

Задание 2. А. Прочитайте текст. Значения незнакомых слов посмотрите в словаре.

Советская Россия 20–30-х годов XX-го века. Андрей Хромов мечтает создать новый вид борьбы — «самооборону без оружия». Для этого он отправляется в путешествие по Средней Азии — изучать местную борьбу кураш.

В связи с тем, что фильм предназначен для просмотра в полном объеме, необходимо заранее дать обучаемым задания, направленные на активизацию внимания. Эти задания должны привлечь внимание аудитории к ключевым эпизодам фильма. Учащиеся должны на слух воспринимать диалоги и монологи персонажей, а также сопоставлять их действия и поступки и делать из этого выводы.

Лексический минимум: заслуженный, выдающийся, основоположник, родоначальник; боец, прием, самозащита, навык, боевой навык; постигать / постигнуть, постигая; возможность; владеть, владелец; рукопись, свиток, пергамент; исцелить, врачеватель, прикосновение; беречь / уберечь и т. д.

Ответьте на вопросы.

I. 1. Как зовут главного героя фильма? 2. О чем он мечтает? 3. Зачем он едет в Среднюю Азию? 4. В какой республике происходит действие фильма? 5. Кого встречает Хромов в степи по дороге в кишлак? Кто такие Юлчи и его дедушка? 6. Кто такая Лайло? 7. Почему Джафар убил отца Юлчи? 8. Кто такой Фархад?

II. 1. Кто учил Хромова курашу? 2. Какое испытание предложил Джума Хромову, прежде чем взять его в ученики? 3. С кем Хромов познакомился в доме Джумы? 4. Когда в Узбекистане говорили: «Учитель, мясо — твое, а кости — наши». 5. Кто пригласил учеников Джумы на соревнования? Почему Фаттахбек хотел убить Хромова? 6. Кто спас Хромова? 7. Как Мастер лечил его? 8. Зачем Мастер показал Юлчи и Хромову убитого барана? Почему в начале фильма Юлчи не мог ходить? Кто его вылечил? 9. Что Мастер говорил о добре и зле в природе? 10. Почему Мастер прятал рукопись от людей? 11. Почему Мастер не хотел отдать рукопись Джафару, но отдал ее Хромову? 12. Зачем Мастер бросил рукопись в огонь? 13. Почему Хромов думал, прежде чем взять рукопись из костра? 14. Почему Хромов попал в плен к Джафару? 15. Как погибла Лайло? 16. Почему дехкане прогнали банду Джафара? 17. Что случилось с Фархадом?

III. 1. Почему Хромов решил создать новую борьбу? 2. Кому он рассказал об этом? 3. Почему Лайло ушла из дома? Какой у нее был характер? 4. Почему фильм называется «Непобедимый»?

Данные задания содержат вопросы к ключевым моментам фильма, без понимания которых останется неясной главная идея фильма. Также ответы на них показывают глубину понимания содержания фильма. Можно предложить несколько вариантов домашнего задания:

- Какой из героев фильма вам понравился больше? Почему? Опишите его внешность, характер.
- Ваш друг болел и не был на уроке. Расскажите ему о фильме, используя материалы урока.
- В парах. Озвучьте диалог героев фильма (по выбору).

### **Выводы**

Общая методика работы с данным материалом включает подготовительный, просмотровой и послепросмотровый этапы. Подготовку к просмотру фильма облегчает лексический минимум и система комментариев к нему: культуроведческий, биографический, исторический комментарии. Задания к подготовительному и просмотрovому этапам должны быть составлены так, чтобы учащимся после их выполнения во время просмотра фильма не требовался вообще или требовался минимальный комментарий преподавателя.

УДК 616.5 – 002.34 – 031.14 – 036.12 – 074

**ПРОДУКЦИЯ NO-ЛЕЙКОЦИТАМИ КРОВИ ПРИ ФУРУНКУЛЕЗЕ**

*Гомоляко А. В., Гусакова Н. В.*

**Учреждение образования**

**«Гомельский государственный медицинский университет»**

**г. Гомель, Республика Беларусь**

### **Введение**

Множественность биологических функций NO и его участие в патогенезе бактериальных инфекций стафилококковой этиологии позволяет рассматривать оценку нитроксид-

