes duodenal pressure while bottom line represents electrocardiogram. Bold horizontal line at the bottom marks administration of serotonin

## Заключение

Таким образом, при использовании серотонина адипината в эксперименте и в клинической практике необходимо учитывать, что эффект на введение его в организм может быть двояким – при малых дозах тормозным, при более высоких – стимуляторным. Стимуля-

торные реакции возникают в результате активации мышечных 5HT-рецепторов, тормозные – посредством активации пресинаптических 5HT-рецепторов, локализирующихся на адренергических терминалях в органе, и выброса ими тормозного медиатора норадреналина.

## Литература / References:

- Arreola-Ramírez JL, Vargas MH, Manjarrez-Gutiérrez G, Alquicira J, Gutiérrez J, Córdoba G, et al. Modifications of plasma 5-HT concentrations during the allergic bronchoconstriction in guinea pigs. *Exp Lung Res*. 2013; 39(7): 269-274.
- Veasey SC. Serotonin agonists and antagonists in obstructive sleep apnea: therapeutic potential. *Am J Respir Med*. 2003; 2(1): 21-29.
- Davis R, Pattison J, Thompson JM, Tiniakov R, Scrogin KE, Watts SW. 5-hydroxytryptamine (5-HT) reduces total peripheral resistance during chronic infusion: direct arterial mesenteric relaxation is not involved. *BMC Pharmacol*. 2012; 12: 4.
- Tamura T, Sano I, Satoh M, Mizumoto A, Itoh Z. Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine-induced motor activity (in vitro) in the guinea pig gastric antrum and corpus. *Eur J Pharmacol*. 1996; 308(3): 315-324.
- Ovsyannikov VI, Berezina TP. Effects of serotonin on duodenal ileal, and jejunal motility in awake rabbits. *Sechenov Russian Physiological Journal*. 2002; (8): 1017-1027. Russian (Овсянников В.И., Березина Т.П. Механизмы влияния серотонина на моторную активность двенадцатиперстной, тощей и подвздошной кишки у бодрствующих кроликов. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2002. № 8. С. 1017-1027.)
- Van Lelyveld N, Ter Linde J, Schipper M, Samsom M. Serotonergic signalling in the stomach and duodenum of patients with gastroparesis. *Neurogastroenterol Motil*. 2008; 20(5): 448-455.
- Sia TC, Whiting M, Kyloh M, Nicholas SJ, Oliver J, Brookes SJ, et al. 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>4</sub> antagonists inhibit peristaltic contractions in guinea-pig distal colon by mechanisms independent of endogenous 5-HT. *Front Neurosci*. 2013;(7): 136.
- Song J, Yin J, Chen JD. Acute and chronic effects of desvenlafaxine on gastrointestinal transit and motility in dogs. *Neurogastroenterol Motil*. 2013; 25(10): 824-e637.
- Lee J, Sung K, Lee O. The effects of 5-HT<sub>4</sub> receptor agonist, mosapride citrate, on visceral hypersensitivity in a rat model. *Dig Dis Sci*. 2012; 57(6): 1517-1524.
- Ovsyannikov VI, Berezina TP. Effects of serotonin on contractile activity of ileum and cecum of awake rabbits. *Sechenov Russian Physiological Journal*. 2005; (4): 437-449. Russian (Овсянников В.И., Березина Т.П. Механизмы влияния серотонина на сократительную активность илеоцекальной зоны у бодрствующих кроликов. *Рос. физиол. журн*. 2005. № 4. С. 437-449).
- Simonenkov AP, Fedorov VD. Prevention and treatment of serotonin insufficiency in surgical patients. *Surgery*. 2003; (3): 76-80. Russian (Симоненков А.П., Федоров В.Д. Профилактика и лечение серотониновой недостаточности у хирургических больных. *Хирургия*. 2003. № 3. С. 76-80).
- Kale-Pradhan PB, Wilhelm SM. Tegaserod for constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Pharmacotherapy*. 2007; 27(2): 267-277.
- MacLean MR, Dempsie Y. Serotonin and pulmonary hypertension-from bench to bedside. *Curr Opin Pharmacol*. 2009; 9(3): 281-286.
- McKenzie C, Alapati VR, MacDonald A, Shaw AM. Mechanisms involved in the regulation of bovine pulmonary vascular tone by the 5HT<sub>1B</sub>-receptor. *Brit J Pharmacol*. 2010; 159(1): 188-200.
- Zhang B, Liu Y, Luo Y, Niu W, Li ZC. Alteration of serotonin 2C-receptor expression in the aorta and the pulmonary artery in rats exposed to hypoxia. *Chin J Physiol*. 2008; 51(6): 338-347.
- Lopez JA, Brown BP, Armstrong ML, Piegors DJ, Heistad DD. Response of the mesenteric circulation to serotonin in normal and atherosclerotic monkeys: implications for the pathogenesis of non-occlusive intestinal ischaemia. *Cardiovasc Res*. 1989; 23(2): 117-124.
- Purohit A, Herrick-Davis K, Teitler M. Creation, expression, and characterization of a constitutively active mutant of the human serotonin 5-HT<sub>6</sub>-receptor. *Synapse*. 2003; 47(3): 218-224.

