



КАМЛ Диагностика

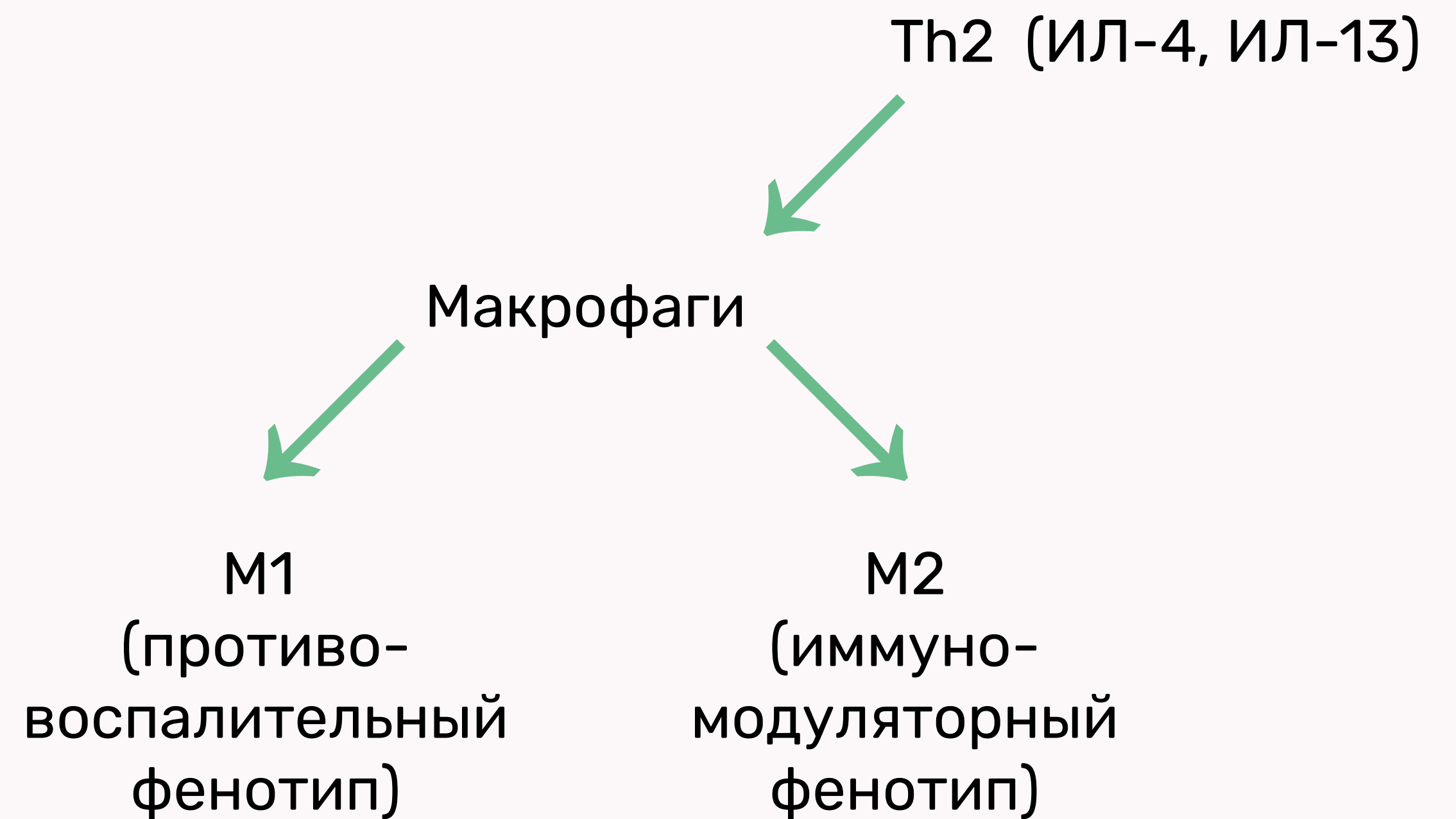
Циркулирующие опухоль-ассоциированные макрофаги (CAMLs) как перспективная мишень для диагностики и контроля лечения злокачественных новообразований женской репродуктивной системы.

Врач-онколог ГБУЗ НО «НОКОД» Зиновьев С.В.

Гамаюнов С.В., Илларионова Н.А, Ширманова М.В.,
Дружкова И.А., Кузнецова С.А.

Согласно классической теории R. Van Furth, считалось, что макрофаги и дендритные клетки (в том числе и опухолевого микроокружения) имеют костномозговое происхождение и образуются при миграции их предшественников — моноцитов — в периферические органы*

В настоящее время известно, что в основном резидентные макрофаги, заселяющие большинство периферических органов и тканей, за исключением макрофагов кишечника, происходят из эмбрионального желточного мешка.

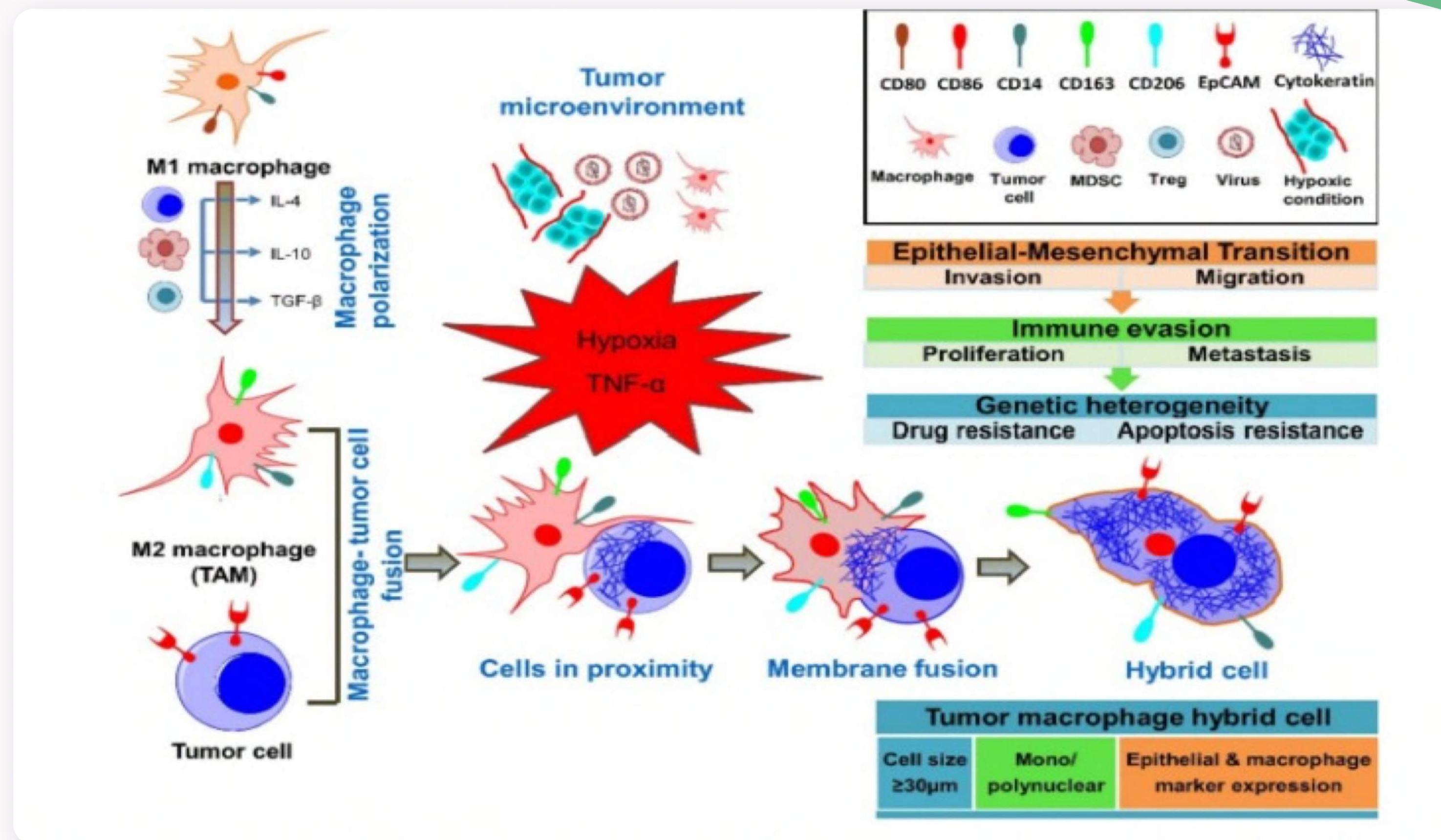


Опухоль-ассоциированные макрофаги (tumor associated macrophages, TAM) – преобладающий подкласс лейкоцитов в солидных опухолях

- Противовоспалительная и протуморогенная активность
- Модулируют микроокружение.
- Способствуют росту опухоли, инвазии в окружающие опухоль ткани и метастазированию в отдаленные сайты.
- Стимулируют ангиогенез, резистентность опухоли к химио- и радиотерапии.
- Создают условия избегания опухолью иммунного надзора.

ТAM в опухолевых сайтах, как правило, имеют статус альтернативно активированных или M2-макрофагов

Слияние опухолевых клеток с макрофагами



У пациентов с меланомой без рентгенологических признаков отдаленных метастазов, в гистологически отрицательных лимфатических узлах были обнаружены макрофагоподобные клетки, которые экспрессируют мРНК антигена меланомы, распознаваемого Т-клетками 1 (MART-1) и содержат гранулы меланина.

Авторы предположили, что некоторые из этих клеток могут представлять собой гибриды макрофагов и меланомы, такие как на мембранах этих клеток был выявлен белок CD68, который коэкспрессируется с мРНК MART-1



CAMLs как инструмент метастазирования.

Культивирование CTCs полученных от диссеминированных больных раком молочной железы, несущих большое количество CTCs, не привело к образованию метастатических очагов у мышей NOD/SCID.

Использование методов градиентного центрифугирования с последующей ксенотрансплантацией культур слияния макрофагов/опухолевых клеток(CAMLs) из крови больных меланомой и протоковой аденокарциномой поджелудочной железы приводило к диссеминации и метастатическому поражению отдаленных участков органов мышей. Эти клетки экспрессировали как первичные меланоцитарные опухолевые маркеры (MLANA, ALCAM), так и опухолеобразующие M2 маркеры макрофагов (CD206, CD 208).

Donnenberg, V.S.; Huber, A.; Basse, P.; Rubin, J.P.; Donnenberg, A.D. Neither epithelial nor mesenchymal circulating tumor cells isolated from breast cancer patients are tumorigenic in NOD-scid Il2rg(null) mice. NPJ Breast Cancer 2016, 2, 16004.

Clawson, G.A.; Matters, G.L.; Xin, P.; McGovern, C.; Wafula, E.; dePamphilis, C.; Meckley, M.; Wong, J.; Stewart, L.; D'Jamoos, C.; et al. "Stealth dissemination" of macrophage-tumor cell fusions cultured from blood of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. PLoS ONE 2017, 12, e0184451.

Clawson, G.A.; Matters, G.L.; Xin, P.; Imamura-Kawasaki, Y.; Du, Z.; Thiboutot, D.M.; Helm, K.F.; Neves, R.I.; Abraham, T. Macrophage-tumor cell fusions from peripheral blood of melanoma patients. PLoS ONE 2015, 10, e0134320.

CAMLs

Гигантские клетки миелоидного происхождения (CD14+/CD11c+), имеют увеличенные ядра и размеры, являются CD45+ и проявляют цитоплазматическое окрашивание цитокератином 8, 18 и 19 и молекулой адгезии эпителиальных клеток (Epcam), что характерно для эпителиальных клеток.

Критерии идентификации CAMLs:

Размер: до 300 мкм, увеличенное ядро, наличие множества вакуолей.

