

Изучение эффектов комбинированного геннотерапевтического индуктора ангиогенеза в экспериментальной модели ишемии скелетной мускулатуры

- Соответствие проекта тематике заявленной научной платформы

Научная платформа, заявленная в текущем проекте – «Инновационные фундаментальные технологии в медицине». Геннотерапевтическая индукция ангиогенеза является принципиально новым подходом, призванным повысить эффективность лечения пациентов с хронической ишемией скелетной мускулатуры, вызванной в первую очередь атеросклерозом. Индукция ангиогенеза подразумевает активацию эндотелиальных клеток, экспрессию ими первичных сосудистых структур, последующую стабилизацию и «функциональное ремоделирование» этих гладкомышечных структур и организацию их в сложную сосудистую сеть (P. Carmeliet, 2000). Использование индукторов ангиогенеза есть тактика улучшения перфузии ишемизированных тканей с помощью усиления естественных новообразования сосудов (Е.В.Парфенова, 2007). Выбор необходимых генов и векторов для создания геннотерапевтической конструкции, подбор оптимальных сочетаний и режимов их введения могут способствовать повышению эффективности лечебной тактики в лечении хронической ишемии тканей (K. Shyu, 2003). Для разработки геннотерапевтических препаратов используются гены, кодирующие наиболее известные факторы, в различной степени участвующих в ангиогенезе, прежде всего, сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF, фактор роста фибробластов FGF, гепатоцитарный фактор роста HGF и фактор, полученный из стромальных клеток – стромальный фактор роста SDF. В ходе исследования будет изучаться субстанция, представляющая собой голую плазмидную ДНК в качестве вектора, содержащего два гена, кодирующих ключевые и наиболее изученные факторы ангиогенеза: VEGF и SDF. Субстанция произведена отечественными учеными и является единственным в своем роде инновационным комбинированным индуктором ангиогенеза на основе

указанных генов. Таким образом, исследование соответствует выбранной научной платформе.

- Актуальность исследования

Хроническая ишемия нижних конечностей (ХИНК) является проявлением группы заболеваний периферических артерий, то есть некоронарных синдромов, связанных с изменением анатомической структуры и функции артерий мозга, висцеральных органов и конечностей (Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей, 2013). Распространенность ХИНК в популяции достигает 20% среди лиц старше 70 лет (N. W. Shamma, 2007). В 80-90% случаев причиной ХИНК служит атеросклероз (В. Н. Оболенский, 2010). По сравнению с обычной популяцией, у пациентов с ХИНК на фоне периферического атеросклероза риск развития инфаркта миокарда повышен на 20 - 60%, а риск развития нарушения мозгового кровообращения - на 40% (Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей, 2013). Не смотря на наличие широкого спектра лекарственных препаратов и хирургических вмешательств, как открытых и эндоваскулярных, так и гибридных, подобный арсенал средств не является достаточным (А.В. Покровский, 2012) и статистика остается удручающей: 10-летняя выживаемость после реконструктивных вмешательств не превышает в среднем 50% (D. H. Burger, 2003), частота рестенозов зон реконструкций может достигать 40% (P. Klinkert, 2003; П. Г. Швальб, 2007), у приблизительно 25-40% пациентов, требующих хирургического вмешательства, не является оптимальными кандидатами для проведения реконструкций вследствие распространенного мультифокального и дистального поражения периферических артерий (А.В. Гавриленко, 2011). Возникновение болей в конечности в состоянии покоя и появление некротических изменений у пациентов с ХИНК свидетельствует о развитии тяжелого состояния декомпенсации кровообращения в конечности, критической ишемии нижних конечностей (КИНК). Статистика не претерпевает значительных изменений за

последние годы: в течение первых 6 месяцев после диагностирования КИНК конечность возможно сохранить у не более чем 40% пациентов, в то время как другим 40% потребуются ампутация на уровне бедра, а 20% пациентов с вновь диагностированной критической ишемией умрут (Национальные рекомендации по ведению пациентов с патологией артерий нижних конечностей, 2013). Таким образом, требуются инновационные подходы к лечению хронической ишемии конечностей, особенно при дистальном типе поражения и неблагоприятном прогнозе исхода реконструктивного вмешательства, что обуславливает чрезвычайную актуальность настоящего исследования.

