

Исследование гемопоэтических стволовых клеток у больных с обширными ожогами

© М.Н. КОЗЛОВА¹, В.М. ЗЕМСКОВ¹, А.А. АЛЕКСЕЕВ^{1,2}, В.С. ДЕМИДОВА¹,
Н.С. ШИШКИНА¹, А.Н. КУЛИКОВА¹, А.М. ЗЕМСКОВ³, А.Э. БОБРОВНИКОВ^{1,2}

¹Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А. В. Вишневского, Москва, Российская Федерация

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация

³Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко, Воронеж, Российская Федерация

Обоснование. Одним из важных направлений в комплексном лечении больных с обширными ожогами является оценка тканевой регенерации, в том числе на клеточном и субклеточном уровнях. Известно, что гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) способствуют восстановлению и регенерации тканей через паракринные эффекты или прямую клеточную дифференцировку, являются центральным компонентом восстановления послеожоговой анемии и способны образовывать не только клетки крови, но и другие типы клеток. При этом анализ этих клеток при ожоговой травме совершенно не изучен. **Цель.** Исследование в динамике содержания гемопоэтических стволовых клеток разных фенотипов у пациентов с обширными ожогами в процессе комплексного лечения.

Методы. Анализ гемопоэтических стволовых клеток и их субпопуляций в образцах периферической крови выполняли на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием программы CellQuest и панелей моноклональных антител CD45/CD34/CD38 и CD45/CD34/CD133 (BD, США). Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью программы GraphPad Prism 7.0 (США), достоверные результаты учтены при $p < 0,05$.

Результаты. Исследование гемопоэтических стволовых клеток и их субпопуляций выполнено на разных этапах комплексного лечения у 25 больных с площадью ожогового поражения более 30% поверхности тела. Группу сравнения составили 15 здоровых добровольцев. При поступлении в Ожоговый центр у группы тяжелообожженных пациентов выявлен достоверный глубокий дефицит как общих ГСК CD45⁺34⁺ ($p=0,0002$), так и их субпопуляций CD45^{dim}34⁺38⁺ ($p=0,019$), причем преимущественно ранних предшественников гемопоэза CD45^{dim}34⁺38⁻ ($p=0,0001$) и CD45^{dim}34⁺133⁺ ($p=0,0002$). В процессе комплексного лечения, включая хирургическую некрэктомию и аутодермопластику ожоговых ран, на 20 сутки лечения в группе ожоговых больных отмечена нормализация общих ГСК CD45⁺34⁺ ($0,05 \pm 0,012\%$, $p=0,031$) и субпопуляции ранних ГСК CD45^{dim}34⁺38⁻ ($0,039 \pm 0,009\%$, $p=0,016$). Произошло достоверное возрастание в процессе лечения зрелых ГСК CD45^{dim}34⁺133⁺ ($p=0,0380$), при этом дефицит более дифференцированной популяции ГСК CD45^{dim}34⁺38⁺ восстановился не полностью ($p=0,272$).

Заключение. Впервые выявленные модуляции содержания гемопоэтических стволовых клеток разных фенотипов у пациентов с обширными ожогами могут отражать состояние компенсаторно-приспособительных реакций гемопоэза в процессе комплексного лечения. Полученные данные могут подтверждать предиктивное использование субклеточных маркеров ГСК для оценки регенераторного потенциала при заживлении ожоговых ран, в том числе в процессе этапного хирургического лечения и аутодермопластики, прогноза развития местных и общих осложнений ожоговой болезни.

Ключевые слова: ожоговая болезнь; гемопоэтические стволовые клетки; регенерация

Study of Hematopoietic Stem Cells in Patients with Extensive Burns

© M.N. KOZLOVA¹, V.M. ZEMSKOV¹, A.A. ALEKSEEV^{1,2}, V.S. DEMIDOVA¹, N.S. SHISHKINA¹,
A.N. KULIKOVA¹, A.M. ZEMSKOV³, A.E. BOBROVNIKOV^{1,2}

¹A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation

³N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russian Federation

Introduction. Assessment of tissue regeneration, including that at the cellular and subcellular levels, appears to be one of the important trends in the complex treatment of patients with extensive burns. It is known that hematopoietic stem cells (HSCs) contribute to tissue restoration and regeneration through paracrine effects or direct cell differentiation, being a central component of post-burn anemia recovery and capable of forming not only blood cells, but also other types of cells. Notably, the role of these cells in burn injury has not been studied yet.