Фенотип: CD14+/CD11c+, Epcam, CK8, 18,19, CD45

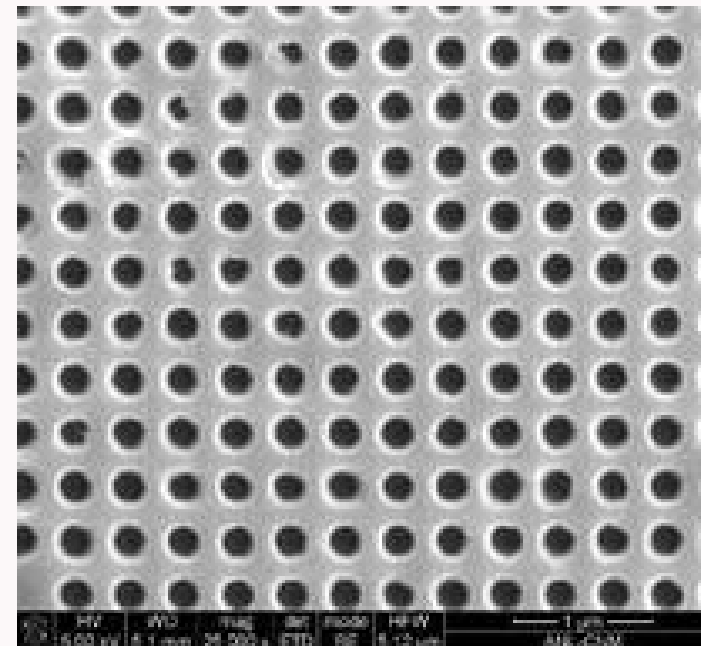
Макрофаги

Эпителиальные клетки

К
М

Аналоги

CellSieve low-pressure
microfiltration assay
(Creatv MicroTech, Inc.)



CellSearch CTC test
(Janssen Diagnostics, LLC)



Система CellSieve идентифицировала по крайней мере одну CTC в 72% образцов пациентов, тогда как CellSearch выявил по крайней мере один CTC только в 58% образцов. Напротив, CellSieve идентифицировал CAMLs в 97% образцов.



CAMLs interacting with CTCs in patient blood. Images from left to right show a merged image of DAPI, cytokeratins, EpCAM, and CD45

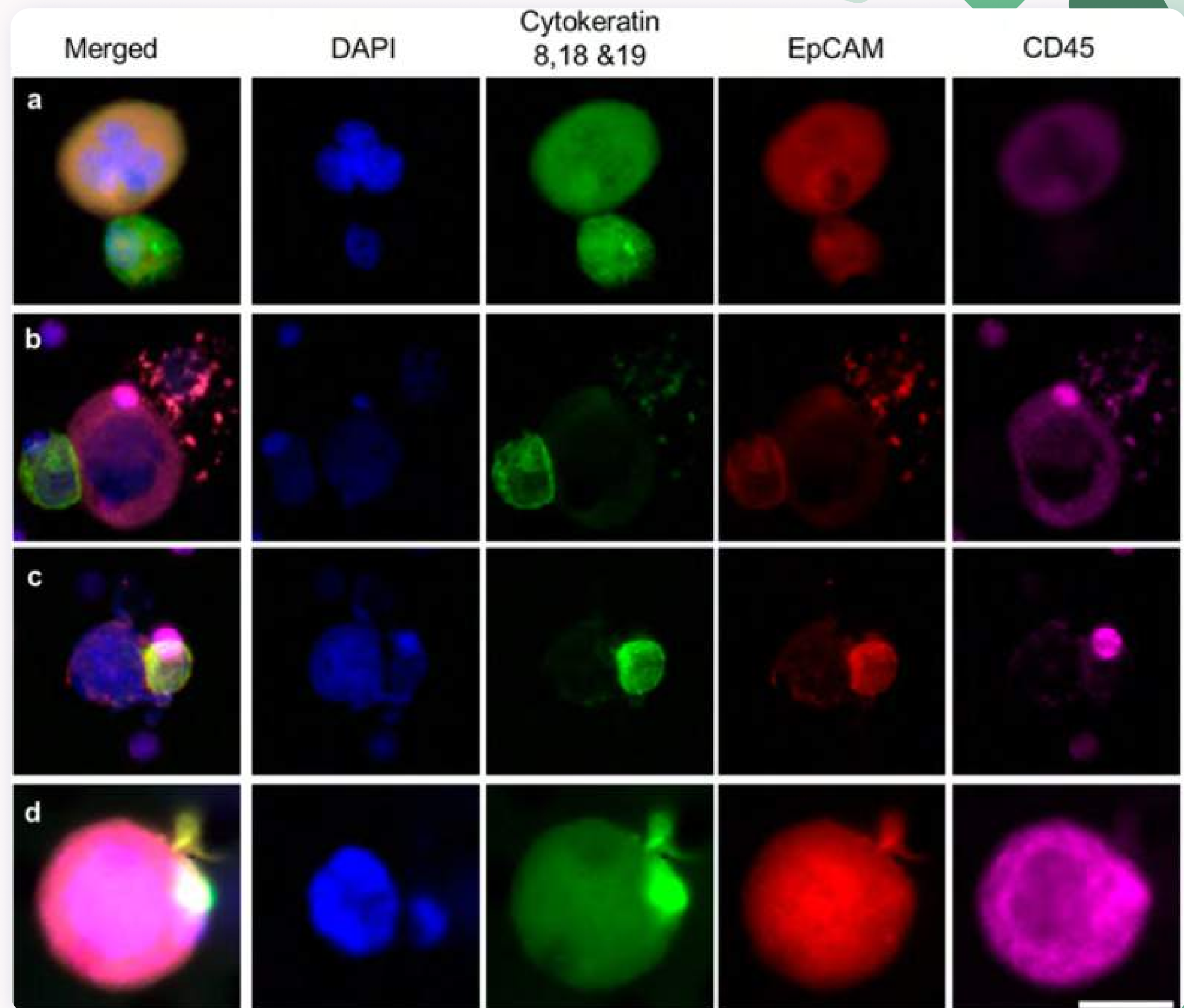
immunostains and images staining for individual markers. CTCs are filamentous cytokeratin-positive and CD45⁻ cells. CAMLs are the large CD45⁺ cells. CTCs and CAMLs were observed with varying levels of interactions.

(A) Loose association of a CAML cell (above) and CTC (below).

(B) CAML cell (center) bound to a CTC (far left) and an apoptotic cell (far right).

(C) Attachment with membranes fusing (image includes a CD45⁺ blood cell behind the CTC, top right).

(D) Engulfment of a putative CTC within the CAMLs cytoplasmic area. (Scale bars, 20 μm .)



Cell type	PDX-1	PSMA	CD11c	CD14	CD146	TIE-2 (C202b)	Cytokeratin 8, 18, and 19	EpCAM (CD326)	CD45 (LCA)
CAML	+,*	+, ‡	+	+/-	+/-	+/-	+	+	+/-
Breast CTC	-	-	-	-	-	-	+	+/-	-
Prostate CTC	-	+	-	-	-	-	+	+/-	-
Pancreas CTC	+	-	-	-	-	-	+	+/-	-
Epithelial cell	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Monocyte	-	-	+	+	-, §	-, §	-	-	+
Endothelial cell	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Megakaryocyte	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-
White blood cell	-	-	-, †	-, †	-	-	-	-	+

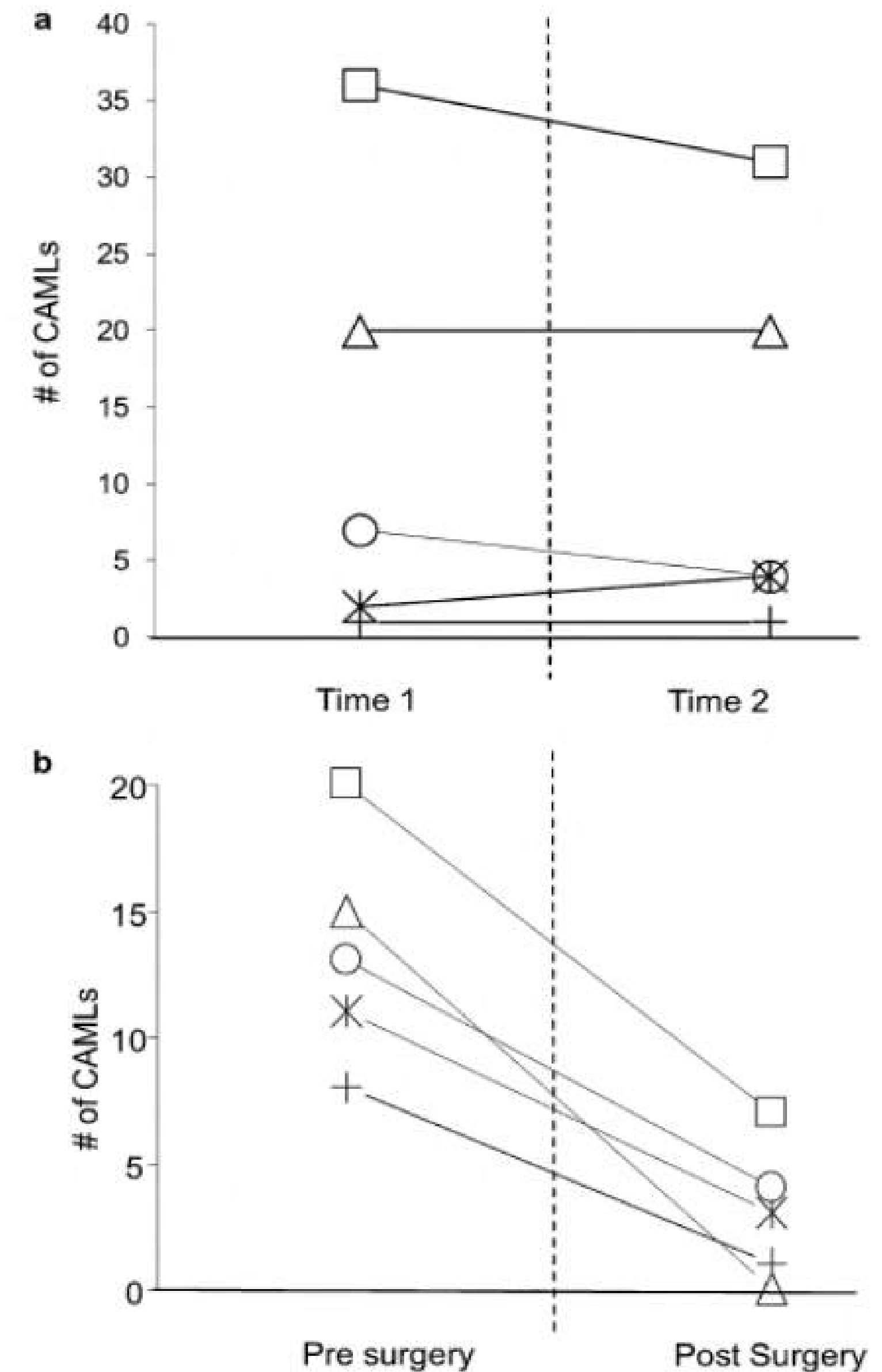
+, Positive in the majority of cell types. -, Negative in the majority of cell types. +/-, Cell populations are heterogeneous for this marker and may be positive or negative. *, Found only in cells from pancreatic cancer patients. ‡, Found only in cells from prostate cancer patients. §, A small subset population of monocytes are positive for this marker. †, Monocytes are a subpopulation of WBCs and commonly express the CD45 marker.