○ Научный коллектив

1. Пшенников Александр Сергеевич, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии.

2. Новиков Алексей Николаевич, аспирант кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии.

3. Поздеев Денис Викторович, аспирант кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии.

4. Кондрашова Кристина Сергеевна, ординатор кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии.

• Финансовая модель

Средства финансирования планируется распределить следующим образом:

1. Спецоборудование для научной (экспериментальной) работы – 2700000 руб.
2. Закупка расходных материалов – 130500 руб.
3. Закупка иных услуг, включая оплату труда – 169500 руб.

Общая сумма составит 3000000 руб.

Закупка спецоборудования для научной (экспериментальной) работы включает в себя закупку современного монитора для определения транскутанного напряжения кислорода. Закупка расходных материалов включает

в себя закупку реактивов для проведения биохимических исследований (уровень холестерина сыворотки крови, VEGF), иммуногистохимических исследований.

- Конкурентные преимущества проекта

Учитывая инновационный характер изучаемой субстанции, исследование в рамках проекта является оригинальным и не имеющим конкурентов в своем роде. Дизайн исследования отличается четкостью и простотой исполнения. Команда ученых, участвующих в проекте, в установленные сроки способна выполнить основные этапы исследования.

- Инновационность

Изучаемая субстанция представляет собой голую плазмидную ДНК, содержащую два гена, кодирующих ключевые факторы ангиогенеза: сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF и стромальный фактор роста SDF. В течение последних декад применялись различные геннотерапевтические конструкции, содержащие в своем составе ген одного вида, кодирующий тот или иной фактор роста.

Ангиогенез – это образование новых капилляров из существующих сосудов. Наличие ишемии является пусковым механизмом для запуска процесса ангиогенеза. Ишемия индуцирует посредством индуцируемого гипоксией фактора-1α (HIF-1α), экспрессию ангиогенных факторов и прежде всего основного регулятора ангиогенеза – сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF и его рецепторов. VEGF в свою очередь запускает пролиферацию эндотелиальных клеток и повышает экспрессию матричных металлопротеиназ, которые необходимы для деградации базальной мембраны и окружающего внеклеточного матрикса. VEGF отвечает за пролиферацию и миграцию эндотелия, а также образование просвета сосудов (N. Ferrara, 2003). Для разработки геннотерапевтических препаратов в лечении ХИИК используются гены наиболее известных факторов, в различной степени участвующих в ангиогенезе: сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор роста фибробластов (FGF), гепатоцитарный фактор роста (HGF); фактор, полученный из стромальных клеток, или стромальный фактор роста (SDF), ангиопоэтин