The aim of the study was to investigate in dynamics the content of hematopoietic stem cells of different phenotypes in patients with extensive burns in the process of complex treatment.

Methods. Hematopoietic stem cells and their subpopulations in peripheral blood samples were analyzed on a FACSCalibur flow cytometer (Becton Dickinson, USA) using the CellQuest program and CD45/CD34/CD38 and CD45/CD34/CD133 monoclonal antibody panels (BD, USA). The results obtained were statistically processed using the GraphPad Prism 7.0 program (USA), results were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. Hematopoietic stem cells and their subpopulations were studied at different stages of the complex treatment in 25 patients with a large burn area, more than 30% of the body surface. The comparison group consisted of 15 healthy volunteers. Upon admission to the Burn Center, a group of severely burned patients revealed a significant deep deficiency of both total HSCs $CD45^+34^+$ ($p=0.0002$) and their subpopulations $CD45^{dim}34^+38^+$ ($p=0.019$), with predominantly early precursors of hematopoiesis $CD45^{dim}34^+38^-$ ($p=0.0001$) and $CD45^{dim}34^+133^+$ ($p=0.0002$). In the course of the complex treatment, including surgical necrectomy and autodermplasty of burn wounds, there was observed normalization of total HSCs $CD45^+34^+$ ($0.05\pm 0.012\%$, $p=0.031$) and a subpopulation of early HSCs $CD45^{dim}34^+38^-$ ($0.039\pm 0.009\%$, $p=0.016$) in 20 days of treatment in the group of burn patients. There was a significant increase of mature $CD45^{dim}34^+133^-$ HSCs ($p=0.0380$) as a result of treatment, while the deficit of the more differentiated population of $CD45^{dim}34^+38^+$ HSCs did not fully recover ($p=0.272$).

Conclusion. The firstly detected modulations in the content of hematopoietic stem cells of different phenotypes in patients with extensive burns may reflect the state of compensatory-adaptive reactions of hematopoiesis in the course of the complex treatment. The data obtained may support the predictive use of HSC subcellular markers to assess the regenerative potential in burn wounds healing, including that during staged surgical treatment and autodermplasty, and to predict the development of local and general complications of burn disease.

Keywords: burn disease; hematopoietic stem cells; regeneration

Гемопозитические стволовые клетки (ГСК) относительно малочисленны, их содержание в костном мозге колеблется в районе 0,01-0,15% от всех ядерных клеток. В первую очередь ГСК отвечают за пополнение всех клеточных компонентов крови, в том числе лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, а также являются одним из центральных компонентов регенерации тканей [1, 2, 3]. ГСК способны к мобилизации из костного мозга в кровотоки после различных травм, в том числе после инфаркта миокарда, инсульта, поражения печени и ожогов кожи [4, 5, 6]. ГСК обладают специфическим хоумингом в поврежденные ткани, в том числе обожженные, способствуют восстановлению и регенерации тканей через паракринные эффекты или прямую дифференцировку, являются центральным компонентом восстановления послеожоговой анемии и способны образовывать не только клетки крови, но и другие типы клеток. Анализ этих клеток при ожогах представляется крайне важным в плане изучения новых механизмов патогенеза ожоговой болезни и оценки регенераторного потенциала у тяжелообожженных, тем более, что в предварительных исследованиях нам удалось установить их количественную модификацию при ожогах [7].

В периферической крови ГСК выделяют из общей массы на основе экспрессии определенных антигенов на поверхности клетки с использованием моноклональных антител против панлейкоцитарного антигена CD45 и маркера ранних клеток-предшественников CD34. Антиген CD34 является общепризнанным маркером стволовых клеток крови человека и представляет собой мембранный белок, молекулу межклеточной адгезии, играющую роль на ранних

этапах кроветворения [8]. Кроме того, предполагается роль белка CD34 в участии мобилизации гемопозитических клеток, предотвращении активации интегринов, содействии пролиферации гемопозитических клеток-предшественников и адгезии лимфоцитов к эндотелию сосудов с помощью связывания с L-селектином, что дополняет и улучшает клеточную адгезию в целом [9]. В кроветворной ткани существуют пути взаимного превращения $CD34^-$ клеток в $CD34^+$. При этом обе фракции могут поступать как в периферическую кровь из костного мозга, так и мигрировать обратно [10, 11].

