

несколько дополнительных типов клеток экспрессируют один или оба этих рецептора [12].

Гипоксия и гипогликемия являются основными факторами стимулирующими экспрессию VEGF [6]. Гипоксия – индуцированная транскрипция мРНК VEGF очевидно опосредована, по крайней мере частично, связыванием hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) в HIF-1 связывающем сайте расположенном в VEGF промоторе.

Факторы, индуцируемые гипоксией, относятся к семейству основных Helix–Loop–Helix факторов, которые опосредуют ответ на изменения уровня клеточного кислорода. HIF-1 является гетеродимером, состоящим из HIF-1 $\alpha$  и HIF-1 $\beta$  субъединиц. Факторы, индуцируемые гипоксией, опосредуют экспрессию широкого круга генов, которые играют решающую роль в эритропоэзе, ангиогенезе, транспорте глюкозы и гликолизе [7]. HIF-1 $\alpha$  конститутивно экспрессируется в плаценте. В первом триместре HIF-1 $\alpha$  локализуется в синцитиотрофобласте, цитотрофобласте ворсин и фетоплацентарном эндотелии сосудов. Его содержание с гестационным возрастом значительно уменьшается [1].

HIF-1 участвует в основных физиологических и важнейших процессах развития через трансактивацию генов-мишеней. HIF-1 трансактивация генов-мишеней способствует или защитным или патологическим реакциям в нескольких заболеваниях, таких как рак, преэклампсия и т. д. [8].

#### Литература

1. Caniggia I, Mostachfi H, Winter J, Gassmann M, Lye SJ, Kuliszewski M, Post M. Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGF $\beta$ (3). *J Clin Invest* 2000a; 105:577–587
2. Demir R., Kayisli U.A., Cayli S., Huppertz B. 2006. Sequential steps during vasculogenesis and angiogenesis in the very early human placenta // *Placenta*. Vol.27. No.6-7. P535-539
3. Devries, C., Escobedo, J. A., Ueno, H., Houck, K., Ferrara, N., and Williams, L. T. (1992) The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular

- endothelial growth factor. *Science* 255, 989–991
4. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 161: 851-8.
5. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature Med* 2003; 9: 666-9.
5. Neufeld, G., Cohen, T., Gengrinovitch, S., Poltorak, Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 13, 9–22 (1999)
6. Shweiki, D., Itin, A., Soffer, D., and Keshet, E. (1992) Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature (London)* 359, 843–845
7. Safran M, Kaelin WG Jr. HIF hydroxylation and the mammalian oxygen-sensing pathway. *J Clin Invest* 2003; 111:779–783.
8. Semenza G. HIF-1 and human disease: one highly involved factor. *Genes Dev.* 2000 14: 1983-1991
9. Tammela T, Enholm B, Alitalo K, Paavonen K. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 550

#### FACTORS INVOLVED IN ESTABLISHMENT OF ANGIOGENESIS IN PLACENTA

**Kovalenko K.A.**

*Research Institute of Biology, Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

Angiogenesis and vascular transformation are important processes in the normal development of the placenta. Regulation of angiogenesis within the placenta is critical for the development of a healthy placenta and thus a healthy fetus. In this review a careful account is given to vascular endothelial growth factor (VEGF) and hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1).

## ВОЛОСЯНОЙ ПОКРОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА КАК БИОМАРКЕР МИНЕРАЛЬНОЙ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ЖИВОТНЫХ

**Ковалёнок Ю.К.**

*ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»,  
Кафедра внутренних незаразных болезней животных  
Россия, г. Санкт-Петербург  
Республика Беларусь, г. Витебск*

**E-mail: kovalionok@gmail.com**

Одной из ключевых позиций в исследовании волоса на содержание элементов в нем является предварительная подготовка, состоящая в очистке от экзогенных веществ. В современной гуманной медицине учеными накоплен весьма существенный задел [5] и наиболее широко используется способ МАГАТЭ последовательной отмывки волос по схеме: ацетон - вода - ацетон [4].

Вместе с тем в ветеринарии научных наработок [1,2,3] в обсуждаемом контексте опущено недостаточно. Более того, имеются сообщения Замана С.П. [2] указывающие, что медицинский способ пробоподготовки в ветеринарии не применим. В виду того, что одновременно с удалением экзогенных (внешних) загрязнений посредством ацетона происходит разрушение кератиновой и жировой структуры волоса животных, влекущее потерю эндогенных (внутри волоса) элементов, что значительно снижает достоверность анализа.

В этой связи дальнейший поиск способов пробоподготовки волосяного покрова крупного рогатого скота для исследований его на минеральный состав представляется научно и производственно актуальным, что и определило цель настоящей работы.

#### Материалы и методы исследования

В процессе разработки способа пробоподготовки волосяного покрова к исследованию на элементный состав использовано 108 проб волосяного покрова от крупного рогатого скота черно-пестрой породы.

Волосяной покров исследовался на содержание в нем таких минеральных веществ как Li7, Be9, Na23, Mg24, Al27, K39, Ca44, V51, Cr52, Mn55, Fe57, Co59, Ni60, Cu63, Zn66, Ga71, As75, Se78, Rb85, Sr88, Ag107, Cd114, In115, Cs133, Ba137, Hg202, Tl205, Pb208, Bi209. Количественное определение элементов осуществляли методом масс-

спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) используя спектрометр Varian ICP-810-MS.

