

## Угнетение подвижности нейтрофилов у хирургических больных с гнойными ранами и раневой инфекцией как показатель интоксикации организма

А.А. Галкин, В.С. Демидова, О.А. Захарова

Клинико-диагностический отдел ФГБУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России;  
Россия, 117997, Москва, ул. Большая Серпуховская, 27

Контакты: Валентина Семеновна Демидова demidova@ixv.ru

Разработан метод автоматической регистрации и анализа двигательной активности нейтрофилов на базе системы анализа изображений Magiscan 2A, позволяющий проводить экспресс-диагностику подвижности нейтрофилов у больных.

Показано, что в популяции нейтрофилов содержатся клетки с различной скоростью движения на стекле. Средняя скорость движения популяции нейтрофилов является устойчивым показателем двигательной активности популяции и может служить объективным параметром функционального состояния нейтрофилов при различных заболеваниях.

У больных с гнойной хирургической инфекцией показана корреляция между угнетением подвижности нейтрофилов и ухудшением клинического состояния больных (скорость в мкм/мин, здоровые доноры — 8,8; больные средней тяжести — 6,5; тяжелые больные — 3,3).

Сыворотка крови тяжелых больных оказывала угнетающее действие на миграцию нейтрофилов, полученных от здоровых доноров. На 11 больных с диабетической гангреной стопы показано увеличение средней скорости движения нейтрофилов с 3,4 до 7,1 мкм/мин через 1–2 сут после радикальной хирургической операции (ампутации).

Ранее мы показали существование реципрокных отношений между подвижностью нейтрофилов и их активацией. Угнетение подвижности нейтрофилов при хирургических заболеваниях мы объясняем их примированием или активацией.

**Ключевые слова:** раны и раневая инфекция, нейтрофилы, клеточная подвижность, компьютерная обработка изображений

### Inhibition of mobility of neutrophils of surgical patients with purulent wounds and wound infection as an indicator of intoxication of the organism

A.A. Galkin, V.S. Demidov, O.A. Zakharova

Clinical and Diagnostic Department, A.V. Vishnevskiy Institute of Surgery, Ministry of Health of Russia;  
27 Bolshaya Serpukhovskaya St., Moscow, 117997, Russia

The method for automatic recording and analysis of motor activity of neutrophils based upon the Magiscan 2A image analysis system allows conducting express diagnostics of motility of neutrophils of patients.

It was shown that cells with various speed of movement on glass are contained in the population of neutrophils. The average speed of movement of neutrophil population is a stable indicator of movement activity of the population and can serve as an objective parameter of the functional state of neutrophils with various diseases.

Patients with purulent surgical infections manifest correlation between inhibition of neutrophil motility and deteriorating of clinical status of patients (speed in  $\mu\text{m}/\text{min}$ , healthy donors — 8.8; patients of average severity — 6.5; serious patients — 3.3).

Blood serum of serious patients had an inhibitory effect on the migration of neutrophils from healthy donors.

Increasing of the average speed of movement of neutrophils from 3.4 to 7.1  $\mu\text{m}/\text{min}$  in 1 to 2 days after a radical surgery (amputation) was demonstrated among 11 patients with the diabetic gangrene of the foot.

Previously, we have shown the existence of reciprocal relationships between motility of neutrophils and their activation. Inhibition of motility of neutrophils with surgical diseases can be explained by their priming or activation.

**Key words:** wounds and wound infection, neutrophils, cell motility, computer image processing

#### Введение

Со времени появления клинических методов измерения двигательной активности нейтрофилов (60–70-е годы прошлого века) многими авторами описано угнетение *in vitro* случайного блуждания и хемотаксиса нейтрофилов у пациентов при обширных травмах,

ожогах, инфекциях. *In vivo* угнетение подвижности проявляется в нарушении миграции нейтрофилов в участки инфекции, которое приобрело название «паралич нейтрофилов», оно служит показателем остроты заболевания и наиболее выражено при сепсисе. Механизмы «паралича нейтрофилов» не выяснены [1].

