24 октября 2024 года. Иркутск: «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; 2024: 99-103.

Pinelis I.S. Splinting for periodontitis // Aesthetic dentistry: Materials of the V Baikal All-Russian Dental Forum, Irkutsk, October 22-24, 2024. Irkutsk: "Irkutsk Scientific Center for Surgery and Traumatology"; 2024: 99-103.

6. Яшнова Н.Б. Пинелис Ю.И., Дутова А.А. Микробный состав пародонтального кармана при хроническом генерализованном пародонтите // Актуальные проблемы медицины. 2024; Т.47. №1: 89-98. DOI: 10.52575/2687-0940-2024-47-1-89-98.

Yashnova N. B., Pinelis Yu. I., Dutova A. A. Microbial composition of the periodontal pocket in chronic generalized periodontitis/ //Actual problems of medicine. 2024; Vol. 47. No.1: 89-98. DOI: 10.52575/2687-0940-2024-47-1-89-98.

7. Batih I. Prevalence of maxillofacial anomalies and their relation to periodontal diseases in young people // Medical Science. 2024. Vol.28. No.143: 1-6. DOI: 10.54905/disssi.v28i143.e3ms3256.

8. Influence of gum recession in periodontitis on oral health: causes, consequences, diagnosis, and surgical treatment methods / I.K. Bankin, V.P. Proshina, V.V. Fedechkin [et al.] // WEEK OF RUSSIAN SCIENCE (WERUS-2024), April 6-19 2024. Saratov, 2024: 574-575.

9. Kydenko V.A., Budyansky S, Senyshyn R. Modern view of etiopathogenesis of periodontal diseases. Annali d'Italia. 2024. No. 56: 64-67. DOI: 10.5281/zenodo.12550393. EDN LZRKBR.

10. Patil, R.T., Dhadse P.V., Salian Sh.S., Punse S.D. Role of Oxidative Stress in Periodontal Diseases / // Cureus. 2024. DOI: 10.7759/cureus.60779. EDN KFROLS.

11. Şahin T. Investigation of the relationships between peri-implant diseases, periodontal diseases, and conditions: a cross-sectional study. Peer J. 2024. Vol.12: 163-186. DOI: 10.7717/peerj.18663.

12. Verma K., Singh A. Biomarkers in periodontal health and diseases. IP International Journal of Periodontology and Implantology. 2024. Vol. 9. No.2: 64-67. DOI: 10.18231/j.ijpi.2024.014. EDN ZXNDLY.

Д.В. Камлык, В.Е. Колесников, С.В. Гурова, А.В. Галина, И.В. Головинов, Д.В. Ходакова, А.А. Шульга

DOI 10.25789/YMJ.2025.91.13

УДК 616.021.3:616-006.66-092.9

# ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТОПОЛОГИИ ЗАБОРА ОБРАЗЦОВ ОПУХОЛИ НА РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ ПРОЦЕДУРЫ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ ПРИ СОЗДАНИИ PDX МОДЕЛИ РАКА ЖЕЛУДКА

При разработке новых подходов к повышению эффективности ксенотрансплантации опухолевых тканей особый интерес вызывает вопрос о влиянии локализации отбираемых образцов опухолей на успешность приживления. В ходе исследования возникло предположение, что наибольшим пролиферативным потенциалом in vivo могут обладать именно периферические клеточные популяции, непосредственно участвующие в процессах инвазии. Это позволило сформулировать гипотезу о принципиально большей пригодности таких клеток для создания стабильных ксенотрансплантационных моделей по сравнению с центральными участками новообразования. У каждого пациента отбирали 10 образцов опухоли желудка: 5 с края опухоли и 5 из центральных зон (отступ >5 мм от края). После подкожной имплантации мышам Balb/C Nude опухолевые узлы сформировались в 60% случаев (3/5) при использовании краевых образцов против 20% (1/5) для центральных. Полученные данные подтверждают, что клетки инвазивного фронта обладают значительно более высоким пролиферативным потенциалом in vivo. Выполненное в рамках данной работы гистологическое исследование показало, что гетеротопические PDX воспроизводили гистотип соответствующих донорских опухолей и являлись аденокарциномами. Иммуногистохимический анализ подтвердил повышенную пролиферативную активность в инвазивных зонах опухоли, где показатель Ki-67 достигал 70% (60-80%), что существенно превышало значения в центральных отделах. Эти данные согласуются с более высокой приживляемостью краевых образцов при ксенотрансплантации. В то же время в образцах, взятых не из краевых участков той же опухоли, экспрессия Ki-67 была существенно ниже и составила 15% (p <0,05) [5, 25]. Полученные данные позволяют высказать предположение, что, вероятно, более высокий пролиферативный потенциал, характеризующий краевые участки опухолей, может способствовать более эффективной ксенотрансплантации таких образцов опухолей, по сравнению с образцами, полученными из удаленных от видимого края участков опухоли и характеризующихся более низким пролиферативным потенциалом.