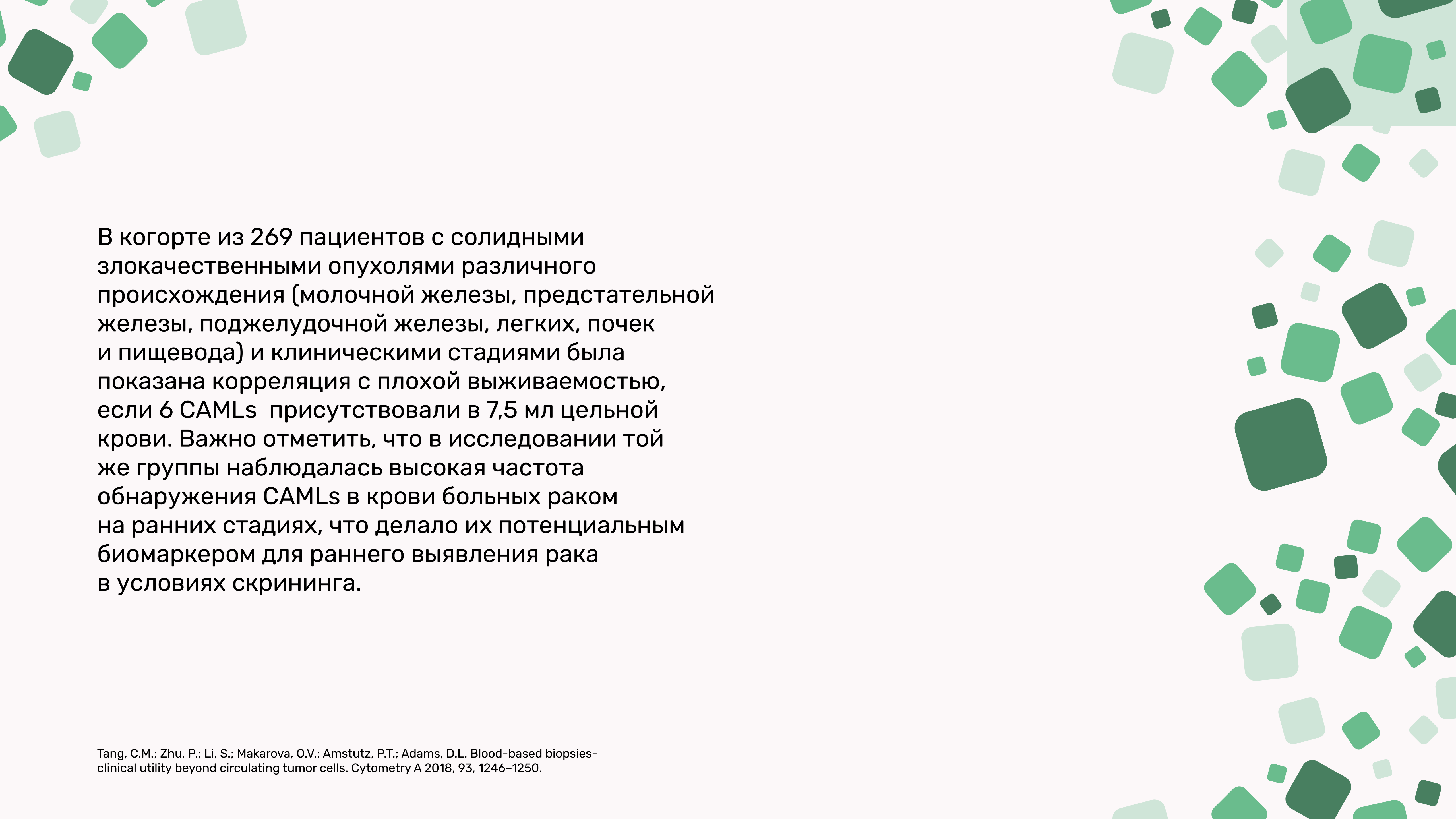
Table S1. Summary of healthy subject data, CAML patient data, and CTC patient data separated by stage and therapy type

Disease and treatment characteristics	No. of subjects	CAML ⁺ , %	Mean CAML ± SD	Median CAML	CAML range	CTC ⁺ , %	Mean CTC ± SD	Median CTC	CTC ranges
Disease status									
Healthy normal	28	0	0 ± 0	0	0–0	0	0 ± 0	0	0–0
Nonmalignant cancer	2	0	0 ± 0	0	0–0	0	0 ± 0	0	0–0
Stage I	12	67	8.6 ± 17.2	3.0	0–61	33	3.3 ± 9.7	0	0–34
Stage II	18	94	7.8 ± 7.8	4.5	0–28	39	5.8 ± 19.4	0	0–83
Stage III	13	100	14.8 ± 12.4	8.0	2–43	62	12.2 ± 29.1	3.0	0–108
Stage IV	24	96	22.0 ± 24.0	10.5	0–82	75	59.7 ± 175.9	3.0	0–682
Unknown	12	100	7.2 ± 3.1	6.5	3–12	50	1.3 ± 1.7	0.5	0–5
Treatment									
No treatment	35	85	4.8 ± 4.9	3.0	0–20	36	4.9 ± 16.3	0	0–83
Hormone	12	92	7.4 ± 5.9	7.0	0–20	70	6.8 ± 9.8	3.0	0–34
Chemotherapy	24	100	26.0 ± 22.0	25.0	2–82	58	9.2 ± 23.1	2.0	0–108
Unknown	8	100	21.4 ± 20.8	12.5	13–64	86	154.1 ± 284.8	2.0	2–682
Total patients with malignant cancer	79	92	13.3 ± 17.0	7.0	0–82	54	21.7 ± 98.4	1.0	0–682

Comparison of the change in CAML numbers in patients at two surgical or two nonsurgical time points. (A) CAMLs were isolated from five individual cancer patients [two with pancreatic cancer (+, *), one with prostate cancer (○), and two with breast cancer (□, Δ)]. At a follow-up visit, 30–180 d later, a second sample was taken before any change in therapy was applied. The number of CAMLs remained steady over various time periods.

(B) CAMLs were isolated and enumerated from five individual patients with nonmetastatic cancer [three with pancreatic cancer (○, □, Δ) and two with prostate cancer (+,*)] 30–45 d before surgical resection and 30–60 d postsurgical resection. A 65–100% reduction in the number of CAMLs was seen between presurgical counts and postsurgical counts. The reduction, but not complete absence, of CAMLs suggests that the mechanism responsible for the formation of CAMLs is still detectable immediately after surgical cancer resections. A long-term prospective study tracking changes in CAML number in relation to surgical resections is currently underway.





В когорте из 269 пациентов с солидными злокачественными опухолями различного происхождения (молочной железы, предстательной железы, поджелудочной железы, легких, почек и пищевода) и клиническими стадиями была показана корреляция с плохой выживаемостью, если 6 CAMLs присутствовали в 7,5 мл цельной крови. Важно отметить, что в исследовании той же группы наблюдалась высокая частота обнаружения CAMLs в крови больных раком на ранних стадиях, что делало их потенциальным биомаркером для раннего выявления рака в условиях скрининга.

Образцы крови были взяты у 63 пациентов с раком поджелудочной железы до начала лечения. CAMLs были обнаружены в 95% протестированных образцов, причем ≥ 12 CAMLs/7,5 мл и ≥ 50 мкм CAMLs предсказывали как стадию, вероятность прогрессирования, так и выживаемость без прогрессирования.

ARTICLE **OPEN**



Circulating stromal cells in resectable pancreatic cancer correlates to pathological stage and predicts for poor clinical outcomes

Kirby P. Gardner^{1,2}, Mohammed Aldakkak³, Cha-Mei Tang⁴, Susan Tsai³ and Daniel L. Adams^{1,5*}

Pancreatic cancer (PC) is notoriously difficult to diagnosis and properly stage resulting in incorrect primary treatment. Diagnostic and prognostic biomarkers are desperately needed to more accurately stage patients and select proper treatments. Recently, a newly discovered circulating stromal cell, i.e. cancer associated macrophage-like cell (CAML), was found to accurately identify solid cancers and predict for worse prognosis. In this pilot study, blood samples were procured from 63 PC patients prior to start of therapeutic intent. CAMLs were found in 95% of samples tested, with ≥ 12 CAMLs/7.5 mL and ≥ 50 μ m CAMLs both predicting for advanced pathological stage and progression free survival. These data suggest that CAML assessment prior to treatment of PC predicts patients with under-staged disease and with more aggressive PC less likely to respond to standard of care treatment.

npj Precision Oncology (2021)5:25; <https://doi.org/10.1038/s41698-021-00161-8>

INTRODUCTION

Pancreatic cancer (PC) is the third leading cause of cancer mortality in the United States with a predicted 56,770 new cases of PC in 2019 and an estimated 45,750 deaths due to disease¹. A primary issue causing the high mortality of PC is the inability to

however, CEA changes can result from non-malignant factors, limiting specificity in monitoring PC¹⁵. Circulating Tumor Cells (CTC) are tumor cells found in the blood of metastatic cancer patients that identify patients with poorer prognosis, however they are rare in PC and specific to patients with metastatic disease (100% sensitivity of ≥ 1 CTC/7.5ml in metastatic PC)^{16,17}

Gardner KP, Aldakkak M, Tang CM, Tsai S, Adams DL. Circulating stromal cells in resectable pancreatic cancer correlates to pathological stage and predicts for poor clinical outcomes. *NPJ Prec Oncol.* 2021 Mar 19;5(1):25.

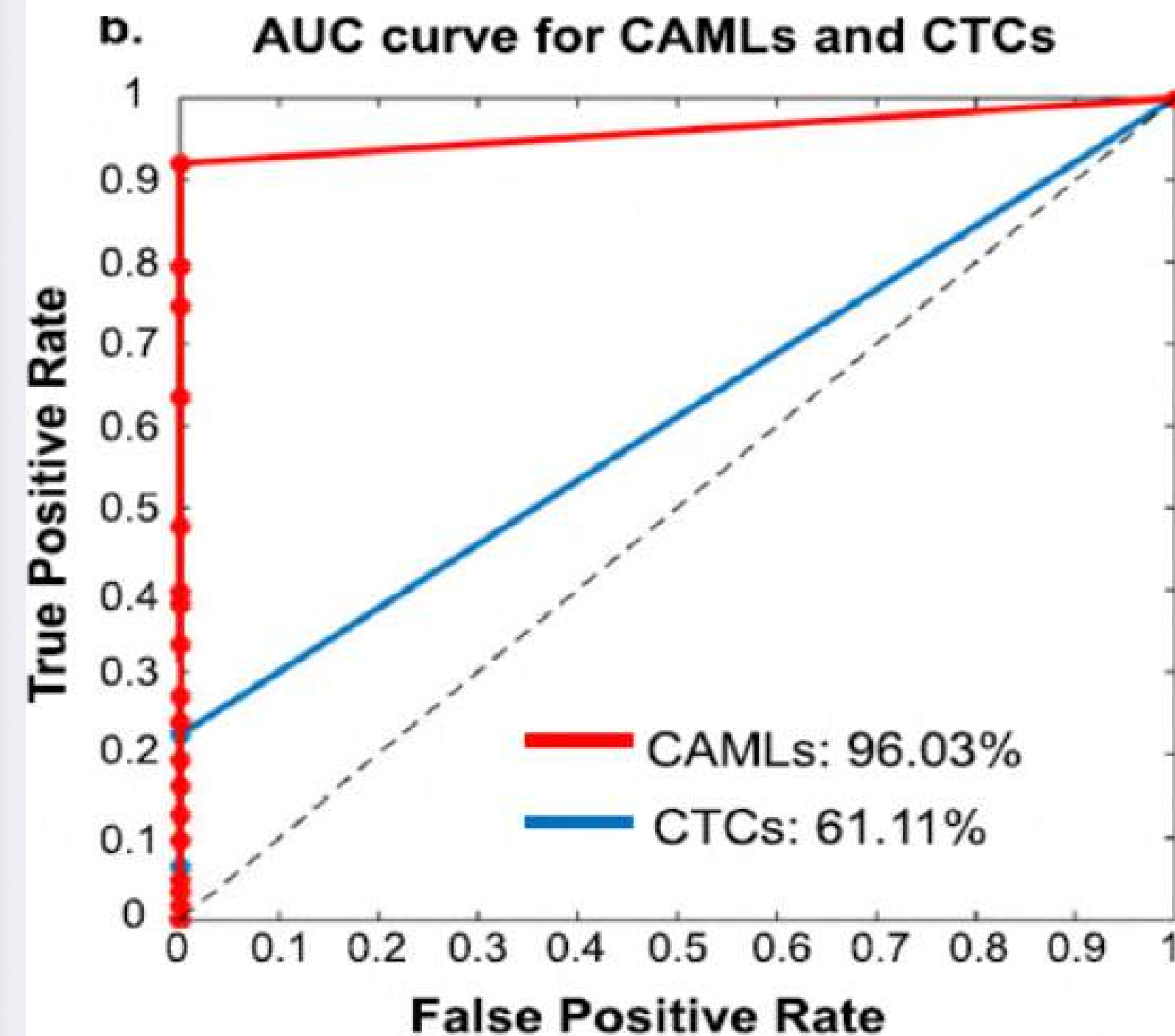
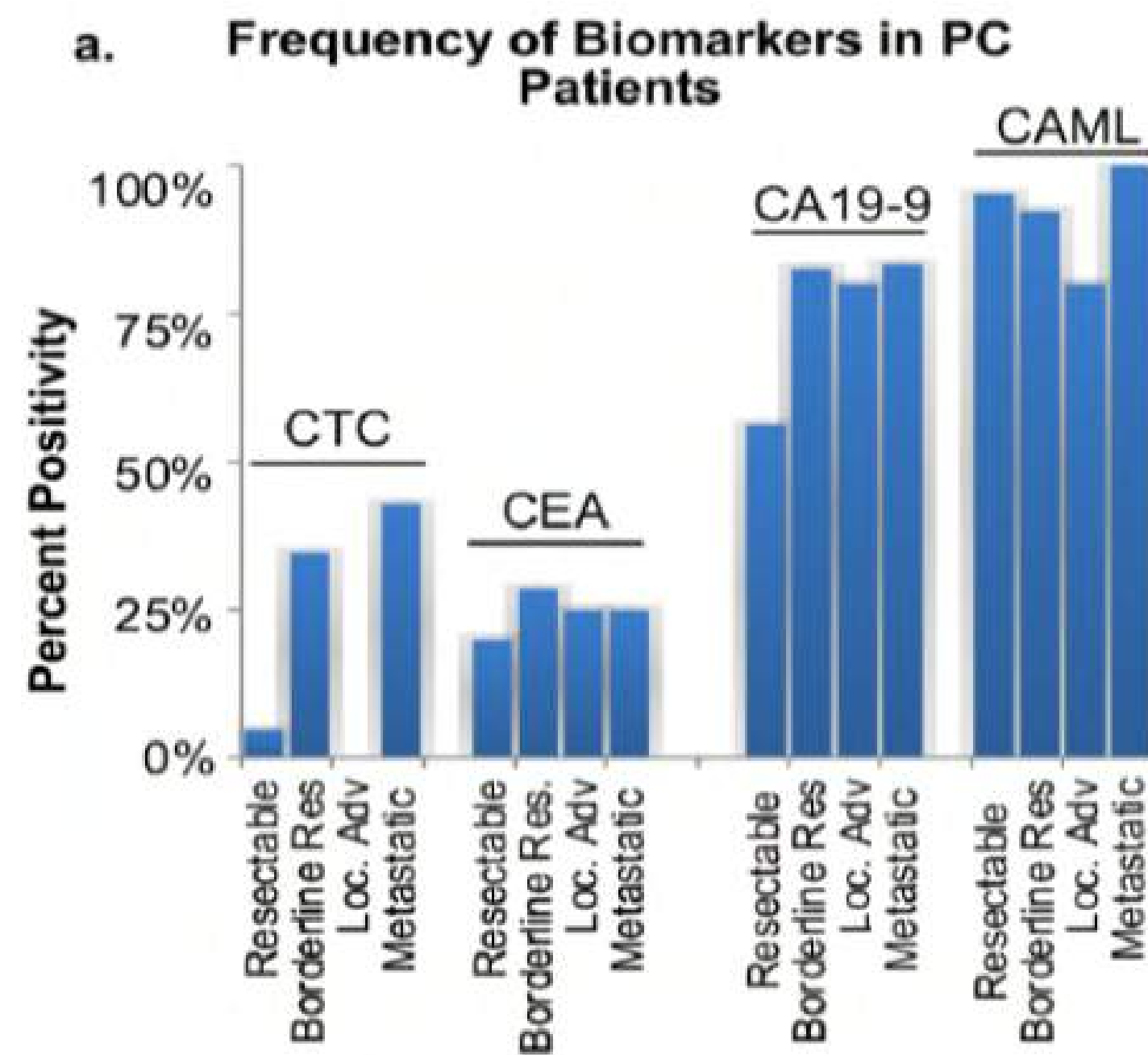