В 80-е годы нарушение подвижности нейтрофилов было принято объяснять интоксикацией организма. В эти годы в хирургическую практику вводятся разнообразные методы определения токсических свойств биологических жидкостей, в частности парамедианный тест, с целью объективной оценки степени токсемии. Известно, что эндогенная интоксикация — это клинический синдром, возникающий при различных по этиологии патологических состояниях. Интоксикация обусловлена накоплением в тканях и биологических жидкостях избытка продуктов нормального или нарушенного обмена веществ и клеточного реагирования. Существует мнение, что интоксикация является важнейшим фактором, определяющим тяжесть состояния больных при воспалительных заболеваниях.

В 90-е годы представление о воспалительной интоксикации принимает более конкретные очертания с введением термина SIRS (systemic inflammatory response syndrome) для описания синдрома системного воспалительного ответа [2]. SIRS развивается в ответ на повреждения различной степени тяжести, не обязательно связанные с инфекцией или сепсисом, так как проявления SIRS могут быть при многих других условиях, таких как травма, панкреатит, кровопотеря, ожоги или обширные хирургические вмешательства. SIRS характеризуют как ненормальную генерализованную воспалительную реакцию в органах, удаленных от первичного очага воспаления. Ведущим механизмом возникновения SIRS признается неконтролируемое распространение в крови воспалительных или сигнальных цитокинов.

Нарушения миграции нейтрофилов наблюдаются не только при инфекции, но и во всех случаях развития системного воспалительного ответа: при ожогах [3], ранах [4], синдроме острого повреждения легких [5, 6] и у больных, находящихся в критическом состоянии, с анергией [7]. Потеря способности нейтрофилов мигрировать в ткани коррелирует с примированием или активацией нейтрофилов в крови [7, 8] и секрецией лизосомальных ферментов [5].

**Цель настоящей работы** заключалась в том, чтобы с помощью разработанного нами метода измерения скорости движения нейтрофилов на стеклах показать непосредственную связь токсических свойств крови больных с гнойными ранами и раневой инфекцией с нарушением подвижности нейтрофилов и их активацией или примированием.

### Материалы и методы

Применяемые в настоящее время методы оценки интегральной подвижности нейтрофилов по перемещению клеточного фронта (камера Бойдена, миграция под агарозой) имеют ряд достоинств и недостатков, описанных нами ранее [9]. Альтернативой «слепым» клиническим методам может стать визуальный метод

изучения подвижности нейтрофилов на стеклах, который до последнего времени применялся преимущественно в экспериментальных исследованиях.

Автоматизация регистрации и анализа подвижности клеток позволяет не только ускорить получение результатов, но также исследовать новые, ранее недоступные показатели клеточной активности, изучать траектории движения клеток на стеклах, изменения площади и оптической плотности клеток в процессе движения, участие субпопуляций клеток в интегральном показателе и открывает новые возможности для применения визуального метода в клинических исследованиях [9].

В основу примененного нами в Институте хирургии им. А.В. Вишневского визуального метода положено исследование индивидуальной подвижности на стекле каждой клетки, последующий статистический анализ поведения большого количества клеток, которые дают полную картину поведения всей популяции в целом [10].

Выделение нейтрофилов из сгустка венозной крови донора осуществляли по известной методике [11]. Несколько капель крови помещали на маленькое покровное стекло и во влажной камере ставили в термостат при 37 °С на 10–15 мин. Время инкубации определяет плотность посадки нейтрофилов на стекле. После инкубации стекло отмывали от сгустка и эритроцитов легким полосканием последовательно в 3 стаканчиках с раствором Хенкса. Этот простой, атравматичный способ выделения нейтрофилов основан на различии в адгезивности к стеклу различных клеток крови. Такой способ выделения позволяет получать практически чистую (95–98 %) популяцию нейтрофилов.