**Ключевые слова:** рак желудка, гетеротопическая модель, PDX-модели, мышиные модели

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону:

**КАМЛЫК Дмитрий Вячеславович** – аспирант, kamlyk01@gmail.com, ORCID:0009-0004-7432-9420,

**КОЛЕСНИКОВ Владимир Евгеньевич** – д.м.н., врач-хирург, Kolaksay@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-9979-4095,

**ГУРОВА Софья Валерьевна** – м.н.с., gurova.sophie@gmail.com, ORCID: 0000-0002-9747-8515,

**ГАЛИНА Анастасия Владимировна** – м.н.с., volkovaav58@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7823-3865,

**ГОЛОВИНОВ Игорь Викторович** – м.н.с., ivgolovinov@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-3011-6904,

**ХОДАКОВА Дарья Владиславовна** – м.н.с., KhodakovaDV@yandex.ru, ORCID:0000-0003-3753-4463,

**ШУЛЬГА Анна Александровна** – м.н.с., slip.anka96@mail.ru, ORCID: 0009-0006-1125-2897

As indicated in the extant literature, numerous research groups encounter challenges in creating PDX models of gastric cancer, which is associated with a low level of engraftment of tumor samples. Consequently, in the pursuit of enhancing and refining the conventional implantation technique, we have recognized the significance of the tumor sample collection site. It was hypothesized that cells located on the tumor periphery and forming the invasion front may have a more prjonounced potential for malignant growth and, consequently, the ability to grow as xenografts. To this end, ten gastric tumor samples were obtained from each patient: five from the tumor edges and five more from areas more than 5 mm from the visible tumor edge. All samples were implanted subcutaneously on the right side of Balb/C Nude mice. A subsequent analysis of the results indicated that, upon the collection of biological material concurrжent with the capture of the visible tumor edge, the formation of tumor nodules occurred in three out of five recipient animals. Consequently, the xenotransplantation efficiency in this instance was determined to be 84%. Conversely, when tissue samples were obtained from areas distant from the tumor edge, the formation of tumor nodules in recipient animals was observed in only one procedure out of five. Consequently, the xenotransplantation efficiency was 20%. The histological examination

conducted as part of this study revealed that the heterotopic PDXs accurately reproduced the histotype of the corresponding donor tumors, confirming their adenocarcinoma status. We also conducted an IHC study, which demonstrated that the level of Ki-67 expression in the tumor edges forming the invasion front was significantly higher, with an average value of 70 [60; 80]%. Conversely, in samples extracted from non-marginal regions of the same tumor, Ki-67 expression levels were notably lower, with an average of 15% [5; 25%] ($p<0.05$). The obtained data suggest that the higher proliferative potential characterizing the marginal areas of tumors may contribute to more effective xenotransplantation of such tumor samples compared to samples obtained from areas of the tumor remote from the visible edge and characterized by a lower proliferative potential.

**Keywords:** gastric cancer, heterotopic model, PDX models, mouse models

**Для цитирования:** Камлык Д.В., Колесников В.Е., Гурова С.В., Галина А.В., Головинов И.В., Ходакова Д.В., Шульга А.А. Изучение влияния топологии забора образцов опухоли на результативность процедуры ксенотрансплантации при создании PDX модели рака желудка. Якутский медицинский журнал, 2025; 91(3): 56-59. https://doi.org/10.25789/YMJ.2025.91.13

**Введение.** Рак желудка (РЖ) представляет собой онкологическое заболевание, занимающее пятое место по распространенности, а также является четвертой причиной смертности от рака во всем мире [7]. Данное заболевание имеет сложную этиологию. На его возникновение оказывают влияние множество как внутренних, так и внешних факторов, среди которых можно выделить генетическую предрасположенность, инфекционные заболевания, привычки в питании [1, 13].