Для анализа ГСК используют также антитела против активационного антигена CD38, в том числе в комбинации с комплексными антителами к фенотипам. CD38 - мультифункциональный мембранный поверхностный гликопротеин, который экспрессируется различными клетками на определенных этапах их развития. Кроме того, определена его роль в процессе адгезии лимфоцитов к эндотелию сосудов. В качестве трансмембранного рецептора CD38 может передавать как положительные, так и отрицательные сигналы, регулирующие пролиферацию и дифференцировку T- и B-лимфоцитов [7]. Внеклеточная часть молекулы CD38 функционирует как фермент, который катализирует синтез и гидролиз циклической АДФ-рибозы, которая недавно была идентифицирована как мощный Ca^{2+} мобилизирующий агент. Ферментные функции CD38, вероятно, имеют иммунорегуляторное значение. Молодые стволовые кроветворные клетки человека не имеют кластера дифференцировки CD38, в то время как зрелые клеточные формы его уже содержат. В качестве основного фенотипа ГСК человека рассматривается комбинация $CD45^{dim}CD34^+CD38^-$ [12].

Таблица 1. Содержание популяций ГСК у здоровых добровольцев

Table 1. Content of HSC populations in healthy volunteers

| Популяции ГСК / HSC populations | Здоровые добровольцы (n=15), % / Healthy volunteers (n=15), % |
|---------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| $CD45^+34^+$ | $0,048\pm 0,005$ |
| $CD45^{dim}34^+38^-$ | $0,031\pm 0,003$ |
| $CD45^{dim}34^+38^+$ | $0,017\pm 0,003$ |
| $CD45^{dim}34^+133^-$ | $0,017\pm 0,003$ |
| $CD45^{dim}34^+133^+$ | $0,032\pm 0,004$ |

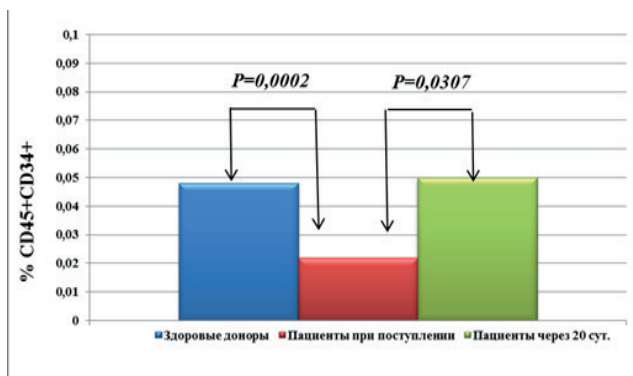


Рис. 1. Динамика относительного количества общих ГСК CD45+34+ в крови пациентов с ожогами в процессе комплексного лечения.

Помимо «классических» маркеров ГСК, в последние годы возрастает интерес к исследованию новых антигенов. На поверхности ГСК человека установлено наличие нового кластера дифференцировки CD133, который экспрессируется на большинстве CD34⁺ клеток и не определяется уже на поздних прогениторных кровяных клетках [13].

Цель

Исследование в динамике содержания гемопоэтических стволовых клеток разных фенотипов у пациентов с обширными ожогами в процессе комплексного лечения.

Материалы и методы

Исследование гемопоэтических стволовых клеток разных фенотипов выполнено у 25 пациентов с обширными ожогами двукратно: при поступлении в Ожоговый центр НИИЦ хирургии им А.В. Вишнев-

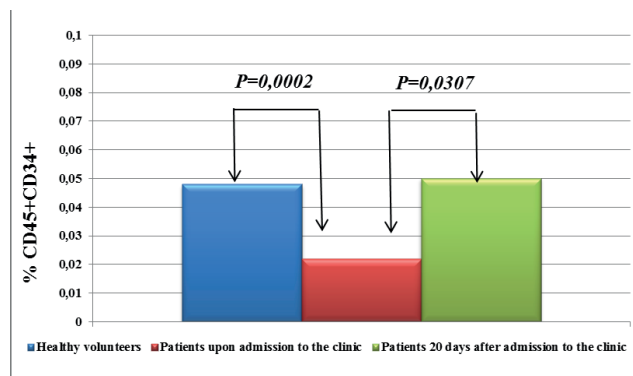


Fig. 1. The dynamics of the relative amount of the total HSC CD45+ 34+ in the blood of patients with burns in the process of complex treatment.