Fig. 2 Sensitivity and Specificity of CTCs and CAMLs in Pancreatic cancer patients referred for resection. a Frequency of CTCs (>1 cell/sample), CEA (>5 ng/mL), CA19-9 (>37 μ g/mL), and CAMLs (>1 cell/sample) as they relate to resectability. **b** ROC curve showing the specificity/sensitivity of CAMLs (red) and CTCs (blue) in comparison with 40 healthy controls.

RESEARCH

Open Access



Cancer associated macrophage-like cells and prognosis of esophageal cancer after chemoradiation therapy

Daniel J. Gironda¹, Daniel L. Adams^{2*}, Jianzhong He³, Ting Xu⁴, Hui Gao⁵, Yawei Qiao³, Ritsuko Komaki³, James M. Reuben³, Zhongxing Liao³, Mariela Blum-Murphy⁴, Wayne L. Hofstetter⁵, Cha-Mei Tang⁶ and Steven H. Lin^{7*}

Abstract

Background: Cancer Associated Macrophage-Like cells (CAMLs) are polynucleated circulating stromal cells found in the bloodstream of numerous solid-tumor malignancies. Variations within CAML size have been associated with poorer progression free survival (PFS) and overall survival (OS) in a variety of cancers; however, no study has evaluated their clinical significance in esophageal cancer (EC).

Methods: To examine this significance, we ran a 2 year prospective pilot study consisting of newly diagnosed stage I-III EC patients (n = 32) receiving chemoradiotherapy (CRT). CAML sizes were sequentially monitored prior to CRT (BL), ~2 weeks into treatment (T1), and at the first available sample after the completion of CRT (T2).

Results: We found CAMLs in 88% (n = 28/32) of all patient samples throughout the trial, with a sensitivity of 76% (n = 22/29) in pre-treatment screening samples. Improved 2 year PFS and OS was found in patients with CAMLs < 50 μm by the completion of CRT over patients with CAMLs ≥ 50 μm; PFS (HR = 12.0, 95% CI = 2.7–54.1, p = 0.004) and OS (HR = 9.0, 95% CI = 1.9–43.5, p = 0.019).

Conclusions: Tracking CAML sizes throughout CRT as a minimally invasive biomarker may serve as a prognostic tool in mapping EC progression, and further studies are warranted to determine if presence of these cells prior to treatment suggest diagnostic value for at-risk populations.

Keywords: Esophageal cancer, Cancer associated macrophage-like cell, Prognostic, Biomarker

Original Study

Giant Circulating Cancer-Associated Macrophage-Like Cells Are Associated With Disease Recurrence and Survival in Non-Small-Cell Lung Cancer Treated With Chemoradiation and Atezolizumab

Alexander Augustyn¹, Daniel L. Adams³, Jianzhong He¹, Yawei Qiao¹, Vivek Verma³, Zhongxing Liao¹, Cha-Mei Tang³, John V. Heymach², Anne S. Tsao², Steven H. Lin¹

Abstract

Development of distant metastatic disease is common in patients with locally advanced non-small-cell lung cancer, leading to high rates of cancer-related mortality. Monitoring for early signs of disease recurrence from peripheral blood markers is an attractive avenue toward personalizing cancer care. We identified a novel macrophage-like circulating cell whose size appears to associate with poorer survival and the development of metastatic disease shortly after completion of definitive treatment.

Background: Cancer-associated macrophage-like cells (CAMLs) are a potential peripheral blood biomarker for disease progression. This study used data from a phase 2 clinical trial to evaluate prognostic utility of CAMLs for locally advanced non-small-cell lung cancer treated with definitive chemoradiotherapy (CRT) and atezolizumab (DETERRED; ClinicalTrials.gov NCT02525757). **Patients and Methods:** Sample collection occurred at baseline (T0), during CRT (T1), at end of CRT (T2), and at first follow-up (T3). CAMLs were captured and quantified by the CellSieve system using multiplex immunostaining. Giant CAMLs were defined as characteristic CAMLs ≥ 50 μm. Kaplan-Meier methodology estimated progression-free survival, distant failure-free survival, relapse-free survival, and overall survival at 30 months. **Results:** Thirty-nine patients were evaluated between December 2015 and March 2018. Median follow-up was 27 months. Most disease was stage III (85%) and comprised squamous-cell carcinoma (58%) or adenocarcinoma (59%). In total, 267 blood samples were analyzed. Giant CAMLs were identified in 57%, 60%, 64%, and 63% of patients at T0, T1, T2, and T3, respectively. Patients with giant CAMLs at T3, occurring at a median of 30 days after completion of CRT, had significantly worse distant failure-free survival (hazard ratio [HR] 4.9, P = .015), progression-free survival (HR 2.5, P = .025), recurrence-free survival (HR 2.4, P = .036), and overall survival (HR 3.5, P = .034) compared to patients with small or no CAMLs. **Conclusions:** Presence of giant CAMLs after CRT completion was associated with development of metastatic disease and poorer survival despite the use of maintenance immunotherapy. Monitoring CAMLs may help risk-stratify patients for adaptive treatment strategies.



HHS Public Access

Author manuscript

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. Author manuscript; available in PMC 2017 July 01.

Published in final edited form as:

Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2016 July ; 25(7): 1037–1042. doi:10.1158/1055-9965.EPI-15-1221.

Circulating Cancer Associated Macrophage-Like Cells differentiate Malignant Breast Cancer and Benign Breast Conditions

Daniel L. Adams^{1,*}, Diane K. Adams², R. Katherine Alpaugh³, Massimo Cristofanilli⁴, Stuart S. Martin⁵, Saranya Chumsri^{5,6}, Cha-Mei Tang⁷, and Jeffrey R. Marks⁸

¹Creativ MicroTech, Inc., 1 Deer Park Dr., Monmouth Junction, NJ 08852

²Rutgers, the State University of New Jersey, 71 Dudley Rd., New Brunswick, NJ 08901

³Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA 19111

⁴Robert H Lurie Comprehensive Cancer Center, Northwestern University, 645 N Michigan Avenue, Chicago, IL 60611

⁵University of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD 21201

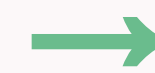
⁶Mayo Clinic Cancer Center, Jacksonville, FL 32224

⁷Creativ MicroTech, Inc. Rockville, MD 20850

⁸Duke University Medical Center, Durham, NC 27710

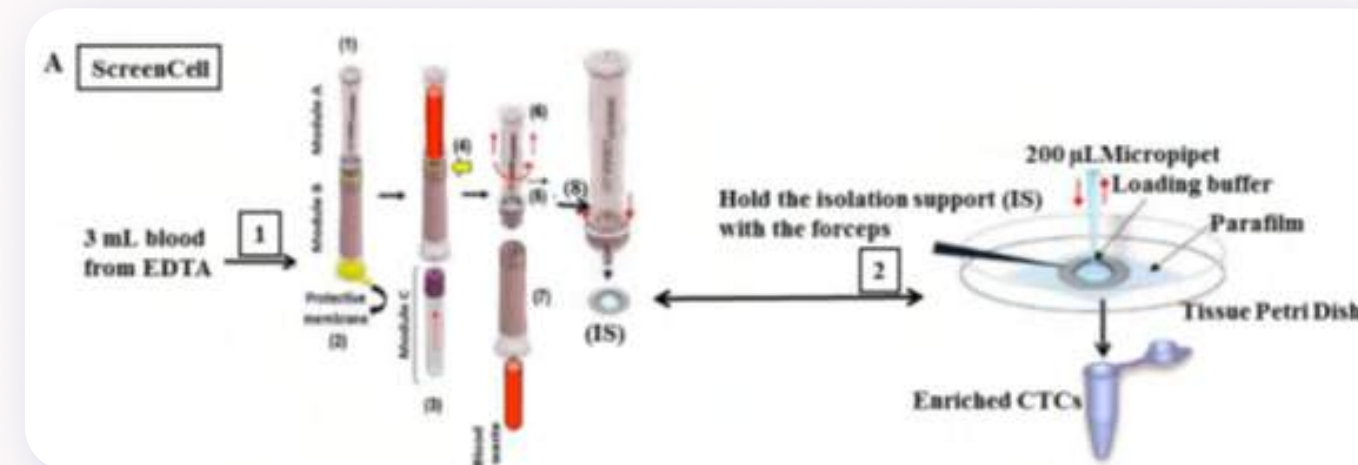
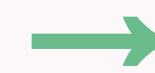
Возможные ограничения в использовании существующих систем детекции ЦОК и САМЛs