Пациенты на ранней стадии РЖ подвергаются хирургической резекции с последующей химиотерапией, а послеоперационная 5-летняя выживаемость может достигать 90% [1]. Однако частота выявления РЖ на первой стадии низкая, что связано с отсутствием ярко выраженных клинических признаков, в связи с чем у большинства пациентов (>70%) заболевание обнаруживают на поздних стадиях [10].

Несмотря на значительные достижения в радиационной, иммунной и химиотерапии, хирургическая резекция остается единственным радикальным методом борьбы с РЖ [2,11]. В связи с этим, необходимы исследования, позволяющие расширить понимание патогенеза РЖ и способствующие разработке таргетных стратегий лечения. В такого рода исследованиях ключевую роль играет предварительная селекция терапевтических кандидатов на этапе доклинических испытаний. В контексте экспериментальных исследований по противораковой терапии опухолевые модели in vivo имеют важное значение, способствуя продвижению перспективного препарата-кандидата к клиническим испытаниям [12].

Современные фармакологические исследования все активнее используют PDX-модели (patient-derived xenograft), создаваемые путем трансплантации человеческих опухолевых тканей лабораторным животным для доклинической оценки эффективности новых препаратов. Животные модели крайне важны для понимания биологического поведения опухоли и молекулярного механизма канцерогенеза и оценки эффективности лекарств [5].

Тем не менее частота успешного приживления опухолевого материала, полученного от пациентов, и, соответственно, развития PDX-моделей РЖ на иммунодефицитных мышах варьируется от удовлетворительной до крайне низкой [8]. Этот факт ограничивает широкое использование PDX-моделей при реализации персонализированных методов лечения РЖ. Поэтому важно провести исследования различных методологических подходов, которые могут повысить эффективность ксенотрансплантации. [9].

В связи с этим целью нашего исследования является оценка зависимости успешности приживления гетеротопических PDX-моделей РЖ у мышей Balb/c Nude от локализации отбираемых опухолевых фрагментов.

**Материалы и методы.** *Лабораторные животные.* Исследование проводили на самках иммунодефицитных мышей линии Balb/c Nude в возрасте 8-10 недель массой 24-27 г. Животных содержали в индивидуальных вентилируемых клетках вивария Испытательного лабораторного центра ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России с обеспечением свободного доступа к воде и корму. Экспериментальные процедуры выполняли в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (ETSN 123, Страсбург, 1986) после одобрения протокола локальным биоэтическим комитетом.

*Биологический материал.* Для исследования использовали образцы опухолевой ткани желудка, полученные от пяти пациентов ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. Все участники подписали информированное согласие на использование биологического материала в научных целях.

*Анестезия.* Хирургические вмешательства у животных выполняли под комбинированной анестезией: внутримышечно вводили ксилазин (20 мг/кг) и золетил (50 мг/кг).

*Методика формирования подкожных PDX-моделей РЖ.* Опухолевые фрагменты, полученные во время хирургических вмешательств у пациентов с диагнозом РЖ, использовали для создания ксенографтных моделей. Трансплантацию проводили в подкожную клетчатку правой боковой поверхности тела лабораторных животных. По достижению необходимой глубины наркоза животным производили рассечение кожи с правого бока, с последующим введением стерильных закрытых тупых ножниц в подкожное пространство для отделения брюшиной полости от кожи для создания подкожного кармана. Не травмируя брюшную полость, производили имплантацию выделенного опухолевого материал. После имплантации операционную рану герметизировали посредством наложения узловых швов. Все манипуляции осуществляли с соблюдением строгих асептических условий.

*Мониторинг и анализ опухолевого роста.* Еженедельный контроль размеров новообразований проводили штангенциркулем, начиная с 14 дня после трансплантации. Объем опухоли вычисляли по стандартной формуле:

$$V=LW^2/_2,$$

где L, W, – линейные размеры опухоли.

*Эвтаназия.* По окончании периода наблюдения животных подвергали эвтаназии методом декапитации с последующей эксцизией опухолевых образований для дальнейшего исследования.

*Гистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование*. Для проведения исследования биологический материал был зафиксирован в 10%-м растворе формалина на протяжении 24 часов. Это необходимо

для сохранения структуры тканей и предотвращения их разложения. Окрашивание срезов гематоксилином и эозином было выполнено согласно стандартной методике. Автоматизированное окрашивание опухолевых срезов проводили на иммуногистостейнере BenchMark ULTRA (Ventana) с использованием моноклональных антител к Ki-67 (клон SP6, Cell Marque) в разведении 1:200. Количественную оценку экспрессии белка проводили путем микроскопического подсчета процентного соотношения клеток с позитивным ядерным окрашиванием к общему числу опухолевых клеток, анализируя не менее десяти случайных полей зрения.

*Статистический анализ*. Анализ данных выполняли с использованием пакета Statistica 10 (StatSoft, США). Количественные показатели представлены как медиана с интерквартильным размахом (25-75 процентили). Для сравнения независимых выборок применяли непараметрический U-критерий Манна-Уитни, статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

**Результаты и обсуждение.** По данным литературы, многие исследовательские группы сталкиваются с трудностями в создании PDX-моделей РЖ, что связано с низким уровнем приживления опухолевых образцов. В одной из работ было продемонстрировано, что показатель успешного приживления составил 28,12% [4], в другом исследовании PDX модели РЖ были успешно созданы в 24,2% [3].

В ходе разработки усовершенствованной методики трансплантации особое внимание уделили анализу значения топографии забора опухолевого материала. На основании научных данных возникло предположение, что клеточные популяции, расположенные в зоне инвазивного фронта, характеризуются повышенной пролиферативной активностью и, соответственно, большей вероятностью успешного приживления в ксенографтной модели.

Для верификации данной гипотезы от каждого пациента отбирали по 10 образцов: 5 фрагментов из краевой зоны новообразования и 5 – из центральных отделов (с отступом >5 мм от макроскопической границы). Все образцы трансплантировали в подкожную клетчатку правой боковой области у мышей линии Balb/C Nude. Образцы опухоли из центральных зон не использовались для создания PDX, поскольку эти зоны, как правило, содержали некротические участки. Опухоль считалась успешно прижившейся, если объем опухолевого узла достигал не менее 60 мм³. Наблюдение выполняли в течение трех месяцев, если в течение этого времени не наблюдался рост опухолевых узлов, то процедура ксенотрансплантации признавалась неэффективной.

**Результаты гетеротопической имплантации образцов рака желудка мышам линии Balb/C Nude**

| ID эксперимента | Метод забора | Центральные участки (1-я генерация) | Инвазивный край (1-я генерация) |
|---|---|---|---|
| PDX-GC-01 | Дистальная субтотальная резекция | 0/5 | 3/5 |
| PDX-GC-02 | | 3/5 | 4/5 |
| PDX-GC-03 | | 0/5 | 0/5 |
| PDX-GC-04 | | 0/5 | 3/5 |
| PDX-GC-05 | | 0/5 | 0/5 |

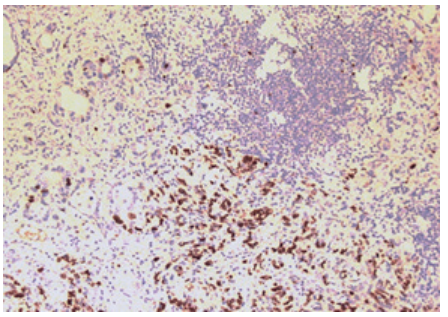
Результаты представлены в таблице.

Проведенный анализ выявил существенные различия в эффективности ксенотрансплантации в зависимости от локализации отбираемых опухолевых образцов. В группе с биоматериалом, полученным из краевой зоны новообразования, положительный результат зафиксирован в 60% случаев (3 успешных приживления из 5 попыток). Напротив, трансплантация образцов, взятых из центральных отделов опухоли (на расстоянии более 5 мм от видимой границы), продемонстрировала значительно меньшую эффективность – всего 20% успешных приживлений (1 случай из 5). Полученные данные подтверждают первоначальную гипотезу о более высоком пролиферативном потенциале клеток, расположенных в зоне инвазивного фронта опухоли.