Покровное стекло с прилипшими к нему нейтрофилами переносили на предметное стекло, на котором по периметру малого покровного стекла предварительно нанесен валик вазелина, заполненный средой Хенкса, содержащей дополнительно 1 % человеческий сывороточный альбумин (рН 7,3). Сверху препарат запечатывался большим покровным стеклом так, что образовывалась глухая непересыхающая камера, содержащая исследуемые клетки. Камеры с нейтрофилами помещали на термостатируемый стол микроскопа.

Темнопольное изображение клеток, полученное на микроскопе (Jenalumar, Германия) с использованием объектива  $\times 6,3$  (размер кадра  $512 \times 512$  мкм), подавалось на телекамеру Magiscan и далее запоминалось в комплексе обработки изображений Magiscan 2A (Англия).

Нами разработан алгоритм идентификации клеток в процессе их миграции и программа, запоминающая положение центров масс клеток и обеспечивающая покадровое (с временным разрешением не ниже 1 с)

слежение за перемещением центра масс каждой клетки, находящейся в поле зрения микроскопа [10]. Межкадровая идентификация за 2 кадра позволяет вычислить сдвиги центров масс, за 3 кадра — изменение направления движения. Выбирая по своему усмотрению величину межкадрового интервала, экспериментатор имеет возможность регистрировать как перемещения, сравнимые с диаметром клетки, так и малые перемещения, в которых существенную роль играют изменения формы клеток.

Интервал между кадрами в данном случае регистрации был выбран 1 мин. Удобство использования 1-минутного межкадрового интервала заключается в том, что за этот интервал времени нейтрофилы перемещаются в среднем на величину клеточного диаметра, а кроме этого скорость движения оценивается в общепринятом стандарте мкм/мин.

Наиболее часто использовали 20–30-минутную регистрацию, но, как показал наш опыт, для экспресс-анализа достаточно 5 мин регистрации, при этом основное время (30–40 мин) затрачивается на приготовление препарата и его адаптацию на термостол микроскопа при 37 °С.

Группу здоровых доноров составляли пациенты отделения переливания крови, группы больных с хирургическими заболеваниями — пациенты отдела ран и раневых инфекций Института хирургии им. А.В. Вишневского.

### Результаты

На рисунке показан график зависимости пути, пройденного нейтрофилами здорового донора, от времени. Видно, что в популяции имеются быстрые и медленные клетки, скорость каждой клетки в среднем приблизительно постоянна, несмотря на значительные флуктуации, и может служить «энергетическим портретом» клетки, а средняя популяционная скорость (жирная линия) постоянна.

Средняя популяционная скорость оказалась устойчивым показателем подвижности всей популяции нейтрофилов, она устойчива, как минимум, в течение 4 ч наблюдения и может служить надежным показателем функционального состояния популяции.

В группе здоровых доноров ( $n = 65$ ) средние популяционные скорости движения нейтрофилов распределены в диапазоне от 7 до 11 мкм/мин, эти значения мы приняли соответственно за нижнюю и верхнюю границы нормы. Значения популяционной скорости ниже 7 мкм/мин мы принимаем как ту или иную степень нарушения подвижности нейтрофилов, а значения выше 11 мкм/мин — как ту или иную степень хемотаксиса.

Средняя популяционная скорость определяется средними индивидуальными скоростями клеток и популяционным составом, т.е. процентным соот-