01
Необходимость использования сложного оборудования

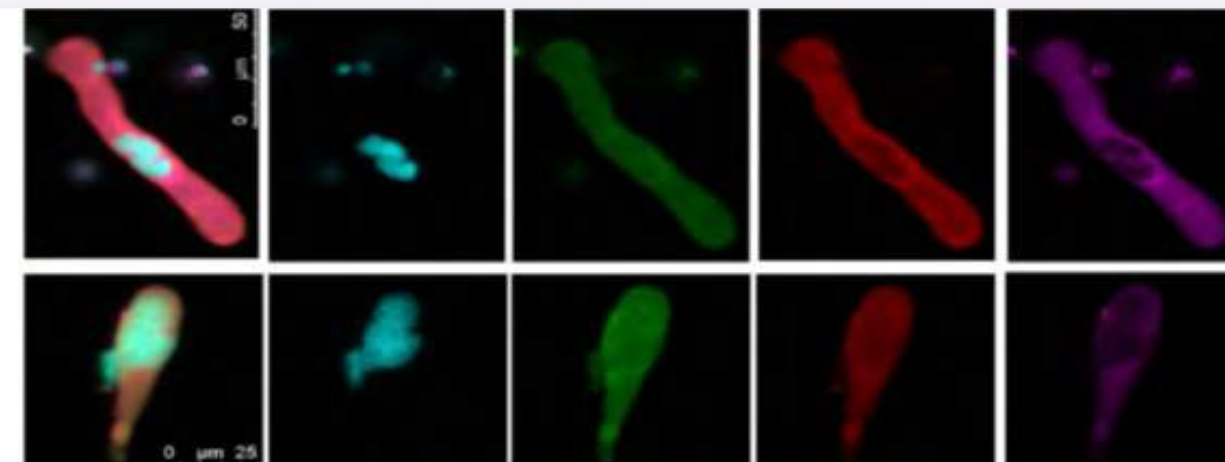
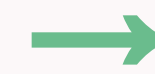


Проточный цитофлуориметр CELLSEARCH, Флуоресцентный микроскоп

02
Отсутствие автоматизации



03
Необходимость высокой квалификации сотрудников для интерпретации результата



Методика

1. Заполнить шприц фосфатным буфером pH 7.2-7.4, вставить шприц в шприцевой насос, соединить шприц трубкой с выходом фильтр-кассеты.
2. Включить шприцевой насос в направлении от шприца, заполнить фильтр-кассету буфером.
3. Цельную кровь с ЭДТА в качестве антикоагулянта развести фосфатным буфером в 2 раза, залить смесь в фильтр-кассету.
4. Включить шприцевой насос в направлении к шприцу. Скорость фильтрации 0.5 мл/мин.
5. Когда практически весь образец профильтрован, залить в фильтр-кассету 1-2 мл фосфатного буфера.
6. По окончании фильтрации выключить шприцевой насос, разобрать фильтр-кассету.
7. Вынуть фильтры с задержанными клетками, положить на предметное стекло для дальнейшего цитологического или иммунофлуоресцентного исследования.

Устройство для поиска и фиксации CTCs и CAML.



Материалы и оборудование

Антитела

- МЫШИНЫЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА
- К EPСAM, КЛОН VU-1D9 000 «Праймбиомед»
- МЫШИНЫЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА
- К ПАН-ЦИТОКЕРАТИНУ, КЛОН С11, 000 «Праймбиомед»
- АВ213363 АНТИТЕЛА ANTI-CD68 [EPR20545], КРОЛИЧЬИ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ, Abcam
- АВ150078-500 АНТИТЕЛА ANTI-RABBIT IGG H&L (ALEXA FLUOR® 555), ПОЛИКЛОНАЛЬНЫЕ, Abcam
- АВ150113-500 АНТИТЕЛА ANTI-MOUSE IGG H&L (ALEXA FLUOR® 488) ПОЛИКЛОНАЛЬНЫЕ, Abcam

Визуализация

Флуорисцентный микроскоп Leica DM6000 (Leica , Германия)

Программное обеспечение для обработки и анализа изображения: Leica Application Suite (Leica , Германия)

Объект исследования

34 образца периферической крови от пациентов с раком тела матки (28), раком яичников (4) и раком шейки матки (2). Контроль – образцы периферической крови от пациентов с лейомиомой матки (2)

Протокол исследования (краткий)

1. Фиксация материала 70% этанолом 5 минут, затем отмывка
2. Морфометрия в проходящем свете, детекция CAMLs
3. Нанесение первичных антител, инкубация 60 минут, отмывка
4. Нанесение вторичных антител, инкубация 30 минут, отмывка
5. Фиксация покровным стеклом, просмотр на флуоресцентном микроскопе.
6. Анализ экспрессии

Результаты первичного исследования

От 3 до 8 клеток	Кол-во пациентов	CAMLs количество	Морфометрия	CD68	Ерсам/СК-Ран
Рак тела матки(аденокарцинома)					
I стадия	21	19	V/X	V/X	V/X
II стадия	3	3	V	V	V
III стадия	4	4	V	V	V
Рак яичников(серозная карцинома)					
II Стадия	1	0	X	X	X
III Стадия	3	3	V	V	V
Рак шейки матки I стадии	2	2	V	V	V(Ерсам-)
Контроль					
Лейомиома матки	2	0	V	V	X
Всего	36				

Отрицательные кейсы

Рак тела матки T1NoMo. Пациентка 68 лет,
Гистология: Низкодифференцированная
аденокарцинома эндометрия. СAMLs не
обнаружены морфологически, ИЦХ не проводилась.

Рак тела матки T1NoMo. Пациентка 52 лет,
Гистология: Низкодифференцированная
аденокарцинома эндометрия СAMLs не обнаружены
морфологически, ИЦХ не проводилась.

Рак яичников T2aN0Mo. Пациентка 56 лет,
Гистология: Серозная карцинома левого яичника
низкой степени злокачественности,
с прорастанием в серозную оболочку тела матки.
СAMLs не обнаружены морфологически,
ИЦХ не проводилась.

К
М

САМL. Пациентка 54 лет. Рак яичников III стадия.

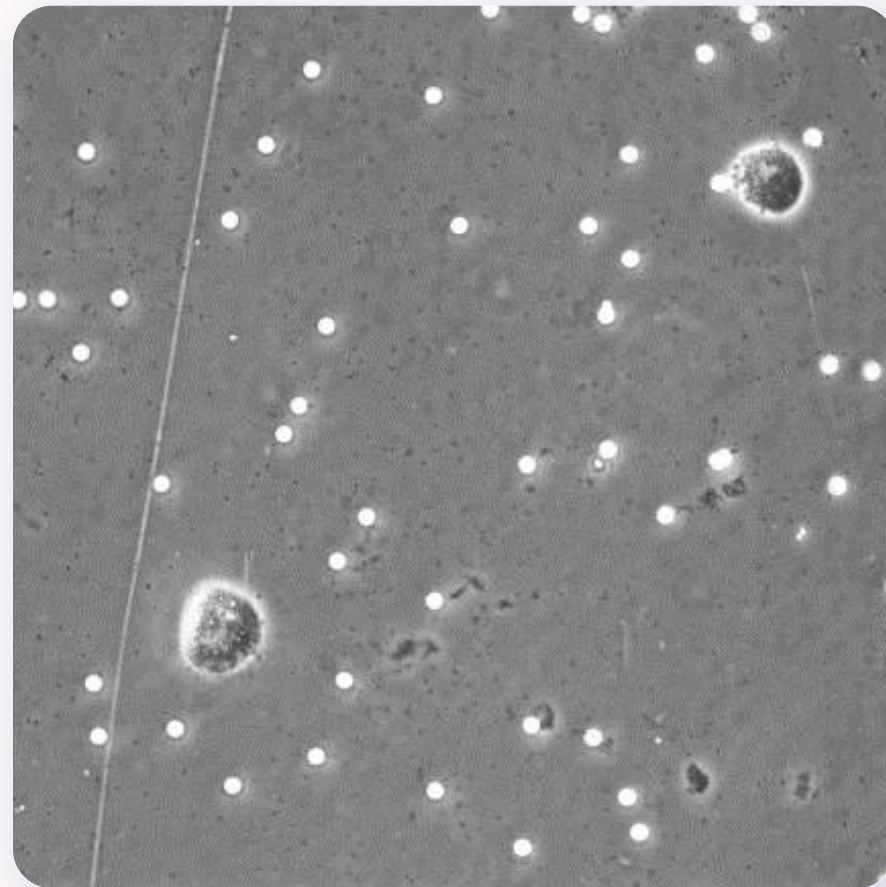


САМL. Позитивная реакция на ЕрСАМ. Пациентка 54 лет. Рак яичников III стадия.