## Сведения об авторах

**Смирнов Виктор Михайлович**, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры физиологии Российского научного исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, г. Москва, Россия

**Вклад в статью:** написаны разделы «введение» и «обсуждение результатов», проведена корректура статьи для издательства.

**Свешников Дмитрий Сергеевич**, доктор медицинских наук, доцент, доцент кафедры физиологии медицинского факультета Российского университета дружбы народов, г. Москва, Россия

**Вклад в статью:** разработка дизайна исследования и выполнение экспериментальной части исследования.

## Authors

**Prof. Viktor M. Smirnov**, MD, PhD, Professor, Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

**Contribution:** conceived and designed the study; wrote the manuscript.

**Dr. Dmitriy S. Sveshnikov**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

**Contribution:** conceived and designed the study; performed the experiments.

**Dr. Andrey V. Kuchuk**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Anatomy, Medical Faculty, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

**Contribution:** performed the experiments.

**Кучук Андрей Владимирович**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека медицинского факультета Российского университета дружбы народов, г. Москва, Россия

**Вклад в статью:** выполнение экспериментальной части исследования.

**Кузнецова Татьяна Евгеньевна**, кандидат медицинских наук, доцент, профессор кафедры физиологии Российского научного исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, г. Москва, Россия

**Вклад в статью:** анализ и перевод на русский язык иностранных научных статей, написание статьи.

**Игнатова Елена Дмитриевна**, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры физиологии Российского научного исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, г. Москва, Россия

**Вклад в статью:** описание результатов исследований, выполнение статистического анализа.

**Трубцкая Лариса Владимировна**, кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры физиологии Российского научного исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, г. Москва, Россия

**Вклад в статью:** анализ научной литературы, перевод на русский язык иностранных научных статей, написание статьи.

**Корреспонденцию адресовать:**

Смирнов Виктор Михайлович,  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997, Россия  
E-mail: vmsmirnov1@gmail.com

**Dr. Tatiana E. Kuznetsova**, MD, PhD, Professor, Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

**Contribution:** wrote the manuscript.

**Dr. Elena D. Ignatova**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

**Contribution:** performed the statistical analysis; wrote the manuscript.

**Dr. Larisa V. Trubetskaya**, MD, PhD, Associate Professor, Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

**Contribution:** wrote the manuscript.

**Corresponding author:**

Prof. Viktor M. Smirnov,  
1, Ostrovityanova Steet, Moscow, 117997, Russian Federation  
E-mail: vmsmirnov1@gmail.com

**Acknowledgements:** There was no funding for this project.

Статья поступила: 10.05.18 г.

Принята к печати: 31.05.18 г.