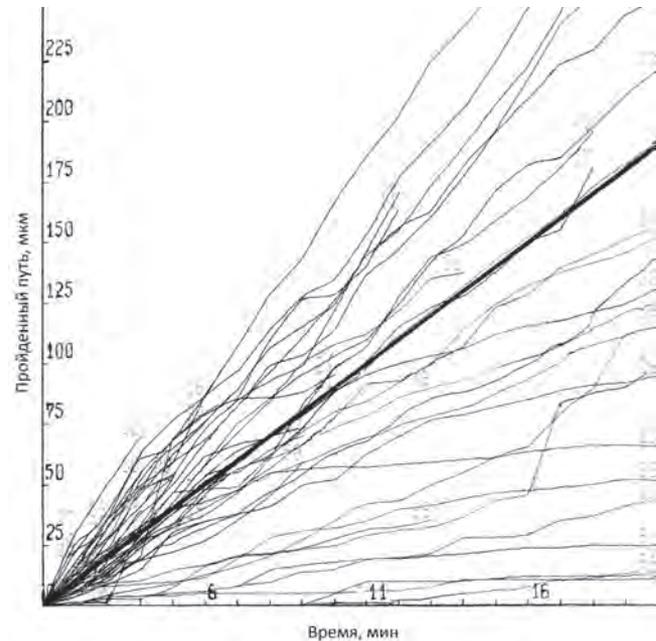


График зависимости пути, пройденного нейтрофилами здорового донора от времени (20 мин регистрации). В поле зрения микроскопа находилось более 50 клеток. Угол наклона кривых представляет скорость движения индивидуальных клеток. Средняя скорость всей популяции клеток (жирная линия) постоянна (в данном случае 9,4 мкм/мин)

ношением быстрых, медленных и неподвижных нейтрофилов в популяции. Для численного представления популяционного состава всю популяцию клеток условно разделили на 3 группы индивидуальных клеток с различной скоростью движения. За неподвижные мы приняли клетки, совершающие перемещения менее 2 мкм/мин, медленными мы считали клетки со скоростью от 2 до 7 мкм/мин и быстрыми — у которых скорость выше 7 мкм/мин.

Для выяснения связи скорости движения нейтрофилов с тяжестью состояния хирургических больных мы провели сравнение скорости и популяционного состава нейтрофилов здоровых доноров с 2 группами больных (по 30 человек) с гнойными ранами и раневой инфекцией. Разделение больных на группы тяжелых и больных средней тяжести проведено по клинко-лабораторным данным.

Показатели скорости движения нейтрофилов и популяционного состава в группах представлены в табл. 1.

Средние популяционные скорости нейтрофилов в группе тяжелых больных распределены в диапазоне от 0 до 6 мкм/мин, в группе больных средней степени тяжести скорости распределены в диапазоне от 4,5 до 9 мкм/мин, частично перекрывая диапазоны тяжелых больных и нормы.

Ясно, что объединенные по одному показателю тяжести состояния группы больных с гнойными ранами будут внутренне разнородны и, тем не менее, сред-

**Таблица 1.** Средняя скорость движения и процентный состав нейтрофилов в группах здоровых доноров, больных средней тяжести и тяжелых больных с гнойными ранами

Группа пациентов	Скорость (M ± m)	Неподвижные, %	Медленные, %	Быстрые, %
Здоровые (n = 65)	8,8 ± 0,2	16	28	56
Средней тяжести (n = 30)	6,5 ± 0,3	27	34	39
Тяжелые (n = 30)	3,3 ± 0,3	58	27	15

**Таблица 2.** Влияние радикальной хирургической операции на скорость движения нейтрофилов у больных с диабетической гангреной стопы (n = 11)

Показатели	Скорость движения нейтрофилов, мкм/мин											M ± m
	1,3	2,3	4,8	4,2	2,6	6,4	3,0	1,9	4,2	1,2	5,2	
До операции	1,3	2,3	4,8	4,2	2,6	6,4	3,0	1,9	4,2	1,2	5,2	3,4 ± 0,5
После операции	6,2	4,0	8,6	8,2	8,1	7,9	6,1	6,1	5,1	8,1	10,1	7,1 ± 0,5

ние популяционные скорости нейтрофилов для 3 групп различаются статистически достоверно по критерию Стьюдента [12]. Коэффициент корреляции между группами здоровых доноров и тяжелых больных  $r = 0,90$ , а между группой больных средней тяжести и группами здоровых доноров и тяжелых больных соответственно  $r = 0,66$  и  $r = 0,73$ . По одной произвольно взятой пробе крови можно лишь с определенной степенью вероятности судить о состоянии больного, однако средняя скорость в популяции ниже 3 мкм/мин безусловно говорит о тяжелом состоянии больного, а скорости 5–6 мкм/мин с большой вероятностью соответствуют состоянию средней тяжести.