(ANG), индуцированный гипоксией фактор-1а (HIF-1а) (I. Baumgartner, 2009). VEGF влияет на развитие новых кровеносных сосудов (ангиогенез) и выживание незрелых кровеносных сосудов (сосудистая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению мембранными тирозинкиназными рецепторами (рецептором-1 VEGF и рецептором-2 VEGF) и активируя их. VEGF лиганд запускает сигнальный каскад, который в конечном итоге стимулирует рост эндотелиальных клеток сосуда, их выживание и пролиферацию. Эндотелиальные клетки участвуют в таких разнообразных процессах, как вазоконстрикция и вазодилатация, презентация антигенов, а также служат очень важными элементами всех кровеносных сосудов - как капилляров, так и вен или артерий. Таким образом, VEGF играет центральную роль в процессе ангиогенеза, индуцируя пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, их предшественников и моноцитов, экспрессирующих рецепторы к нему, увеличивает проницаемость сосудов, способствует пропотеванию белков плазмы в околососудистое пространство, которое необходимо для миграции эндотелиальных клеток, индуцирует экспрессию эндотелиальной NO-синтазы и образование NO, что способствует вазодилатации и стимулирует экспрессию протеаз, разрушающих связи между эндотелиальными клетками и внеклеточным матриксом, что необходимо для направленной миграции клеток (Е.В. Парфенова, 2007). VEGF также индуцирует экспрессию антиапоптотических белков bcl-2 и A1 в сосудистых эндотелиальных клетках. Помимо VEGF, играющего ключевую роль в ангиогенезе, более 13 лет проводятся исследования, посвященные еще одному ключевому фактору роста - стромальному фактору роста 1 (SDF)-1/CXCL12, представляющего собой члена семейства хемокинов с мощными ангиогенными свойствами, в эксперименте продемонстрировавшего мобилизацию эндотелиальных прогениторных клеток из костного мозга, кровотока, «периферических тканей», таким образом, усиливая ангиогенез в ишемизированных тканях (G. A. McQuibban, 2001). В настоящее время в США и Индии проходит II фазу клинических испытаний препарат JVC-100, показанный для лечения ХИНК (<http://clinicaltrials.gov>, 2013). Комбинированные субстанции,

содержащие гены, кодирующие и VEGF, и SDF, ранее не применялись в контексте экспериментальной модели ишемии скелетной мускулатуры конечностей.

Полученные результаты исследования дадут основания к проведению клинического испытания комбинированного индуктора ангиогенеза, что позволит улучшить результаты лечения пациентов с хронической ишемией нижних конечностей атеросклеротической этиологии. Результаты работы могут дать основание к исследованию и применению исследуемого индуктора ангиогенеза в смежных областях медицины: в кардиологии в лечении ишемической болезни сердца, в эндокринологии – в лечении синдрома диабетической стопы нейроишемической формы. Помимо этого, результаты исследования окажут влияние на расширение фундаментальных теоретических и практических знаний о процессах ангиогенеза и адаптации тканей к ишемии.

Экспериментальное исследование планируется выполнить на кроликах, на базе вивария Рязанского Государственного Медицинского Университета.

28 экспериментальных животных будут разделены на следующие группы:

Группа 1: интактные животные (7 животных).

Группа 2: атеросклероз путем гиперхолестериновой диеты + моделирование ишемии конечности путем резекции бедренной артерии на протяжении (7 животных).