продуцирующих свойств иммунокомпетентных клеток как показатель их функциональной активности, перспективный в качестве дополнительного параметра иммунограммы у данной категории больных. Нитроксид-зависимые механизмы функционирования лейкоцитов при бактериальных инфекциях описаны относительно недавно и изучены недостаточно. Исследования показали, что наряду с бактерицидным действием, NO обладает выраженными регуляторными свойствами, обеспечивающими взаимосвязь и контроль различных форм проявления функциональной активности нейтрофилов. Так, например, оксид азота в физиологической концентрации регулирует процесс хемотаксиса, адгезии лейкоцитов, генерацию супероксида [1], а в условиях гиперпродукции NO может вызывать апоптоз самих клеток-продуцентов и предопределять развитие «негативного» ответа иммунной системы на активацию. В то же время NO-продуцирующий потенциал нейтрофилов при ХРФ не изучен. Важнейшая роль оксида азота в обеспечении полноценных иммунных реакций на бактериальные антигены делает исследование NO-продуцирующих свойств различных клеток при патологических состояниях актуальной проблемой. Для оценки нитроксид-продуцирующей способности клеток используются различные тест-системы, основанные на культивировании выделенных клеток в питательных средах *in vitro* с последующим определением в надосадочной жидкости концентрации NO или его метаболитов. При этом интенсивность продукции NO во многом зависит от способа выделения клеток, используемой питательной среды, плотности клеточной культуры, условий и длительности культивирования. В зависимости от целей эксперимента может оцениваться базальная и/или стимулированная NO-продукция. В качестве стимуляторов обычно используют цитокины (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2 IL-4 IL-6 IL-10) либо бактериальные продукты [2]. Различия в методологических подходах делает результаты, полученные различными исследователями, трудно сопоставимыми. Для детекции NO в биологических жидкостях либо в надосадочной жидкости клеточных культур используются методы, которые можно условно разделить на прямые и косвенные. Прямые методы основаны на непосредственной регистрации NO либо его комплексов с индикаторными молекулами (электронный парамагнитный резонанс, хемилюминесценция, ампервольметрия). Несмотря на высокую чувствительность данных методов (10 нМ – 1 мкМ), они не получили широкого распространения, так как требуют дорогостоящего специального оборудования и реагентов, отличаются сложной аналитической процедурой. Косвенные методы детекции оксида азота основаны на выявлении мРНК NOS (с использованием ПЦР), самого протеина NOS (с использованием антител к NOS), определении активности NOS (по конверсии аргинина в цитруллин), а также на определении конечных продуктов превращения NO: нитриты, 3-нитротирозин, пероксинитрит, S-нитрозотиолы. В связи с простотой, доступностью и хорошими аналитическими характеристиками наиболее широко используются фотометрические методы определения конечных метаболитов NO.

#### **Цель**

Исследование сопоставимости результатов определения NO-продуцирующей активности лейкоцитов у пациентов с хроническим рецидивирующим фурункулезом (ХРФ), проведенной методом детекции 3-нитротирозина и NO $_2^-$ .

#### **Материал и методы исследования**

Обследовано 147 пациентов с ХРФ тяжелого течения, из них в стадии ремиссии — 103, в период клинического обострения — 44. Возраст пациентов колебался от 18 до 50 лет. Продолжительность заболевания составляла от 1 года до 17 лет, при частоте рецидивирования не менее 6 раз в год. Контрольная группа (контроль) состояла из 50 практически здоровых лиц. Нитроксид-продуцирующую активность клеток оценивали двумя различными способами.

1. По накоплению нитрит-анионов (NO $_2^-$ ) — стабильных конечных метаболитов NO в супернатантах клеточных культур по методике L. C. Green и соавторов в нашей модификации [3]. Для получения лейкоконцентрата из гепаринизированной венозной крови удаляли богатую тромбоцитами плазму после центрифугирования 20 мин при 250 g. Верхнюю часть центрифугата, содержащего максимальное количество лейкоцитов, смешивали со стерильным 6 % декстраном для седиментации эритроцитов в течение 30 мин при 37 °С. Суперна-