ского (на 1-15 сутки после травмы) и через 20 дней комплексного лечения. Специализированное комплексное лечение пациентам проводилось в палате интенсивной терапии и в палате ожогового отделения с применением противоожоговых (флюидизирующих) кроватей, включающее круглосуточное мониторирование гемодинамики и волеического статуса, лабораторную и инструментальную диагностику и лечение осложненной ожоговой болезни, нутритивную поддержку. По показаниям осуществлялись респираторная поддержка с применением аппаратов искусственной вентиляции легких, экстракорпоральное воздействие на кровь с применением аппаратов ультрагеомольтрации и плазмафереза, местное медикаментозное лечение ожоговых ран с использованием современных раневых покрытий, хирургическая некрэктомия и кожная пластика для закрытия ран. Площадь ожогового поражения на этапе поступления пациентов составила 44,0±4,7 % поверхности тела (п.т.), возраст больных

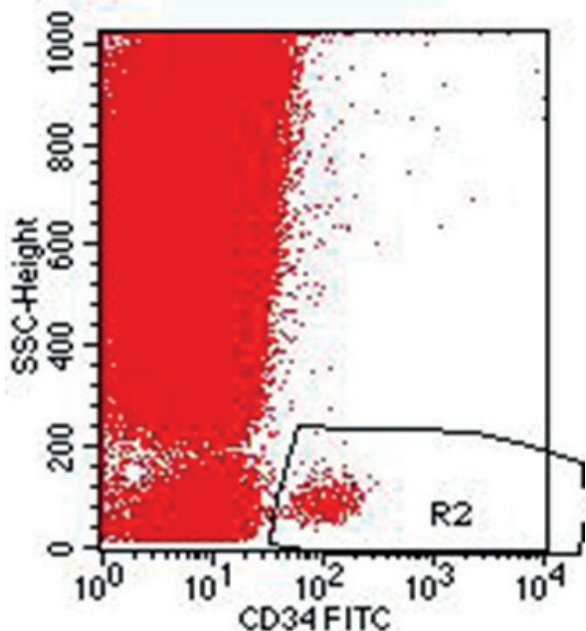


Рис. 2. Пример гистограммы с нормальным содержанием общих ГСК (CD45+34+).
Fig. 2. An example of a histogram with the normal content of the general HSC (CD45+34+).

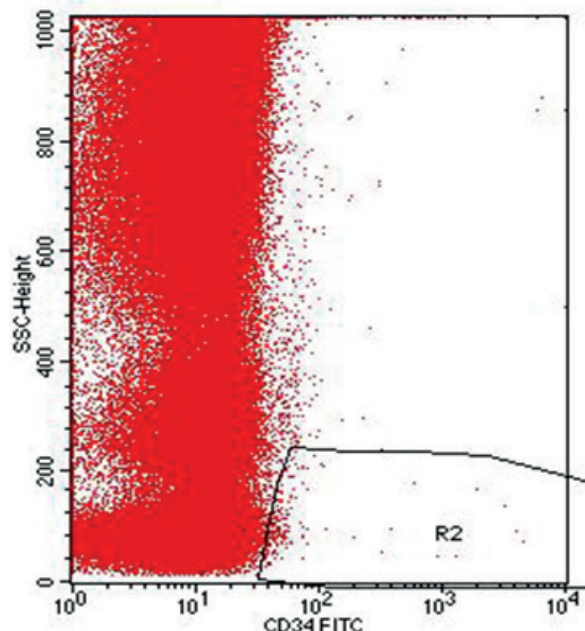


Рис. 3. Пример гистограммы с дефицитом содержания общих ГСК (CD45+34+).
Fig. 3. An example of a histogram with a deficiency of general HSC (CD45+34+).