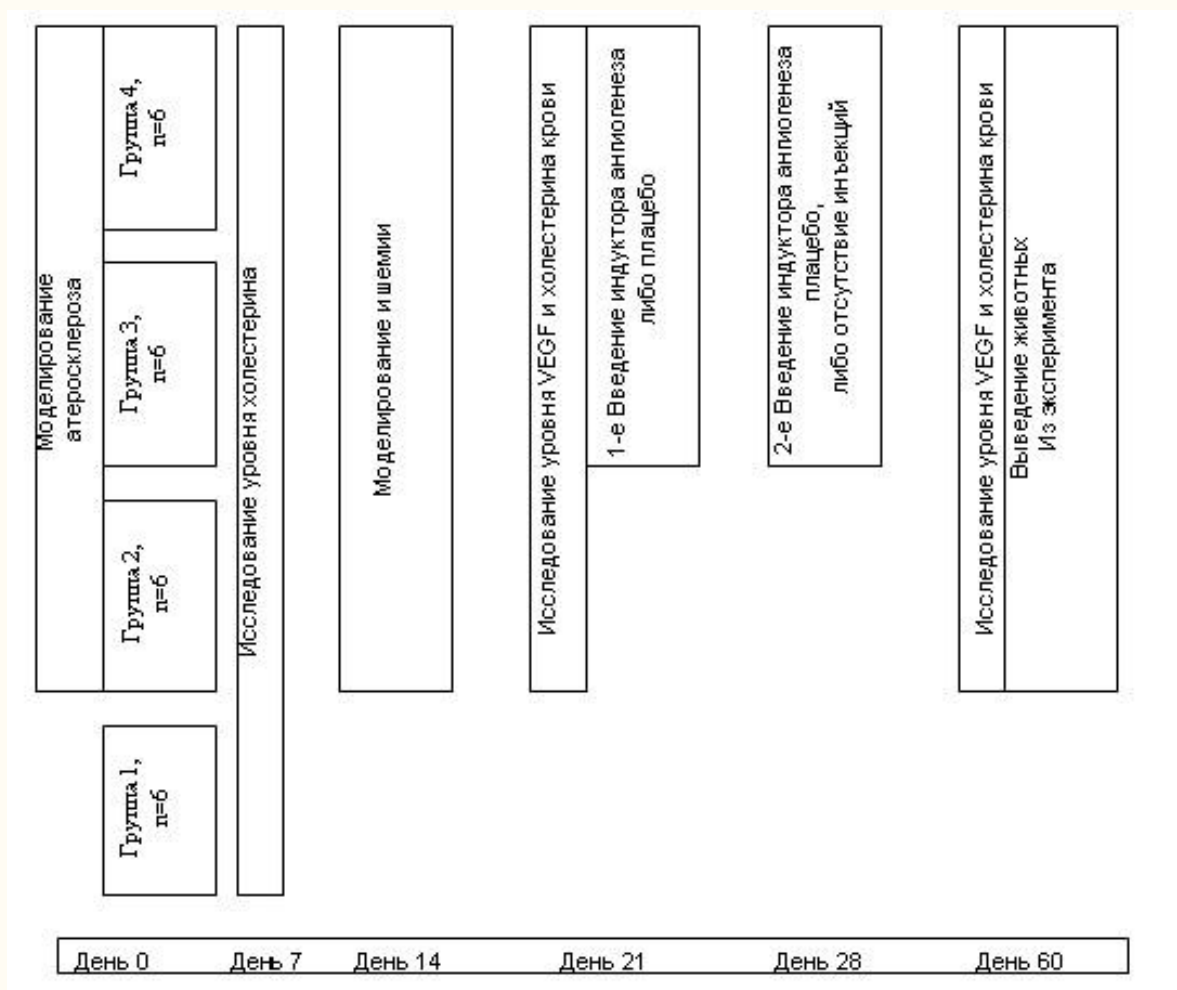
Группа 3: атеросклероз путем гиперхолестериновой диеты + моделирование ишемии конечности путем резекции бедренной артерии на протяжении + введение pVEGF+SDF (7 животных).

Группа 4: атеросклероз путем гиперхолестериновой диеты + моделирование ишемии конечности путем резекции бедренной артерии на протяжении + введение плацебо (вода для инъекций) (7 животных).

Всем животным будет проведена макроскопическая оценка степени ишемии, динамическое измерение транскутанного напряжения кислорода, лазерная доплерометрия, биохимический анализ уровней холестерина сыворотки крови (до моделирования ишемии путем резекции бедренной артерии, через 7 и 21

суток после) и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в установленные сроки (до моделирования ишемии путем резекции бедренной артерии, через 21 и 60 суток после), морфометрическое и иммуногистохимическое исследования при выведении животных из эксперимента.

Основные этапы предполагаемого исследования представлены ниже схематично:



Макроскопическая оценка степени ишемии/некроза будет проведена согласно следующей схеме:

Степень	Описание
0	Отсутствие некроза
1	Некроз, ограниченный фалангами пальцев
2	Некроз, ограниченный стопой
3	Некроз, ограниченный уровнем коленного сустава
4	Некроз, распространяющийся до бедра