тант собирали в отдельную пробирку, центрифугировали 5 мин при 250 g и проводили гипотонический лизис остатка эритроцитов в 5 мл дистиллированной воды в течение 30 с с последующим восстановлением изотоничности добавлением 5 мл 1,8 % NaCl. Дважды отмывали лейкоциты фосфатно-солевым буфером, содержащим 0,1 мМ ЭДТА, и однократно питательной средой. Выделенные лейкоциты суспензировали в питательной среде Leibovitz L-15 в концентрации  $5 \times 10^6$ /мл. Для оценки базальной (спонтанной) продукции NO клеточные суспензии в концентрации  $5 \times 10^6$ /мл (по гранулоцитам) инкубировались 3 ч при 37 °С в среде Leibovitz L-15 в плоскодонных планшетах в объеме 0,3 мл. Для определения стимулированной продукции NO инкубация клеток проводилась аналогично, но с добавлением стимулятора в питательную среду. В качестве индуктора синтеза NO использовали препарат пирогенал (липополисахарид *Salmonella typhi*) в конечной концентрации 7 мкг/мл клеточной суспензии [4]. Каждая клеточная культура исследовалась в трипликате. По окончании времени инкубации планшеты центрифугировали 10 мин при 2000 g и в надосадочной жидкости спектрофотометрически определяли содержание  $\text{NO}_2^-$ . Для этого 0,2 мл супернатанта смешивали с равным объемом реактива Грисса (0,5 % сульфаниламид, 0,05 % N-(1-нафтил)-этилендиамин, 4,45 % винная кислота), и инкубировали 20 минут при комнатной температуре и измеряли оптическую плотность при 540 нм против инкубационной среды с отсечением экстинкции при 630 нм. Содержание  $\text{NO}_2^-$  устанавливали по предварительно полученной стандартной калибровочной кривой. Исследование данным методом проводилось в период 2008–2010 гг. на базе ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ».

2. По образованию 3-нитротирозина в супернатантах клеточных культур [5]. Лейкоконцентрат получали методом отстаивания, как описано выше, затем трижды отмывали лейкоциты фосфатно-солевым буфером (рН = 7,4) и доводили до концентрации  $5 \times 10^6$  клеток/мл. Смешивали 0,1 мл лейкоконцентрата с 0,2 мл RPMI-1640 и инкубировали 150 мин при 37 °С. Для определения стимулированной продукции 3-нитротирозина инкубация клеток проводилась аналогично, но с добавлением 0,1 мл RPMI-1640 и 0,1 мл стимулятора (растворимые продукты *S. aureus* в среде RPMI-1640). По окончании времени инкубации клеточную суспензию центрифугировали 5 мин при 250 g. Концентрацию 3-нитротирозина определяли в надосадочной жидкости клеточных культур в спонтанном (NTсп) и стимулированном варианте (NTст). При этом 0,2 мл надосадочной жидкости отбирали и доводили до 1,0 мл фосфатно-солевым буфером (рН = 7,4). Определяли содержание 3-нитротирозина спектрофотометрически по поглощению света на длине волны 430 нм ( $\epsilon_{430} = 4400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) по формуле:  $C = A/d \times \epsilon$ , где C — концентрация 3-нитротирозина; A — показатель абсорбции; d — длина оптического пути;  $\epsilon$  — молярный коэффициент поглощения. Исследование данным методом проводилось в период 2011–2013 гг. в условиях ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ».

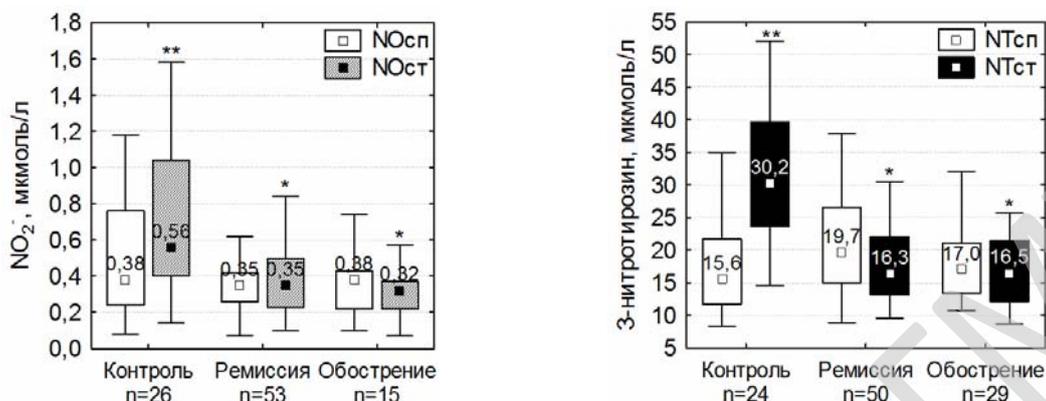
Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ . Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25 %; 75 %).