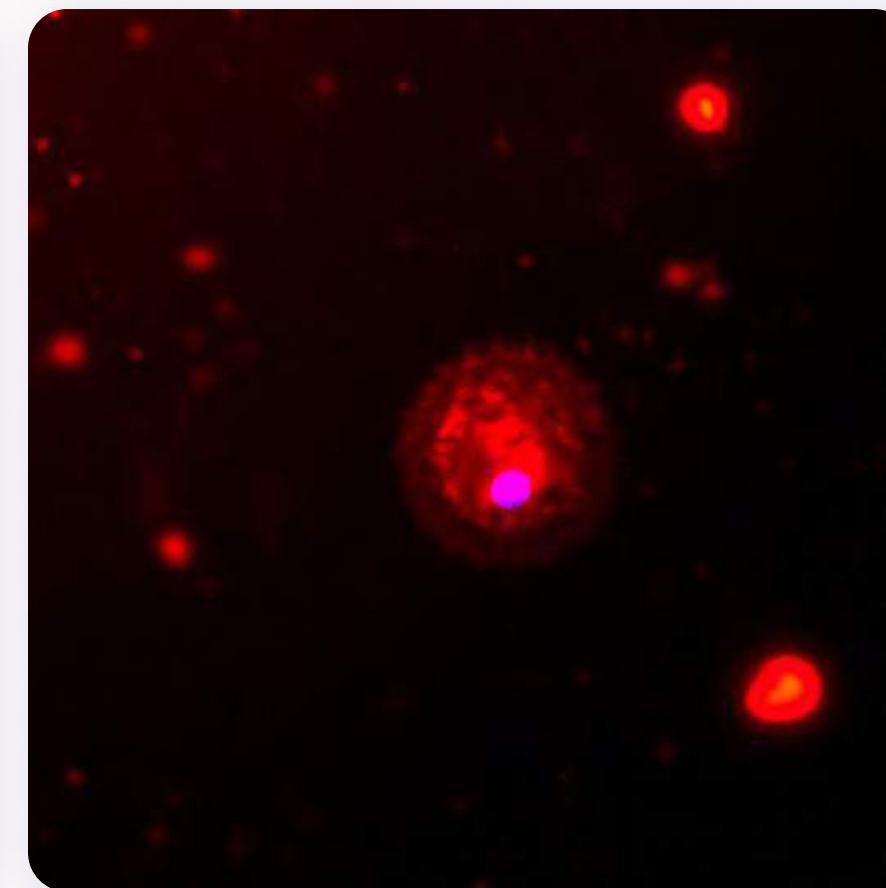
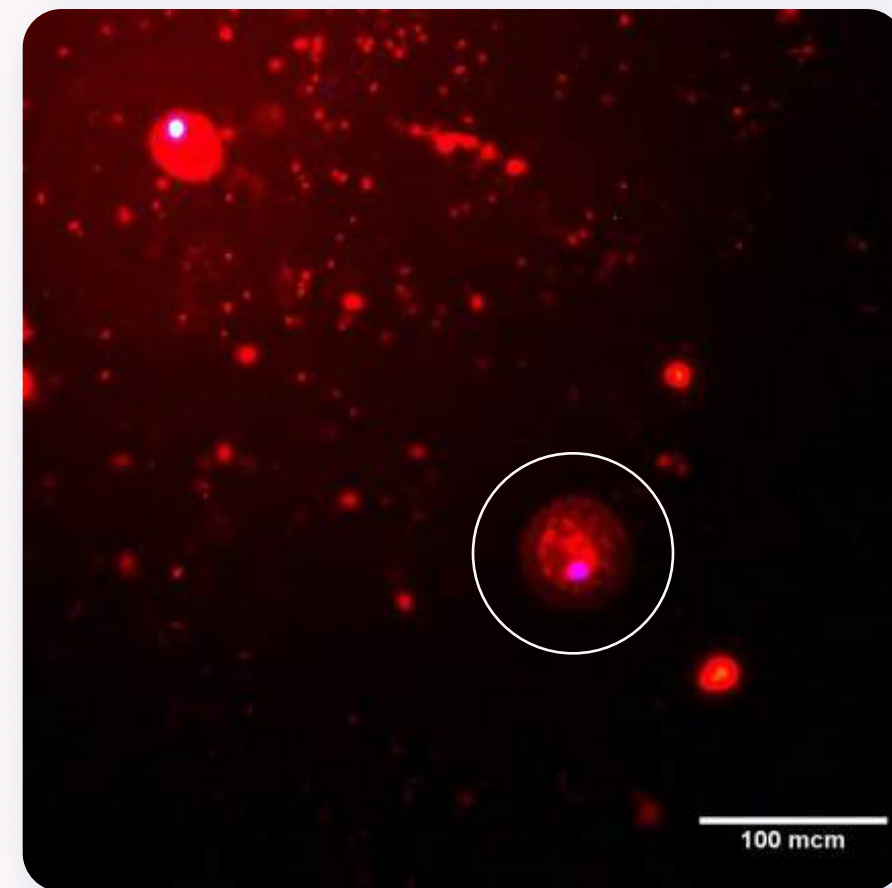
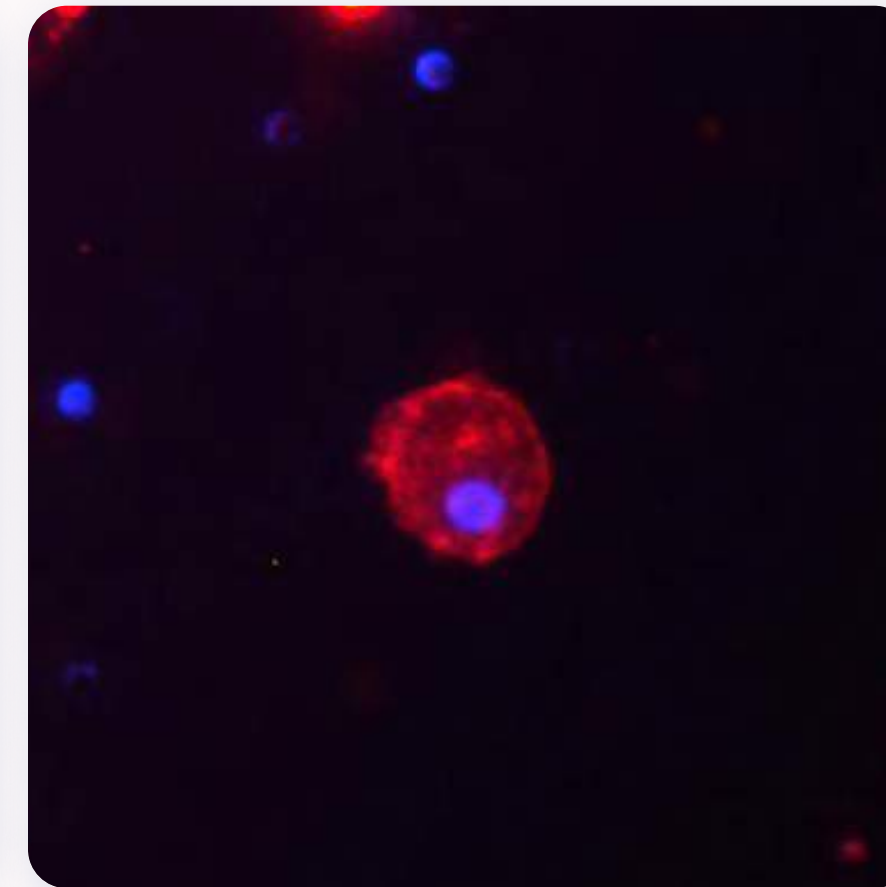
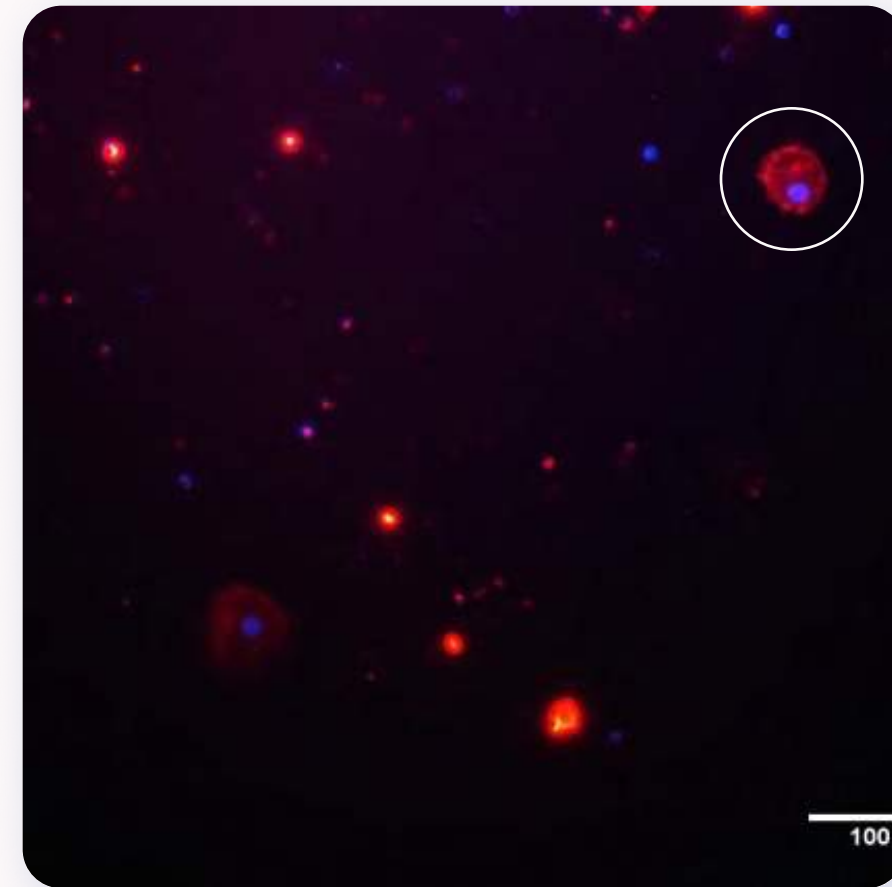
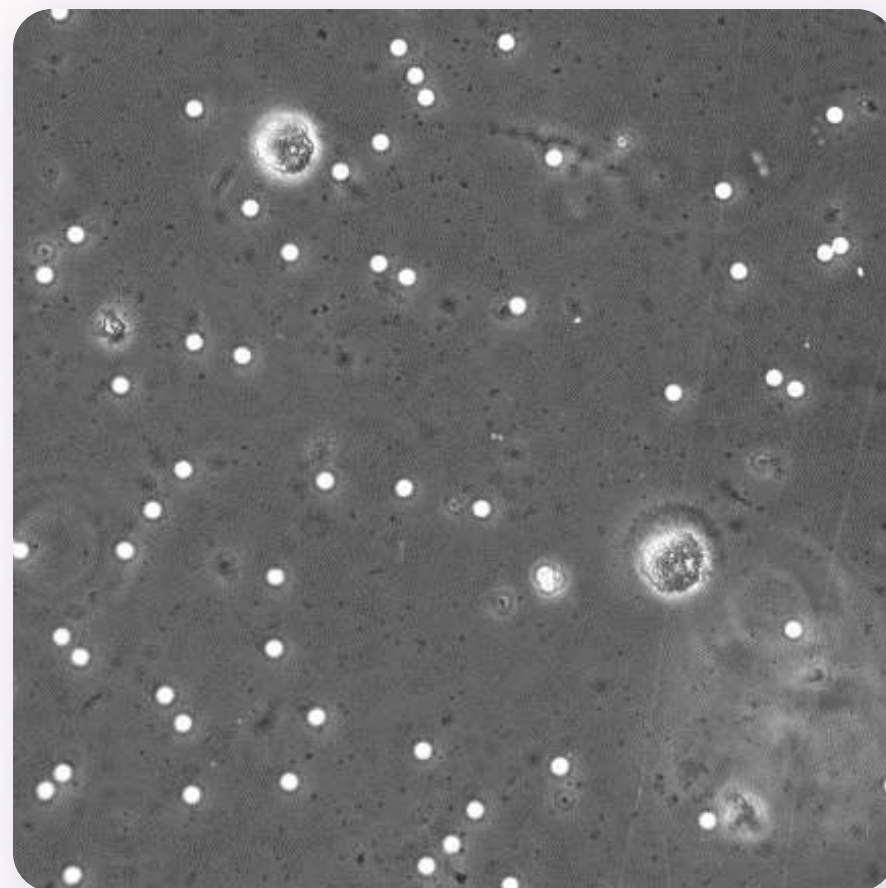


Визуализация на микроскопе Zeiss Primo Star (Carl Zeiss, Германия)
Увеличение x400