Таблица 2. Содержание субпопуляций ГСК у здоровых лиц и пациентов с ожогами в динамике
Table 2. The content of HSC subpopulations in healthy individuals and patients with burns in dynamics

| Популяции ГСК / HSC populations | Здоровые добровольцы / Healthy volunteers (n=15) | Пациенты с ожогами / Patients with burns (n=25) | | | |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------|---------|--------------------------------------------------------|---------|
| | | при поступлении / on admission Mean±SEM | P | на 20 сутки лечения / on 20 days of treatment Mean±SEM | P |
| CD45 ^{dim} 34 ⁺ 38 ⁻ % | 0,031±0,003 | 0,013±0,002 | 0,0001# | 0,039±0,009 | 0,0155* |
| CD45 ^{dim} 34 ⁺ 38 ⁺ % | 0,017±0,003 | 0,007±0,002 | 0,0188# | 0,012±0,004 | 0,2721 |
| CD45 ^{dim} 34 ⁺ 133 ⁻ % | 0,017±0,003 | 0,010±0,003 | 0,0785 | 0,028±0,008 | 0,0380* |
| CD45 ^{dim} 34 ⁺ 133 ⁺ % | 0,032±0,004 | 0,011±0,003 | 0,0002# | 0,020±0,006 | 0,1879 |

Примечания: # - достоверные различия между группой здоровых добровольцев и ожоговыми пациентами при поступлении; * достоверные различия между группами пациентов при поступлении и на фоне лечения

Notes: # - reliable differences between a group of healthy volunteers and burn patients upon admission; * reliable differences between groups of patients upon admission and against the background of treatment

42,4 ± 4,7 года. В группу сравнения включили 15 здоровых добровольцев в возрасте 33,9±4,7 лет, с целью определения референсных показателей субпопуляций ГСК для последующего сравнительного анализа их содержания у пациентов. По гендерным показателям и возрасту группы достоверно не различались (p = 0,22).

Образцы периферической венозной крови собирали в пробирки с ЭДТА в количестве 2,7 мл. В работе были использованы моноклональные антитела CD45 PerCP-Cy5.5 (клон HI30, BD Biosciences, США), CD34 FITC (клон 581, BD Biosciences, США), CD38 PE (клон HIT2, BD Biosciences, США), CD133/1(AC133) PE (клон AC133, Miltenyi Biotec GmbH, Германия). Для анализа субпопуляций ГСК использовали трехцветные панели CD45/CD34/CD38 и CD45/CD34/CD133, для чего смешивали по 5 мкл соответствующих моноклональных антител и 100 мкл цельной крови с экспозицией 20 минут при 4°C; далее добавляли 1000 мкл лизирующего раствора BD FACS Lysing solution (BD Biosciences, США) и после лизиса эритроцитов, выполняли фенотипирование субпопуляций ГСК в подготовленных пробах на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) с использованием программы CellQuest. При подсчете собирали не менее 5×10⁵ клеток, пересчет ГСК проводили в % от числа клеток лимфоцитарного полигона. Статистический анализ выполняли с помощью программы GraphPad Prism 7.0 (США). Данные приведены в виде медиана ± стандартная ошибка (Mean±SEM); статистическая значимость рассчитана по критерию Манна - Уитни при p < 0,05.

Результаты

При исследовании циркулирующих ГСК у здоровых лиц определены средние количественные показатели в % различных популяций стволовых клеток крови (табл. 1) для последующего сравнительного анализа содержания ГСК у больных с обширными ожогами на разных этапах комплексного лечения.

У исследуемой группы тяжелообожженных пациентов, в сравнении с группой здоровых добровольцев, при поступлении в Ожоговый центр выявлен

достоверный глубокий дефицит в периферической крови общих гемопоэтических клеток CD45⁺34⁺ (0,022±0,003 %, p=0,0002), который восстановился в процессе лечения (0,05±0,012 %, p=0,0307) (рис. 1). На гистограммах приведены примеры визуальной оценки содержания ГСК у пациентов с нормальным уровнем ГСК (рис. 2) и при их фактически полном отсутствии (рис. 3). Надо отметить, что восстановление уровня общих ГСК происходило быстрее у пациентов, которым удалось провести этапное хирургическое лечение ожоговых ран в более ранние сроки ожоговой болезни при отсутствии гнойно-септических осложнений.