Для проверки интоксикационной гипотезы мы провели эксперименты в камерах с протоком по влиянию сыворотки крови тяжелых больных с гнойными ранами на подвижность донорских нейтрофилов, исходно находившихся в аутосыворотке. В 3 экспериментах скорость движения нейтрофилов здоровых доноров в аутосыворотке до подачи сыворотки больных была 8,9; 12,1; 8,1 мкм/мин, а после подачи сыворотки больных соответственно 3,7; 5,4; 4,1 мкм/мин. Аллосыворотка здоровых доноров угнетающего действия не оказывала. Отсюда ясно, что фактор угнетения подвижности нейтрофилов присутствует в сыворотке крови больных.

Токсический фактор оказывает длительное трансформирующее действие на здоровые клетки, так как его действие сохраняется как минимум в течение часа после возвращения клеток в нормальную среду. Полученные нами данные согласуются с литературными данными о токсичности сыворотки и плазмы крови ожоговых больных [3].

В свете этих данных представленная в табл. 1 корреляция угнетения подвижности нейтрофилов с тяже-

стью состояния раневых больных объясняется доминированием фактора интоксикации как важнейшего компонента воспалительного заболевания.

Измерения скорости движения нейтрофилов у больных в процессе лечения показали, что выздоровление в конце концов заканчивается восстановлением нормальной подвижности нейтрофилов, если подвижность нейтрофилов не восстанавливается, тогда больной погибает. Таким образом, появилась возможность использовать измерение скорости движения нейтрофилов в качестве объективного показателя хода лечения и оценки эффективности хирургического вмешательства и медикаментозных воздействий [4].

Особо обратил на себя внимание факт резкого увеличения подвижности нейтрофилов у 11 больных с диабетической гангреной стопы через 1–2 сут после операции радикальной санации очага хирургической инфекции (табл. 2).

Увеличение скорости движения нейтрофилов после радикальной операции не может быть объяснено пополнением циркулирующего пула молодыми клетками из костномозгового пула. Сравнение процентного состава неподвижных, медленных и быстрых нейтрофилов с определяемой параллельно формулой крови не выявляет корреляций.

Для крови здоровых доноров процентное соотношение сегментоядерных нейтрофилов составляет 47–72 %, а палочкоядерных 1–6 % от общего количества лейкоцитов, при этом соотношение между палочкоядерными и сегментоядерными формами составляет 1:16 (показатель ядерного сдвига по Шиллингу). Процентное соотношение неподвижных, медленных и быстрых нейтрофилов в популяции, по нашим данным, составляет 16:28:56.

У тяжелых больных наблюдается сильный сдвиг формулы влево, максимальное содержание палочко-

ядерных нейтрофилов составляет 25 % от общего количества лейкоцитов, наиболее часто их содержание в пределах 10–20 %, а сегментоядерных 45–55 %, тогда как содержание неподвижных клеток может достигать, и даже превышать, 90 %. В процессе лечения восстановление нормального содержания палочкоядерных нейтрофилов происходит очень медленно и занимает недели, а иногда и месяцы, в отличие от этого существенное увеличение скорости движения нейтрофилов после радикальной операции наблюдается через 1–2 сут.

Увеличение скорости движения нейтрофилов после радикальной операции мы объясняем устранением основного очага интоксикации организма больного.

### Обсуждение

Мы показали, что уменьшение скорости движения нейтрофилов у хирургических больных связано с эндогенной интоксикацией.

Встает вопрос, какие факторы могут отвечать за угнетение подвижности нейтрофилов и токсичность сыворотки крови?