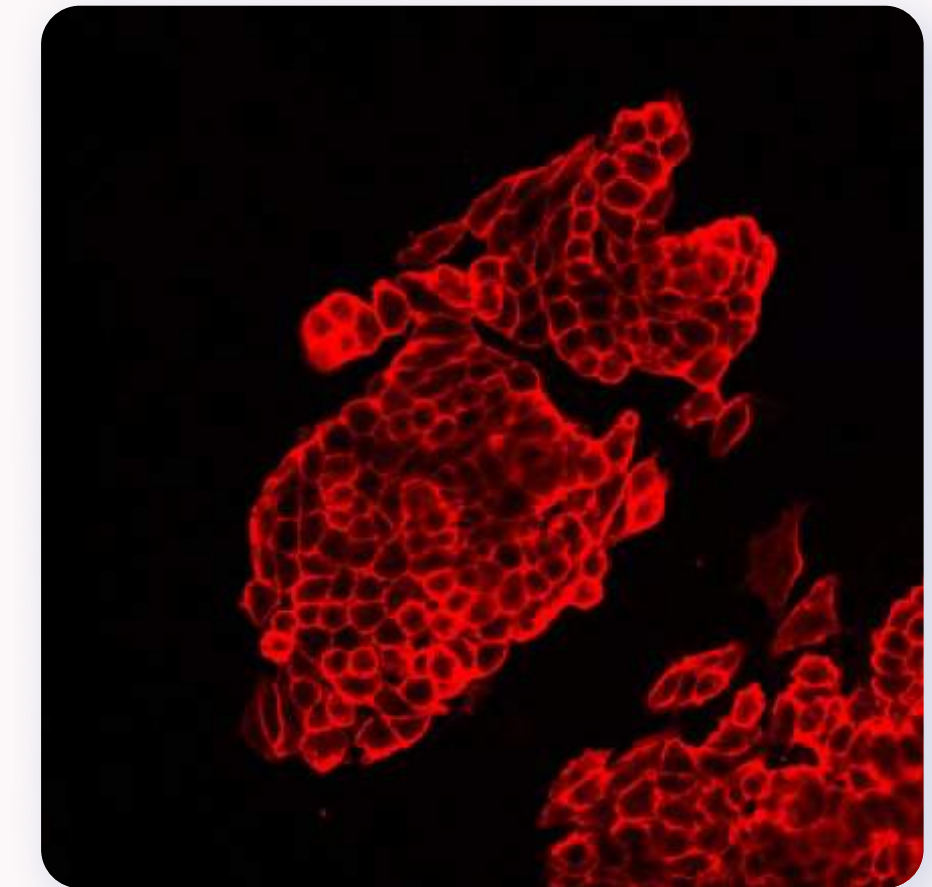
Пациент 963



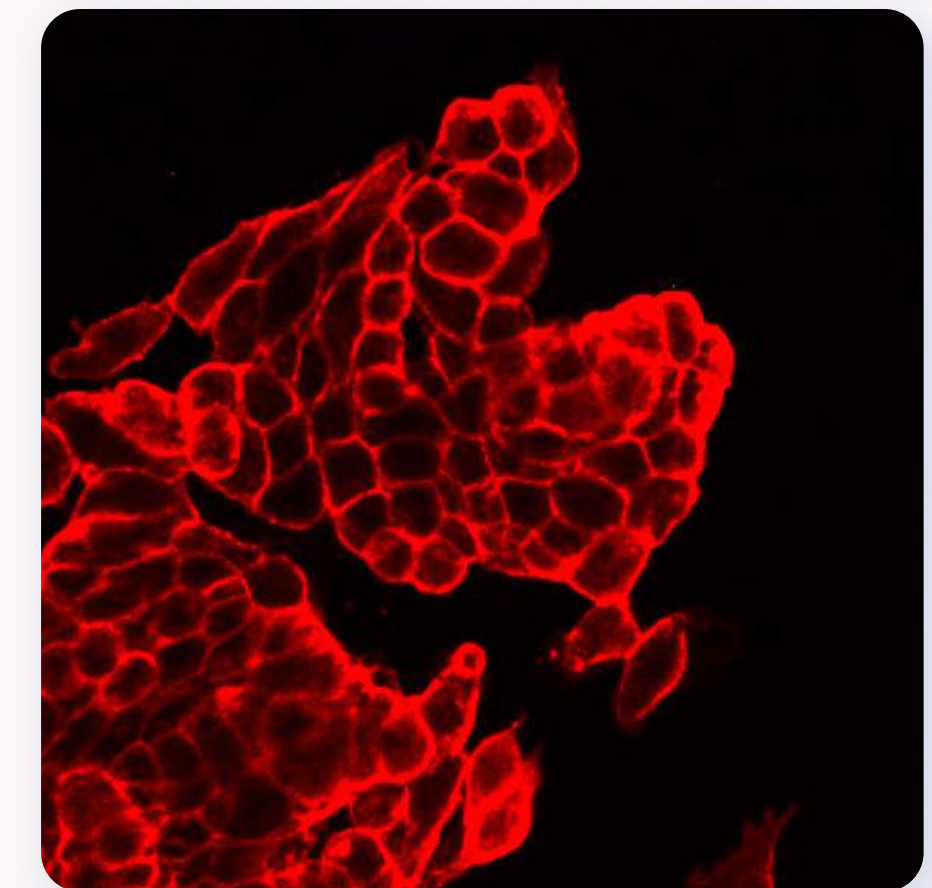
Проходящий свет



Антитела к EpCAM-Alexa594

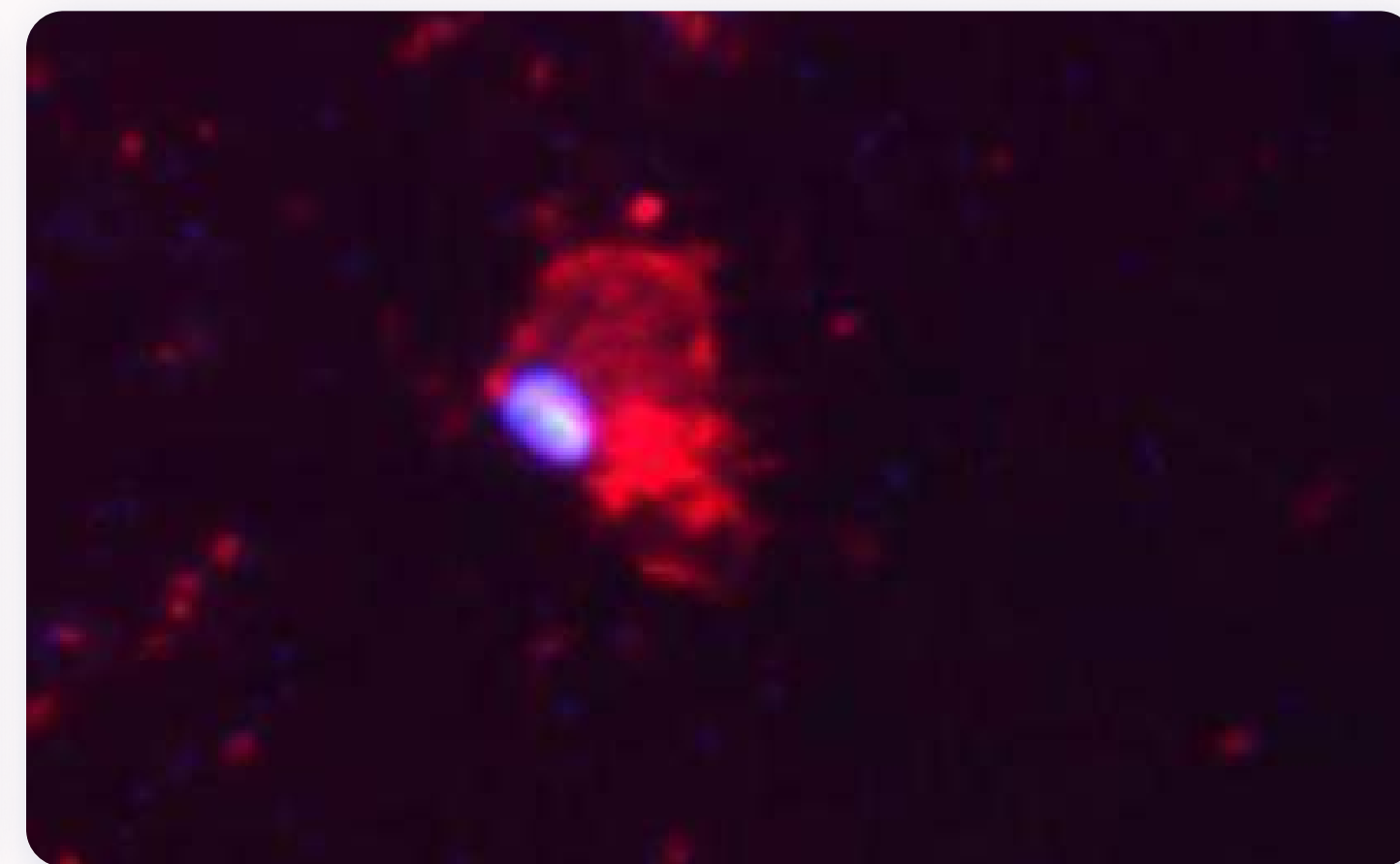
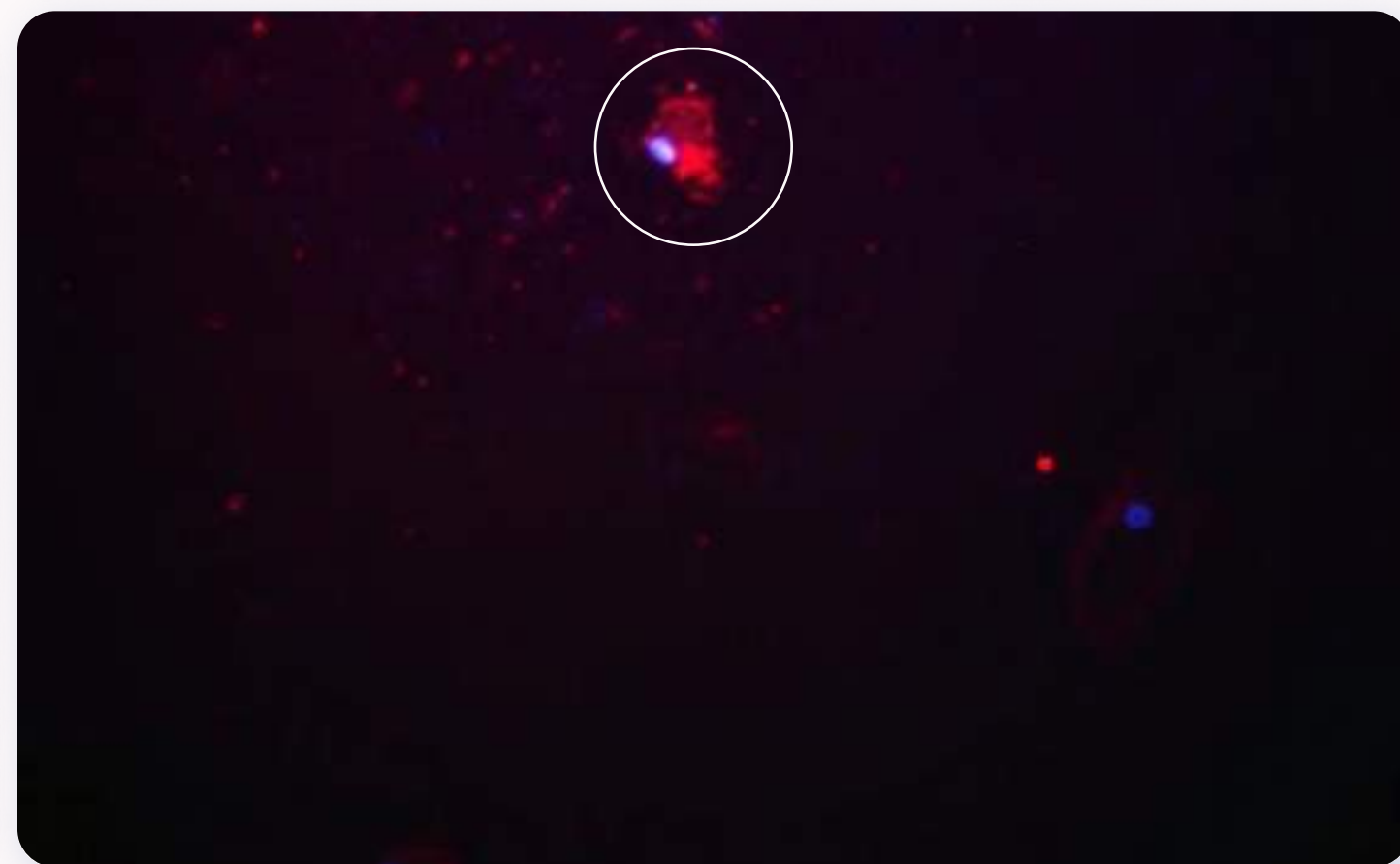
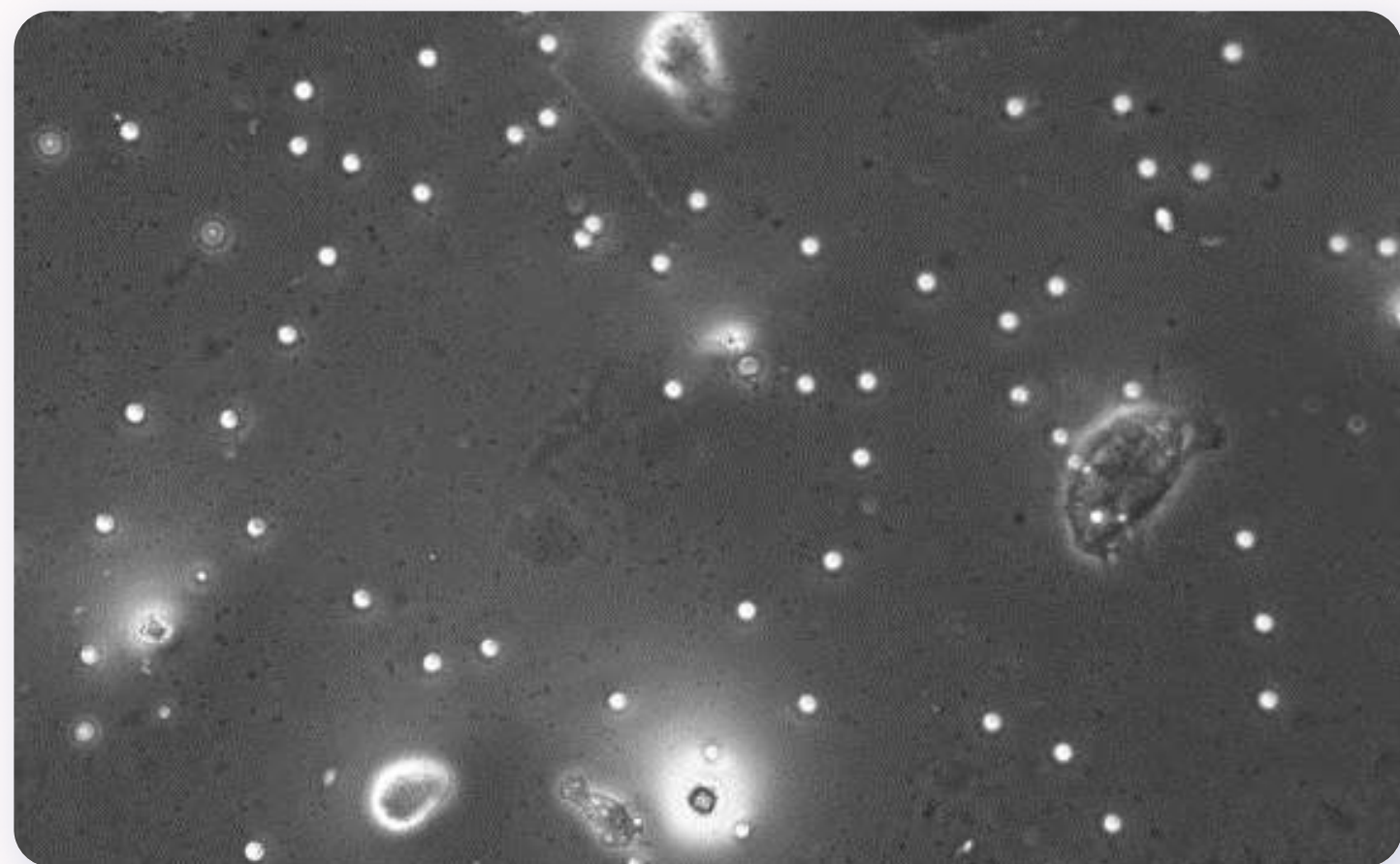
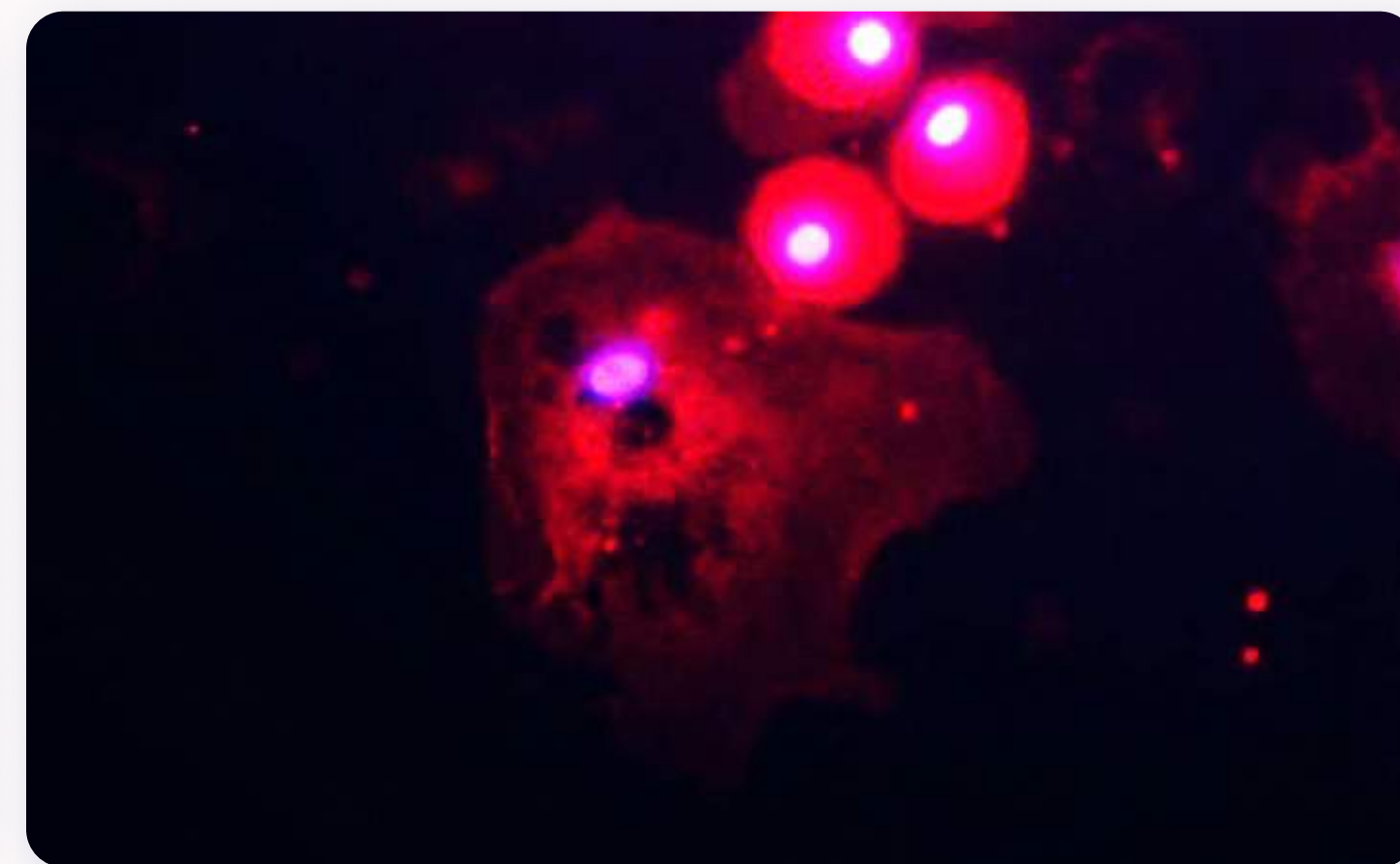
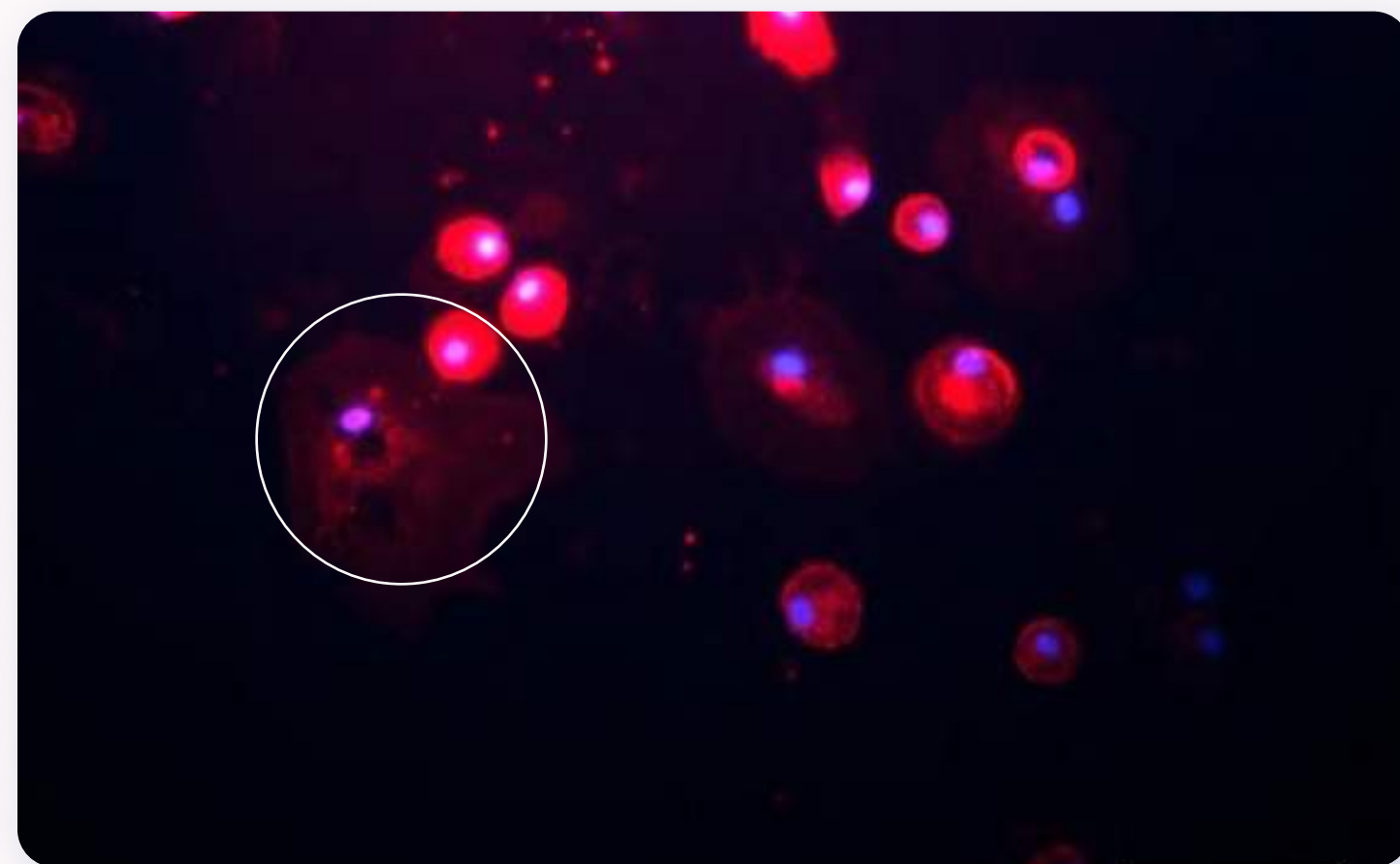
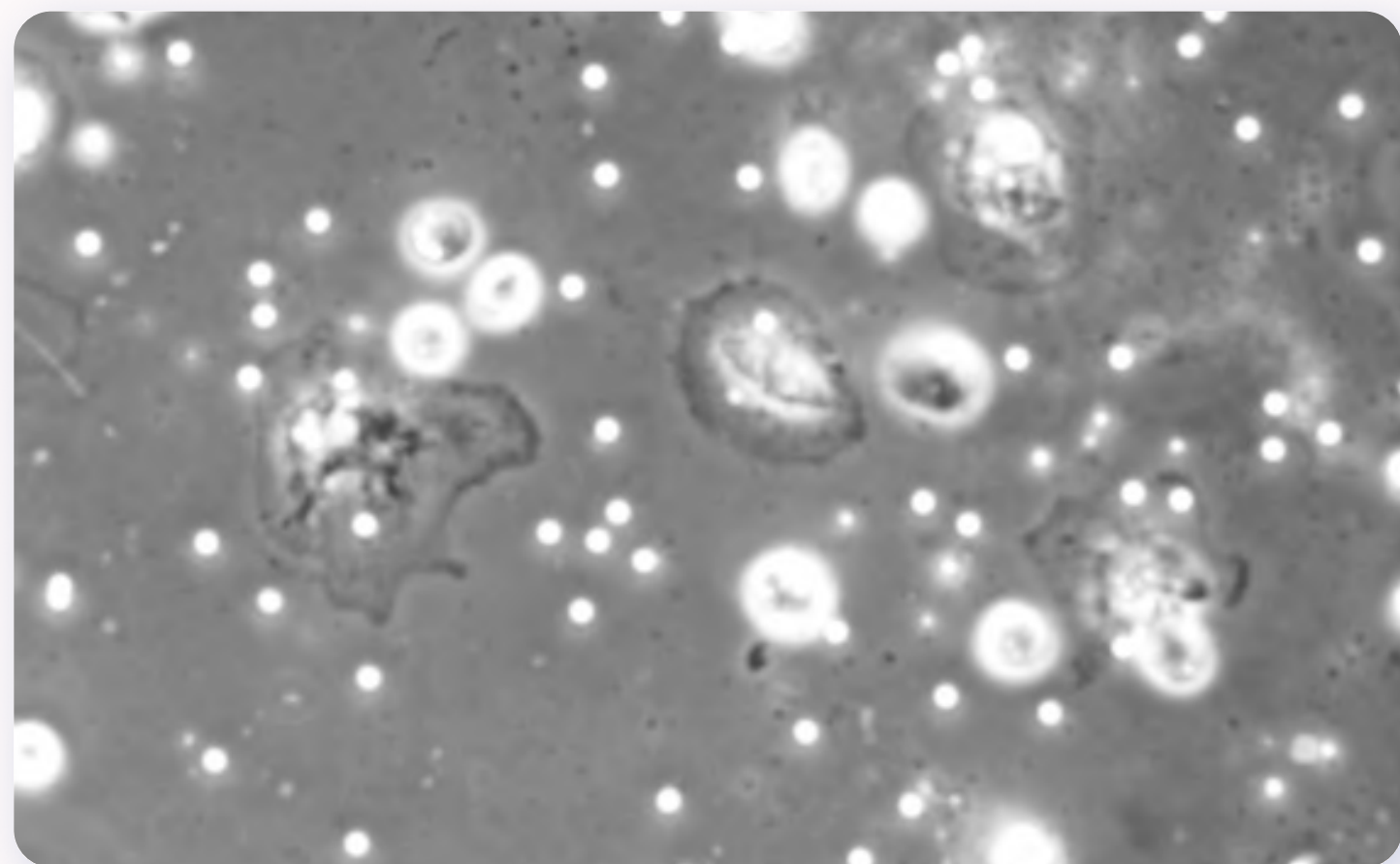


Опухолевая линия HT29



У опухолевых клеток EpCAM на мембране
В макрофагах в виде зернистости в цитоплазме

Пациент 1027



Проходящий свет

Антитела к EpCAM-Alexa594

Планируемые исследования на 2021-2022 года

- Дифференциальная диагностика новообразований молочной железы
- Дифференциальная диагностика доброкачественных и злокачественных опухолей яичников
- Контроль циторедукции при раке яичников
- Контроль эффективности лучевой терапии при раке шейки матки II-III стадии
- Дифференциальная диагностика миомы и саркомы тела матки
- Дифференциальная диагностика новообразований в легких

К
М

The background features a pattern of green squares of various sizes and shades (light, medium, and dark green) scattered across the white space, primarily concentrated in the corners.

Благодарю за внимание



КАМЛ
Диагностика

**ООО «КАМЛ
ДИАГНОСТИКА»**

ОГРН 1215200027514

603009, Нижегородская область,
г Нижний Новгород, пр-кт Гагарина,
д. 118, помещ. п9

info@camld.ru