При изучении содержания у тяжелообожженных пациентов различных субпопуляций ГСК, отражающих, в том числе, репаративные процессы в очагах ожогового поражения, при поступлении также выявлен дефицит CD45^{dim}34⁺38⁺ клеток (p=0,0188), причем преимущественно основного фенотипа ГСК CD45^{dim}34⁺38⁻ (p=0,0001) и ранних предшественников гемопоэза CD45^{dim}34⁺133⁺ (p=0,0002) (табл. 2), что может свидетельствовать о подавлении компенсаторно-приспособительных реакций гемопоэза на этапах поступления больных в тяжелом клиническом состоянии, когда еще не применен весь необходимый комплекс лечебных мероприятий, направленных, в первую очередь, на компенсацию и протекцию жизненно-важных функций и внутренних констант организма, коррекцию интоксикационного синдрома, профилактику инвазивной раневой инфекции, в т.ч. методы хирургического воздействия на первичные очаги ожогового поражения.

В процессе комплексного лечения на 20-е сутки у больных с тяжелыми ожогами отмечается достоверное повышение (до уровня здоровых лиц) основной субпопуляции ГСК CD45^{dim}34⁺38⁻ (0,039±0,009%, p=0,0155). При этом дефицит популяций CD45^{dim}34⁺38⁺ и CD45^{dim}34⁺133⁺ восстановился не полностью (табл. 2).

В популяции CD45^{dim}34⁺133⁻ отмечено достоверное возрастание в процессе лечения этих клеток в сравнении с исходным периодом, когда их уровень не отличался от группы здоровых лиц.

Обсуждение

Выраженный дефицит содержания общих гемопоэтических стволовых клеток и их ранних и зрелых субпопуляций может быть обусловлен обширной и тяжелой термической травмой с подавлением регенераторного потенциала этих клеток и возможной усиленной миграцией из периферической крови в область ожоговых ран при поступлении в ожоговый центр, когда еще не начат весь комплекс специализированной хирургической и высокотехнологичной медицинской помощи пострадавшим от ожогов, в целом направленной на восстановление общего гомеостаза и органной дисфункции, снижение эндогенной интоксикации организма и предупреждение инвазивной раневой инфекции, в том числе за счет своевременного этапного хирургического удаления некротизированных тканей и ожогового струпа для подготовки к аутодермопластике по закрытию ожоговых ран.

Заключение

Выявленные впервые модуляции содержания гемопоэтических стволовых клеток при ожогах имеют большое фундаментально прикладное значение. В ре-

зультате активного хирургического лечения с использованием в ранние сроки некрэктомии, направленной на удаление нежизнеспособных тканей у пациентов с обширными ожогами наблюдается благоприятное течение ожоговой болезни и раневого процесса с развитием грануляционной ткани, нивелируется глубокий дефицит ГСК в процессе адекватного комплексного лечения и активируются тканевые регенераторные процессы. В то же время, у части пациентов с вялыми грануляциями и медленным заживлением ран, лизисом аутодермотрансплантатов мы наблюдали стойкое исчезновение некоторых субпопуляций ГСК, что может быть связано с истощением пула этих клеток или их токсическим повреждением. Полученные результаты могут так же подтверждать предиктивное использование данных маркеров для прогноза развития осложнений ожоговой болезни и заживления ожогов.

Дополнительная информация

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Список литературы

1. Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю. *Стволовые клетки, их свойства, источники получения и роль в регенеративной медицине*. Екатеринбург. 2016; 282.
2. Ярыгин К.Н. Роль резидентных и циркулирующих стволовых клеток в физиологической и репаративной регенерации. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2008; 1: 2-7.
3. Юшков Б.Г., Данилова И.Г., Козакова И.А. Роль стволовых клеток в регенерации печени и почек. *Вестник уральской медицинской академической науки*. 2013; 1: 43: 46-48.
4. Baker KS, Bhatia S, Bunin N, Nieder M, Dvorak CC, Sung L ..., et al. NCI, NHLBI first international consensus conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: state of the science, future directions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17: 1424-1427. DOI: 10.1016 / j.bbmt.2011.06.007
5. Armenian SH, Sun CL, Vase T, Ness KK, Blum E, Francisco L ..., et al. Cardiovascular risk factors in hematopoietic cell transplantation survivors: role in development of subsequent cardiovascular disease. *Blood*. 2012; 120: 4505-4512. DOI: 10.1182/blood-2012-06-437178
6. Kida A, McDonald GB. Gastrointestinal, hepatobiliary, pancreatic, and ironrelated diseases in longterm survivors of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Seminars in hematology*. 2012; 49: 1: 43-58. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2011.10.006
7. Zemskov VM, Pronko KN, Kozlova MN, Barsukov AA, Shishkina NS, Alekseyev AA. Overview of stem cells and their research in burn patients. *International Journal of Current Research*. 2018; 10: 01: 64731-64736.
8. Brandt JE, Srour EF, Besien K, Hoffman R. Characterization of human hematopoietic stem cells. *Prog Clin Biol Res*. 1990; 352: 29-36.
9. Kuçi S, Wessels JT, Bühring HJ, Schilbach K, Schumm M, Seitz G. Identification of a novel class of human adherent CD34-stem cells that give rise to SCI repopulating cells. *Blood*. 2003; 101: 3: 869-876. DOI: 10.1182/blood-2002-03-0711
10. Sutherland DR, Stewart AK, Keating A. CD34 antigen: molecular features and potential clinical applications. *Stem Cells*. 1993; 3: 50-57. DOI: 10.1002/stem.5530110914
11. Gallacher L, Murdoch B, Wu DM, Karanu FN, Keeney M, Bhatia M. Isolation and characterization of human CD34(-)Lin(-) and CD34(+) Lin(-) hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7. *Blood*. 2000; 95: 9: 2813-2820.
12. Wang TY, Chang SJ, Chang MD, Wang HW. Unique biological properties and application potentials of CD34+ CD38- stem cells from