Нейтрофилы очень чувствительны к появлению в крови факторов, способных вызывать синдром системного воспалительного ответа, это в первую очередь бактериальные эндотоксины и провоспалительные цитокины, а также вторичные цитокины и другие растворимые медиаторы, способные модулировать функции нейтрофилов [2, 13]. Важнейшим следствием развития системного воспалительного ответа при разнообразных воспалительных заболеваниях является примирование (англ. priming – подготовка к активации) и активация циркулирующих нейтрофилов [14, 15].

Ранее мы показали, что активация и примирование нейтрофилов сопровождаются угнетением их дви-

гательной активности [16, 17]. Литературные данные свидетельствуют, что все агенты, способные активировать нейтрофилы (стимуляторы респираторного взрыва и секреции гранул нейтрофилами), вызывают угнетение подвижности, кроме того, угнетение подвижности нейтрофилов происходит не только при активации, но и при некоторых формах примирования [18, 19]. Нарушения таких двигательных функций нейтрофилов, как случайное блуждание, хемотаксис и фагоцитоз при ожоговой болезни связаны с их примированием и активацией [3]. Мы высказали гипотезу о конкурентных отношениях между функциями подвижности и секреции нейтрофилов [17].

В настоящее время накопилось много свидетельств в пользу представления, что угнетение двигательной активности нейтрофилов при воспалительных заболеваниях различной этиологии связано с наличием в крови факторов интоксикации, оказывающих на нейтрофилы примирующее или активирующее действие.

Литературные данные свидетельствуют, что примирование обратимо и после удаления примирующего воздействия относительно быстро сменяется депримированием [3, 14]. Обратимость примирования позволяет объяснить увеличение скорости движения нейтрофилов у больных с диабетической гангреной стопы после удаления источника интоксикации.

### Заключение

По нашему мнению, угнетение движения нейтрофилов на стеклах может служить специфичным показателем наличия в крови токсических факторов, примирующих или активирующих нейтрофилы и влияющих на интоксикацию организма и тяжесть состояния больных при воспалительных заболеваниях.

## ЛИТЕРАТУРА

- Alves-Filho J.C., Spiller F., Cunha F.Q. Neutrophil paralysis in sepsis. *Shock* 2010;34 Suppl 1:15–21.
- Bone R.C. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation. *Crit Care Med* 1996;24:163–72.
- Галкин А.А., Демидова В.С. Повреждение защитных функций нейтрофилов на ранней стадии ожоговой болезни. Успехи современной биологии 2012;132(3):297–311. [Galkin A.A., Demidova V.S. Damage of neutrophils protective functions at the early stage of burn disease. *Uspekhi sovremennoy biologii = Progress of Modern Biology* 2012;132(3):297–311 (In Russ.)].
- Галкин А.А. Подвижность нейтрофилов в норме и патологии. Дис. ... д-ра биол. наук. М., 1997. 200 с. [Galkin A.A. Motility of neutrophils in the norm and in pathology. Thesis ... of MD. Moscow, 1997. 200 p. (In Russ.)].
- Fowler A.A., Fisher B.J., Centor R.M. et al. Development of the adult respiratory distress syndrome: progressive alteration of neutrophil chemotactic and secretory processes. *Am J Pathol* 1984;116(3):427–35.
- Davis J.M., Meyer J.D., Barie P.S. et al. Elevated production of neutrophil leukotriene B4 precedes pulmonary failure in critically ill surgical patients. *Surg Gynecol Obstet* 1990;170(6):495–500.
- Tellado J.M., Christou N.V. Critically ill anergic patients demonstrate polymorphonuclear neutrophil activation in the intravascular compartment with decreased cell delivery to inflammatory foci. *J Leukoc Biol* 1991;50(6):547–53.
- Rivkind A.I., Siegel J.H., Littleton M. et al. Neutrophil oxidative burst activation and the pattern of respiratory physiologic abnormalities in the fulminant post-traumatic adult respiratory distress syndrome. *Circ Shock* 1991;33(1):48–62.
- Галкин А.А., Тимин Е.Н., Карелин А.А. Методы исследования подвижности ней-