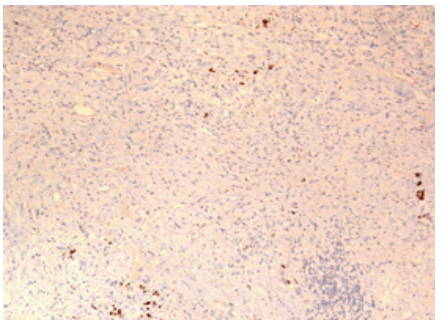
Значимость расположения клеток в опухоли была показана в работе S. Bastola и его соавторов. Экспериментальные данные, полученные на PDX-модели глиобластомы, свидетельствуют о повышенной инфильтративной активности опухолевых клеток, локализованных в периферических отделах новообразования, в сравнении с клеточными популяциями из его центральных зон [6].

Выполненное в рамках данной работы гистологическое исследование показало, что гетеротопические PDX воспроизводили гистотип соответствующих донорских опухолей и являлись аденокарциномами. Иммуногистохимический анализ выявил значимые различия в экспрессии Ki-67 между периферическими и центральными зонами опухолевых образцов (рисунок).

А



Б



Иммуногистохимическое окрашивание Ki-67 в опухолевых тканях желудка человека, ув×100. А – инвазивный фронт новообразования; Б – центральные отделы опухоли

Иммуногистохимический анализ выявил существенную разницу в пролиферативной активности между различными зонами опухолевой ткани. В клеточных популяциях, формирующих инвазивный фронт, показатель Ki-67 достигал 70% (интерквартильный размах 60-80%), тогда как в центральных отделах аналогичный параметр не превышал 15% (5-25%), что статистически значимо ($p<0,05$). Эти данные свидетельствуют о выраженной гетерогенности опухоли по пролиферативному потенциалу, что может объяснять различия в эффективности приживления при ксенотрансплантации – клетки периферических отделов с высокой

митотической активностью демонстрируют лучшую способность к образованию трансплантатов по сравнению с менее пролиферативными клетками центральных участков. Изучив данные из научных работ и результаты собственных исследований, мы пришли к пониманию важности топографии опухолевых образцов для успешного приживления ксенотрансплантантов.

**Заключение**. На основании полученных данных разработан усовершенствованный протокол создания гетеротопических PDX-моделей, предполагающий приоритетное использование биологического материала из периферических зон новообразования. Предлагаемая методика демонстрирует существенное преимущество по сравнению с традиционными подходами, обеспечивая значительное повышение эффективности приживления опухолевых трансплантатов. Его интеграция в исследовательские протоколы может значительно улучшить точность и адаптивность экспериментальных опухолевых моделей. Важно отметить, что такая методология создает благоприятные условия для персонализированного подхода в противораковых исследованиях, что может способствовать дальнейшему улучшению результатов лечения пациентов с злокачественными новообразованиями желудка.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

## Литература


1. Особенности экспрессии соматостатиновых рецепторов в карциномах желудка в зависимости от доли нейроэндокринного компонента. / О.И. Кит, И.С. Дерижанова, Н.С. Карнаухов [и др.] // Вопросы онкологии. 2021; Т. 67. №. 5: 683-686. DOI 10.37469/0507-3758-2021-67-5-675-682.

Features of the expression of somatostatin receptors in gastric carcinomas depending on the proportion of the neuroendocrine component. / O.I.Kit, I. S. Derizhanova, N.S. Karnaukhov [et al.] // Issues of oncology. 2021; Vol. 67. No.5: 683-686. DOI 10.37469/0507-3758-2021-67-5-675-682.

2. Пути моделирования опухолевого роста у мышей в экспериментальных исследованиях рака желудка человека / А.А. Киблицкая, Т.С. Карасев, А.С. Гончарова [и др.] // Южно-Российский онкологический журнал. 2021. Т. 2. №. 4: 26-37. DOI: 10.37748/2686-9039-2021-2-4-4.

Pathways for Modeling Tumor Growth in Mice in Experimental Studies of Human Gastric Cancer / A.A. Kiblitskaya, T.S. Karasev, A.S. Goncharova [et al.] // South-Russian Journal of Oncology. 2021; Vol. 2. No.4: 26-37. DOI: 10.37748/2686-9039-2021-2-4-4.

3. Choi Y.Y., Lee J.E., Kim H., et al. Establishment and characterisation of patient-derived xenografts as paraclinical models for gastric cancer. Scientific reports. 2016; T.6. No.1: 22172. DOI:10.1038/srep22172.