References

1. Yastrebov AP, Grebnev DY, Maklakova IY. *Stvolovyye kletki, ich svoystva, istochnik obrazovaniya i rol v regenerativnoy medicine*. Yekaterinburg. 2016; 282. (in Russ.)
2. Yarygin KN. The role of resident and circulating stem cells in physiological and reparative regeneration. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2008; 1: 2-7. (in Russ.)
3. Yushkov BG, Danilova IG, Kozakova IA. The role of stem cells in the regeneration of the liver and kidneys. *Vestnik uralskoyi meditsinskoyi akademicheskoyi nauki*. 2013; 1: 43: 46-48. (in Russ.)
4. Baker KS, Bhatia S, Bunin N, Nieder M, Dvorak CC, Sung L ..., et al. NCI, NHLBI first international consensus conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: state of the science, future directions. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011; 17: 1424-1427. DOI: 10.1016 / j.bbmt.2011.06.007
5. Armenian SH, Sun CL, Vase T, Ness KK, Blum E, Francisco L ..., et al. Cardiovascular risk factors in hematopoietic cell transplantation survivors: role in development of subsequent cardiovascular disease. *Blood*. 2012; 120: 4505-4512. DOI: 10.1182/blood-2012-06-437178
6. Kida A, McDonald GB. Gastrointestinal, hepatobiliary, pancreatic, and ironrelated diseases in longterm survivors of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Seminars in hematology*. 2012; 49: 1: 43-58. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2011.10.006
7. Zemskov VM, Pronko KN, Kozlova MN, Barsukov AA, Shishkina NS, Alekseyev AA. Overview of stem cells and their research in burn patients. *International Journal of Current Research*. 2018; 10: 01: 64731-64736.
8. Brandt JE, Srour EF, Besien K, Hoffman R. Characterization of human hematopoietic stem cells. *Prog Clin Biol Res*. 1990; 352: 29-36.
9. Kuçi S, Wessels JT, Bühring HJ, Schilbach K, Schumm M, Seitz G. Identification of a novel class of human adherent CD34-stem cells that give rise to SCI repopulating cells. *Blood*. 2003; 101: 3: 869-876. DOI: 10.1182/blood-2002-03-0711
10. Sutherland DR, Stewart AK, Keating A. CD34 antigen: molecular features and potential clinical applications. *Stem Cells*. 1993; 3: 50-57. DOI: 10.1002/stem.5530110914
11. Gallacher L, Murdoch B, Wu DM, Karanu FN, Keeney M, Bhatia M. Isolation and characterization of human CD34(-)Lin(-) and CD34(+) Lin(-) hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7. *Blood*. 2000; 95: 9: 2813-2820.
12. Wang TY, Chang SJ, Chang MD, Wang HW. Unique biological properties and application potentials of CD34+ CD38- stem cells from

various sources. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2009; 48: 356-369. DOI: 10.1016/S1028-4559(09)60324-7