- трофилов (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика 2003;1:22–5. [Galkin A.A., Timin E.N., Karelin A.A. Method of studying of neutrophils motility (review of references). Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics 2003;1:22–5 (In Russ.)].
10. Туманов Е.А., Галкин А.А., Филиппов М.М. и др. Метод автоматической регистрации и анализа миграции лейкоцитов на базе системы обработки изображений. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 1990;6:594–7. [Tumanov E.A., Galkin A.A., Filippov M.M. et al. Method of automatica registration and analysis of migration of leukocytes on the basis of the image processing system. Byulleten experimentalnoy biologii i mediziny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 1990;6:594–7 (In Russ.)].
11. Sroka J., Kordecka A., Wlosiak P. et al. Separation methods for isolation of human polymorphonuclear leukocytes affect their motile activity. Eur J Cell Biol 2009; 88(9):531–9.
12. Галкин А.А., Туманов Е.А., Филиппов М.М. и др. Подвижность нейтрофилов у больных с раневой инфекцией. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 1991;111(5):491–5. [Galkin A.A., Tumanov E.A., Filippov M.M. et al. Motility of neutrophils of patients with wound infections. Byulleten experimentalnoy biologii i mediziny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 1991;111(5):491–5 (In Russ.)].
13. Wagner J.G., Roth R.A. Neutrophil migration mechanisms, with an emphasis on the pulmonary vasculature. Pharmacol Rew 2000;52(3):349–74.
14. Барсуков А.А., Годков М.А., Земсков В.М. и др. Роль праймированных нейтрофилов в повреждении паренхиматозных органов и развитии воспалительной патологии. Успехи современной биологии 2004;124(6):542–54. [Barsukov A.A., Godkov M.A., Zemskov V.M. et al. The role of primed neutrophils in damaging of parenchymal organs and development of inflammatory pathologies. Uspekhi sovremennoy biologii = Progress of Modern Biology 2004;124(6):542–54 (In Russ.)].
15. Cowburn A.S., Condiff A.M., Farahi N. et al. Advances in neutrophil biology. Clinical implications. Chest 2008;134:606–12.
16. Галкин А.А., Туманов Е.А., Тимин Е.Н. и др. Влияние вторичных посредников на двигательную активность нейтрофилов. Вопросы медицинской химии 1994;6:7–10. [Galkin A.A., Tumanov E.A., Timin E.N. et al. Effect of secondary intermediaries on motility of neutrophils. Voprosy medizinskoj khimii = Medical Chemistry Issues 1994;6:7–10 (In Russ.)].
17. Галкин А.А., Туманов Е.А., Тимин Е.Н., Карелин А.А. Действие активаторов на подвижность нейтрофилов. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 1997;124(10):409–12. [Galkin A.A., Tumanov E.A., Timin E.N., Karelin A.A. Effect of activators on motility of neutrophils. Byulleten experimentalnoy biologii i mediziny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 1997;124(10):409–12 (In Russ.)].
18. Галкин А.А., Демидова В.С. Роль  $Ca^{2+}$  в регуляции функций нейтрофилов. Успехи современной биологии 2007;127(1):58–72. [Galkin A.A., Demidova V.S. The role of  $Ca^{2+}$  in regulation of functions of neutrophils. Uspekhi sovremennoy biologii = Progress of Modern Biology 2007;127(1):58–72 (In Russ.)].
19. Галкин А.А., Демидова В.С. Роль адгезии в активации нейтрофилов и цитотоксическом взаимодействии нейтрофилов с эндотелием. Успехи современной биологии 2011;131(1):62–78. [Galkin A.A., Demidova V.S. The role of adhesion in activation of neutrophils and cytotoxic interaction between neutrophils and the endothelium. Uspekhi sovremennoy biologii = Progress of Modern Biology 2011;131(1):62–78 (In Russ.)].