Для оценки состояния кровотока и микроциркуляции планируется использовать методику транскутанной полярографии, или измерения транскутанного напряжения кислорода, с использованием монитора ТСМ-400 фирмы "Radiometer" (Дания). Определение парциального напряжения кислорода осуществляется неинвазивным методом, чрескожно, с помощью мембранного закрытого электрода по типу "Кларка", снабженного подогревающим устройством, позволяющим создавать локальную гипертермию до 44°C и гиперемию, когда происходит повышение кожного кровотока вследствие местного расширения сосудов, что побуждает кислород крови рассеиваться от капилляров чрескожно. На эффективность измерения оказывают влияние такие факторы, как содержание кислорода в окружающем воздухе, адекватность центральной гемодинамики, наличие нарушений транспортной функции крови, нарушения местной микроциркуляции, отек тканей, выраженный капиллярный спазм и другие. Определение транскутанного напряжения кислорода является ключевым методом оценки состояния микроциркуляторной дисфункции при ишемии на фоне сахарного диабета и атеросклерозе.

Для оценки состояния микроциркуляторного русла также будет использован лазерный анализатор микроциркуляции крови ЛАКК-02, обеспечивающий одновременные измерения перфузии ткани кровью, сатурации гемоглобина кислородом (SO_2) и объем фракции гемоглобина (Vr) в зондируемой области исследования. Оценка перфузии осуществляется методом лазерной доплеровской флоуметрии, а вычисление SO_2 и Vr производится по методологии абсорбционной спектроскопии. SO_2 определяется на основе разных оптических свойств оксигенированных (HbO_2) и дезоксигенированных (Hb) фракций гемоглобина, содержащихся в тестируемом объеме крови в биоткани. Для оценки параметров Vr и SO_2 используется разница в регистрируемых сигналах при зондировании биоткани в красном и зеленом спектральных диапазонах длин волн. Данный метод даёт возможность оценить состояние микроциркуляции в эксперименте без вреда животных в любое необходимое время.

Для морфологического исследования после выведения животных из эксперимента зафиксированный тканевый материал будет подвергаться конвенционной гистологической обработке в ряду спиртов возрастающей концентрации, заливке в парафиновые блоки, нарезке гистологических срезов толщиной 5-7 мкм с ориентацией тканевого блока так, чтобы срезы проходили перпендикулярно ходу мышечных волокон. При изготовлении препаратов для световой микроскопии будут применены рутинные гистологические красители: гематоксилин и эозин, окраска по Маллори. Полученные препараты будут исследоваться на микроскопе Leica DM 1000. При описании состояния мышечной ткани будут оцениваться следующие особенности: наличие и отсутствие некрозов мышечных волокон, их тинкториальные свойства, инфильтрацию, развитие соединительной ткани. Морфометрическая оценка будет учитывать количество волокон с центрально-расположенными ядрами. Для оценки гистофизиологических процессов будет проводиться иммуногистохимическое исследование: для изучения пролиферации планируется использовать антитела Ki-67, ангиогенеза – CD31, CD34, α SMA с применением реактивов от фирмы «DAKO» (Дания). Для визуализации иммунных комплексов планируется применять Universal LSAB2 «DAKO» (Дания). Срезы с иммуногистохимическими реакциями после докраски гематоксилином Майера заключаются под покровное стекло и исследуются в световом микроскопе таким образом, что за положительную реакцию с Ki-67 принимается четкое ядерное окрашивание; с остальными антителами – четкое цитоплазматическое окрашивание. Оценку также планируется проводить и морфометрически, с подсчетом среднего количества Ki-67⁺ клеток, а также соотношения количества капилляров с мышечными волокнами.

- Информация о профильных публикациях, грантах и соисполнителях

Ниже приведен список профильных публикаций Мжаванадзе Н.Д. Всего – 18 публикаций, из них 7 – в рецензируемых ВАК изданиях и 1 – зарубежная.