13. Pfenninger CV, Roschupkina T, Hertwig F, Kottwitz D, Englund E, Bengzon J. CD133 is not present on neurogenic astrocytes in the adult subventricular zone, but on embryonic neural stem cells, ependymal cells and glioblastoma cells. *Cancer Research.* 2007; 67: 12: 5727-5736. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0183

various sources. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2009; 48: 356-369. DOI: 10.1016/S1028-4559(09)60324-7

13. Pfenninger CV, Roschupkina T, Hertwig F, Kottwitz D, Englund E, Bengzon J. CD133 is not present on neurogenic astrocytes in the adult subventricular zone, but on embryonic neural stem cells, ependymal cells and glioblastoma cells. *Cancer Research.* 2007; 67: 12: 5727-5736. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0183

Информация об авторах

1. Козлова Мария Николаевна - к.м.н., старший научный сотрудник клинико-диагностической лаборатории, Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А. В. Вишневого, e-mail: mnkozlova@rambler.ru
2. Земсков Владимир Михайлович - д.м.н., профессор, главный научный сотрудник клинико-диагностической лаборатории, Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А. В. Вишневого, e-mail: arturrego@yandex.ru.
3. Алексеев Андрей Анатольевич - д.м.н., профессор, заместитель директора Национального медицинского исследовательского центра хирургии имени А. В. Вишневого, e-mail: alexseev@ixv.ru
4. Барсуков Александр Андреевич - к.м.н., врач клинико-диагностической лаборатории, Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А. В. Вишневого, e-mail: cosbio@yandex.ru
5. Шишкина Надежда Семеновна - младший научный сотрудник клинико-диагностической лаборатории, Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А. В. Вишневого, e-mail: shinshila72@mail.ru
6. Демидова Валентина Семеновна - д.б.н., заведующая клинико-диагностической лабораторией e-mail: demidova@ixv.ru
7. Земсков Андрей Михайлович - д.м.н., профессор, заведующий кафедрой микробиологии, Воронежский государственный медицинский университет имени Н. Н. Бурденко, e-mail: zemskov@vsmaburdenko.ru
8. Бобровников Александр Эдуардович - д.м.н., доцент, заведующий ожоговым отделением, Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А. В. Вишневого, Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, e-mail: doctorbobr@mail.ru

Information about the Authors

1. Maria Nikolaevna Kozlova - Ph.D., Senior Researcher of the Clinical Diagnostic Laboratory, A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, e-mail: mnkozlova@rambler.ru
2. Vladimir Mikhailovich Zemskov - M.D., Professor, Chief Researcher of the Clinical Diagnostic Laboratory, A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, e-mail: arturrego@yandex.ru .
3. Andrey Anatolyevich Alekseyev - M.D., Professor, Deputy Director of the A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, e-mail: alexseev@ixv.ru
4. Alexander Andreevich Barsukov - Ph.D., doctor of Clinical diagnostic Laboratory, A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, e-mail: cosbio@yandex.ru
5. Nadezhda Semenovna Shishkina - Junior researcher of the Clinical Diagnostic Laboratory, A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, e-mail: shinshila72@mail.ru
6. Valentina Semenovna Demidova - Doctor of Biological Sciences, Head of the Clinical diagnostic laboratory, A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, e-mail: demidova@ixv.ru
7. Andrey Mikhailovich Zemskov - M.D., Professor, Head of the Department of Microbiology, Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko, e-mail: zemskov@vsmaburdenko.ru
8. Alexander Eduardovich Bobrovnikov - M.D., Associate Professor, Head of the Burn Department, A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: doctorbobr@mail.ru

Цитировать:

Козлова М.Н., Земсков В.М., Алексеев А.А., Демидова В.С., Шишкина Н.С., Куликова А.Н., Земсков А.М., Бобровников А.Э. Исследование гемопоэтических стволовых клеток у больных с обширными ожогами. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии* 2022; 15: 4: 300-305. DOI: 10.18499/2070-478X-2022-15-4-300-305.

To cite this article:

Kozlova M.N., Zemskov V.M., Alekseev A.A., Demidova V.S., Shishkina N.S., Kulikova A.N., Zemskov A.M., Bobrovnikov A.E. Study Of Hematopoietic Stem Cells in Patients with Extensive Burns. *Journal of experimental and clinical surgery* 2022; 15: 4: 300-305. DOI: 10.18499/2070-478X-2022-15-4-300-305.