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Результаты изучения спонтанной и стимулированной продукции NO по накоплению  $\text{NO}_2^-$  и 3-нитротирозина представлены на рисунке 1.

Как видно из рисунка 1, вне зависимости от того, каким методом проводилось определение генерации оксида азота, спонтанная NO-продуцирующая активность (NOсп, NTсп) лейкоцитов пациентов в ремиссии значимо не отличалась от здоровых лиц. В то же время ответ на стимуляцию лейкоцитов (NOст, NTст) у больных фурункулезом и здоровых лиц был диаметрально противоположным. Лейкоциты здоровых лиц отвечали на стимуляцию значимым увеличением продукции NO ( $p < 0,001$ ; W-критерий Вилкоксона). У пациентов уровень продукции NO при стимуляции оставался прежним, и был значимо ниже соответствующих значений контрольной группы ( $p = 0,002$ ). В целом, лейкоциты пациентов в ответ на стимуляцию повышением NO-продукции не реагировали, а в большинстве случаев наблюдался «негативный» нитроксид-продуцирующий ответ лейкоцитов, проявляющийся подавлением продукции NO при воздействии стимулятора. Исходя из выявленных нами особенностей генерации NO у пациентов с ХРФ, можно говорить о парадоксальном (инверсном) NO-продуцирующем ответе

лейкоцитов на стимуляцию. Вероятно, инверсия продукции NO у пациентов с ХРФ в ответ на дополнительную стимуляцию является следствием индукции ареактивности при персистентной бактериальной инфекции.



**Рисунок 1** — Показатели спонтанной и стимулированной продукции NO нейтрофилов у пациентов с ХРФ в стадии ремиссии и обострения в сравнении со здоровыми лицами по накоплению нитрит-анионов и 3-нитротирозина

**Примечание.** \* — различие значимо в сравнении с соответствующим показателем контроля;  
\*\* — различие значимо в сравнении с соответствующим показателем без стимуляции

В стадии обострения фурункулеза у пациентов выявлялось значимое снижение NOст и NTст ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контрольной группой. Как легко заметить, изменения показателей, выявляемые у пациентов при обострении фурункулеза, идентичны таковым у пациентов в стадии ремиссии заболевания.

Таким образом, определение базальной и стимулированной NO-продуцирующей активности лейкоцитов позволило выявить отсутствие функционального NO-продуцирующего резерва у пациентов с хроническим рецидивирующим фурункулезом. Это проявлялось отсутствием увеличения продукции NO в ответ на стимуляцию в культуре *in vitro*, в то время как лейкоциты здоровых лиц в ответ на стимуляцию отвечали значимым повышением образования NO. Дефект стимулированного нитроксидаобразования лейкоцитов у пациентов с ХРФ подтвержден двумя различными способами, на двух не связанных выборках пациентов, в двух независимых исследованиях.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Salvemini, D. Superoxide, peroxynitrite and oxidative/nitrative stress in inflammation / D. Salvemini, T. M. Doyle, S. Cuzzocrea // *Biochemical Society Transactions*. — 2006. — Vol. 34, № 5. — P. 965–970.
2. Free radical production requires both inducible nitric oxide synthase and xanthine oxidase in LPS-treated skin / Kozo Nakai [et al.] // *PNAS*. — 2006. — Vol. 103, № 12. — P. 4616–4621.
3. Hamaliaka, A. V. Nitric oxide production disorders in leukocytes of patients with recurrent furunculosis / A. V. Hamaliaka, I. A. Novikova // *Biomedical Papers*. — 2010. — Vol. 154, № 2. — P. 163–167.
4. Activation of inducible nitric oxide synthase by Kagamjuaguem in peritoneal macrophages in mice / Hyo-Jin An [et al.] // *Indian J. Med. Res.* — 2007. — Vol. 125. — P. 740–746.
5. Новикова, И. А. Комплексная оценка функциональной активности нейтрофилов при хроническом рецидивирующем фурункулезе / И. А. Новикова, Н. В. Гусакова, А. В. Гомоляко // *Медицинская иммунология*. — 2014. — Т. 16, № 1. — С. 81–88.

УДК 616.61-036.12-053.5:159.942.5

### ЭМОЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ПОЧЕК

*Гончарь М. А., Дриль И. С., Петренко Е. К.*

«Харьковский национальный медицинский университет»

г. Харьков, Украина

#### Введение

В настоящее время исследований, посвященных изучению взаимосвязей факторов психической и соматической организации у пациентов с заболеваниями почек в литературе не-