п/п	Наименование труда, открытия, изобретения	Печатный, Рукописн.	Название издания, год, стр.	Кол-во стр.	Соавторы
1	Результаты клинических испытаний первого генного препарата для лечения хронической ишемии нижних конечностей.	Печатный	Международная конференция молекулярная генетика соматических клеток. 6-9 декабря 2011, Звенигород, Москва. – С. 62-63.	1	Деев Р.В., Киселев С.Л., Исаев А.А., Калинин Р.Е., Червяков Ю.В., Нерсисян Е.Г., Грязнов С.В.
2	Эффективность и безопасность применения препарата "Неоваскулген" в комплексной терапии пациентов с хронической ишемией нижних конечностей (IIб-III фаза клинических испытаний).	Печатный (ВАК)	Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. Том VI, №3, 2011, С. 76-83.	8	Швальб П.Г., Гавриленко А.В., Червяков Ю.В., Воронин Д.А., Староверов И.Н., Калинин Р.Е., Грязнов С.В., Нерсисян Е.Г., Киселев С.Л., Исаев А.А., Деев Р.В.
3	Результаты применения генотерапевтического препарата "Неоваскулген" у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей; 1 год наблюдений.	Печатный (ВАК)	Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. Том 6, №4, 2011, С. 20-26.	6	Деев Р.В., Калинин Р.Е., Червяков Ю.В., Грязнов С.В., Киселев С.Л., Исаев А.А., Швальб П.Г., Староверов И.Н., Нерсисян Е.Г.
4	Генная фармакотерапия неоперабельных пациентов с хронической ишемией нижних конечностей.	Печатный (ВАК)	Российский медико-биологический вестник им. академика Павлова, 2011. - № 4. - С. 28-37.	2	Швальб П.Г., Калинин Р.Е., Деев Р.В., Грязнов С.В., Киселев С.Л., Исаев А.А.
5	Первый в Европе генотерапевтический препарат Неоваскулген: от фундаментальных исследований к рутинной клинической практике.	Печатный	Тезисы докладов V ежегодного международного симпозиума «Актуальные вопросы генных и клеточных технологий» Москва, 2012. С 14-15	2	Калинин Р.Е., Деев Р.В., Бозо И.Я., Нерсисян Е.Г., Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Киселев С.Л., Исаев А.А.
6	Реалии и перспективы применения генной терапии в сердечно-сосудистой хирургии.	Печатный (ВАК)	Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. Том VII, №2, 2012, С. 58-62.	5	Калинин Р.Е., Деев Р.В., Бозо И.Я.
7	Отдаленные результаты оценки безопасности и эффективности применения генной терапии в лечении хронической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза.	Печатный (+доклад)	«Ангиология и сосудистая хирургия» (приложение) / Материалы 23-й (XXVII) Международной конференции Российского Общества Ангиологов и сосудистых хирургов. Том 18, №2, 2012, С. 163-164.	2	Швальб П.Г., Калинин Р.Е., Деев Р.В., Грязнов С.В.