4. Wang H., Lu J., Tang J., et al. Establishment of patient-derived gastric cancer xenografts: a useful tool for preclinical evaluation of targeted therapies involving alterations in HER-2, MET and FGFR2 signaling pathways. BMC cancer. 2017; T. 17: 1-11. DOI: 10.1186/s12885-017-3177-9.

5. Sexton R. E., Al Hallak M. N., Diab M., et al. Gastric cancer: a comprehensive review of current and future treatment strategies. Cancer and Metastasis Reviews. 2020; T. 39: 1179-1203. DOI: 10.1007/s10555-020-09925-3.

6. Bastola S., Pavlyukov M.S., Yamashita D., et al. Glioma-initiating cells at tumor edge gain signals from tumor core cells to promote their malignancy. Nature communications. 2020; T. 11. No.1: 4660. DOI: 10.1038/s41467-020-18189-y.

7. Guan W. L., He Y., Xu R. H. Gastric cancer treatment: recent progress and future perspectives. Journal of hematology & oncology. 2023; T. 16. No.1: 57. DOI:10.1186/s13045-023-01451-3.

8. Ughetto S., Migliore C., Pietrantonio F., et al. Personalized therapeutic strategies in HER2-driven gastric cancer. Gastric Cancer. 2021; T. 24: 897-912. DOI:10.1007/s10120-021-01165-w.

9. Aschero R, Castillo-Ecija H, Baulenas-Farres M., et al. Prognostic value of xenograft engraftment in patients with metastatic high-risk neuroblastoma. Pediatric Blood & Cancer. 2023; 30318. DOI:10.1002/pbc.30318.

10. Song Z., Wu Y., Yang J., et al. Progress in the treatment of advanced gastric cancer. Tumor Biology. 2017; T. 39. No. 7: 1010428317714626. DOI:10.1177/1010428317714626.

11. Tan Z. Recent advances in the surgical treatment of advanced gastric cancer: a review. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. 2019; T. 25: 3537. DOI: 10.12659/MSM.916475.

12. Li Z., Wang J., Wang Z., et al. Towards an optimal model for gastric cancer peritoneal metastasis: current challenges and future directions. EBioMedicine. 2023. T. 92. DOI: 10.1016/j.ebiom.2023.104601.

13. Yasuda T., Wang Y. A. Gastric cancer immunosuppressive microenvironment heterogeneity: implications for therapy development. Trends in Cancer. 2024. DOI: 10.1016/j.trecan.2024.03.008.


ЗДОРОВЫЙ ОБРАЗ ЖИЗНИ. ПРОФИЛАКТИКА

DOI 10.25789/YMJ.2025.91.14

УДК 613.96

А.А. Осинская, А.Б. Гурьева

# ИЗУЧЕНИЕ ВАРИАЦИЙ ПРИВЕРЖЕННОСТИ ПРИНЦИПАМ ЗДОРОВОГО ОБРАЗА ЖИЗНИ И ВОСПРИЯТИЯ ЕГО КОНЦЕПЦИИ СРЕДИ СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКИХ И НЕМЕДИЦИНСКИХ НАПРАВЛЕНИЙ ОБУЧЕНИЯ В СВФУ ИМ. М.К. АММОСОВА

Проведена оценка и сопоставление соблюдения и представлений о концепции здорового образа жизни среди студентов медицинских и немедицинских специальностей СВФУ им. М.К. Аммосова. Использованы теоретический, вербально-коммуникативный и статистический методы исследования. Проведенное исследование показало, что современная студенческая молодежь в целом придерживается основных принципов здорового образа жизни. Среди студентов-медиков была меньше доля лиц, имеющих вредные привычки, и большее количество студентов, придерживающихся принципов здорового питания. В то же время студенты немедицинских специальностей в 2,48 раза чаще занимаются в спортивных секциях. Таким образом, студенты, обучающиеся по медицинским и немедицинским специальностям, имеют различное отношение к концепции здорового образа жизни и, следовательно, по-разному соблюдают его. Полученные

Мединститут СВФУ им. М.К. Аммосова, 677013, г. Якутск, ул. Кулаковского 34: **ОСИНСКАЯ Алена Александровна** – к.м.н., доцент, osin_alen@rambler.ru, ORCID 0000-0003-4926-6232, **ГУРЬЕВА Алла Борисовна** – д.м.н., проф., guryevaab@mail.ru, ORCID 0000-0003-2398-0542.