8	The results of gene drug "neovaskulgen" in the complex treatment of chronic lower limb ischemia.	Печатный	International conference on postgenomic technology for biomedicine. PTB, 12. Novosibirsk, Russia, June 25-29, 2012. – P. 170.	1	Deev R.V., Filin A.A., Nersesyan E.G., Chervyakov Yu.V., Staroverov I.N., Kalinin R.E., Kiselev S.L., Isaev A.A.
9	Инновации XXI века в сосудистой хирургии: генная терапия в лечении хронической ишемии нижних конечностей	Печатный (+доклад)	Здравоохранение: образование, наука, инновации. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (г.Рязань, 31 мая 2013)	5	Калинин Р.Е., Деев Р.Е.
10	Перебегающая хромо-та: лечебная тактика практикующего врача.	Печатный (ВАК)	Лечащий врач, - 2013. - № 7. - С.65-70.	5	Калинин Р.Е., Деев Р.В.
11	Генная терапия в ремоделировании артери-ального русла нижних конечностей: результаты использования препарата на основе гена VEGF165 в комплексном лечении больных с хронической ишемией нижних конечностей	Печатный	Клеточные техноло-гии - практическому здравоохранению. Тезисы докладов 2 Межрегиональной на-учно-практической конференции, Екате-ринбург, 24 октября 2013 г. – С. 16-19.	4	Воронов Д.А., Гавриленко А.В., Бозо И.Я., Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Калинин Р.Е., Деев Р.В., Исаев А.А.
12	Генная индукция регенерации микрососудистого русла в комплексном неоперативном лечении пациентов с хроническими облитерирующими заболеваниями сосудов нижних конечностей	Печатный	1-й Национальный Конгресс по регенеративной медицине. 4-6 декабря 2013года г. Москва. Материалы конгресса М., 2013 - 325 с. (С. 71-72).	2	Деев Р.В., Бозо И.Я., Чухряя О.В., Червяков Ю.В., Староверов, Калинин Р.Е., Исаев А.А.
13	Clinical trial of naked plasmid DNA encoding vascular endothelial growth factor isoform VEGF165 transfer in patients with stage IIa-III Fontaine lower limb ischemia due to atherosclerotic peripheral arterial disease: the results of the multicentered, randomized, controlled study.	Печатный	Vascular biology, materials and engeneering (ESVS). Frankfurt, Germany, 24-25 May, 2013, P. 63	1	R.E. Kalinin, R.V. Deev, S.L. Kiselev, A.A. Isaev
14	Эффекты плазмидной генной конструкции pVEGF165 у экспериментальных животных	Печатный	Угловские чтения: инновации в хирургии. Сборник тезисов к II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «ИННОВАЦИИ В ХИРУРГИИ», посвящённой 109-летию со дня рождения академика Ф.Г. Углова. Санкт-Петербург, 2013. С.70-73	4	Калинин Р.Е., Деев Р.В., Краковский М., Курасов И., Исаев А.А., Киселев С.Л.
15	Результаты клинических исследований и отсроченного наблюдения за пациентами с хронической ишемией нижних конечностей после применения препарата «Неоваскулген»	Печатный	Угловские чтения: инновации в хирургии. Сборник тезисов к II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «ИННОВАЦИИ В ХИРУРГИИ», посвящённой 109-летию со дня рождения академика Ф.Г. Углова. Санкт-	6	Калинин Р.Е., Деев Р.В.

			Петербург, 2013. С.34-39		
16	Случаи геннотерапевтической индукции ангиогенеза у пациентов с атеросклеротической ишемией нижних конечностей при невозможности выполнения реконструктивного вмешательства	Печатный	Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. Том 8, №4, 2013, С. 29-31.	3	Калинин Р.Е., Деев Р.В.
17	Основные тенденции терапевтического неоангиогенеза в лечении хронической ишемии нижних конечностей (обзор литературы)	Печатный	«Наука молодых Eruditio Juvenium» №3, 2013, с. 103-109.	7	Р.В. Деев
18	Эффективность применения гена VEGF в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2А-3 стадий	Печатный	Ангиология и сосуд хирургия. Том 20 №2 2014 – С. 38-51.	13	Деев Р.В., Бозо И.Я., Чухраля О.В., Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Нерсисян Е.Г., Калинин Р.Е., Воронов Д.А., Гавриленко А.В.

Подробная информация о соисполнителях -

1. Пшенников Александр Сергеевич, кандидат медицинских наук. Место работы: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ассистент кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии. Адрес электронной почты: pshennikov1610@rambler.ru

2. Новиков Алексей Николаевич, 06.09.1988 г.р. Место учебы: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, аспирант кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии. Адрес электронной почты: anovikovn@rambler.ru

3. Поздеев Денис Викторович, 24.12.1987 г.р. Место учебы: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, аспирант кафедры ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии. pozdeew.denis2015@yandex.ru

4. Кондрашова Кристина Сергеевна, 15.03.1991. Место учебы: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии, ординатор. kondrashova.crist@yandex.ru