Серия проведенных опытов была построена на сопоставлении концентрации минеральных веществ в волосяном покрове, подготовленном к исследованию предлагаемыми нами вариантами с известным и практикуемым способом [2].

Критериями оценки чистоты получаемой пробы на разных этапах опыта являлись: 1) мутность промывных вод (жидкостей), определяемая спектрофотометрически при длине волны 589 нм; 2) микроскопия (увеличение 200x) промывного волоса; 3) исследование элементного состава пробы посредством ICP-MS.

Математическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ «STATISTICA 8».

#### **Результаты и их обсуждение.**

В первом опыте мы провели эксперимент, в котором проба волос подвергалась ряду последовательных этапов замачивания в чистой теплой воде, промывания ее в проточной воде, помещения в 96% этиловый спирт-ректификат, промывке дистиллированной водой, сушке в сушильном шкафу и исследованию посредством масс-спектрометрии в индуктивно-связанной плазме. Таким образом, весь процесс подготовки одной пробы к исследованию занимал 18-20 минут. При этом обеспечивалась довольно высокая визуальная степень очистки от экзогенных загрязнений.

При сравнении результатов исследования макро- и микроэлементного состава проб волос, подготовленных с использованием испытуемого и контрольного способов, отмечены существенные различия по таким элементам как Na и Bi (42 – 43 %); Cr, Cu, Cd и Ba (32 – 36 %); Mg, Al, Fe, Ni и Zn (20 – 25 %). В то время как по K и Co столь существенных отличий не отмечалось. При этом особо следует обозначить, значительные различия по содержанию макро- и микроэлементов в пробах волос от одного и того же животного. Для статистической характеристики разброса получаемых значений в группах мы использовали коэффициент вариации. Следует отметить, что данный показатель варьировал в весьма широком диапазоне (от 34 до 172 %), что демонстрирует неоднородность получаемого значения в пределах группы. Мы полагаем, что это может объясняться недостаточной и неравномерной степенью очистки волоса, подготовленного по предлагаемому способу.

Второй способ, предложенный и апробированный нами, отличался тем, что после промывки дистиллированной водой и получения близкой к нулю экстинкции промывающего агента проба волос погружалась в пробирку с водой и центрифугировалась в течение 15 минут со скоростью 3000 об/мин. На этапе контрольной микроскопии волоса, подготовленного вторым способом, посредством статистической обработки для оценки различий между выборками по уровню данного признака, полученные в обсуждаемом и предыдущем опыте с использованием U-критерия Манна – Уитни установлено, что достигаемая очистка волоса при использовании второго способа более существенна, поскольку степень загрязненности волоса на данном этапе достоверно ниже ( $U=2$ ,  $p<0,05$ ), нежели без центрифугирования. Далее пробы подвергали обработке 96%-ным этиловым спиртом, аналогично таковой в первом варианте. Биометрическая

оценка результатов ICP-MS методом однофакторного дисперсионного анализа, вычисление критериев Фишера, Kruskal-Wallis и Van der Waerden, показали отсутствие значимой разницы в содержании исследуемых показателей, как между испытуемыми опытными и контрольной пробами, так и при проведении сравнительного анализа между результатами 1-го и второго опыта. Вместе с тем вариативность рассеивания признаков по выборкам, выраженная коэффициентом вариации балансирует в диапазоне 35 до 173 %, что может быть истолковано как неравномерная и недостаточная степень отмывки волоса.

#### **Выводы**

1. Пробоподготовка волосяного покрова крупного рогатого скота к исследованию на микроэлементный состав посредством существующего способа приводит к высокой погрешности получаемого результата в виду неравномерности получаемых значений показателя выборки.

2. Предложенные нами способы пробоподготовки волосяного покрова показали высокую степень дисперсии и значения коэффициента вариации, выходящие за допустимые 33 %, что указывает на невозможность их применения в лабораторной практике.

3. Поиск оптимального способа подготовки волосяного покрова крупного рогатого скота к исследованию на содержание микроэлементов в нем должен быть продолжен.

#### **Литература**

1. Енукашвили, А.И. Минеральный состав волосяного покрова крупного рогатого скота в связи с возрастом, полом, сезоном года и физиологическим состоянием: дис. канд. биол. наук: 03.00.13/ Енукашвили Абрам Израелович. – СПб, 1992. – 227 с.
2. Замана, С.П. Определение химического элементного состава волосяного покрова у крупного рогатого скота // Сельскохозяйственная биология. – 2006. – №4. – С 121-125.
3. Кальницкий Б.Д. Минеральные вещества в кормлении животных. Ленинград, 1985. – 205 с.
4. Report on Second Research Coordination Meeting of IAEA. Neu-herberg, 1985. - P. 231-237.
5. Skalnaya M.G., Skalny A.V., Demidov V.A., Serebraynsky E.P. Comparative investigation of Pb concentration in hair of muscovites and its contents in the environment // Anke M. et al. Mengen- und Spurenelemente. 21. Arbeitstagung 2002. Leipzig. 2002. - P. 1188-1193.

### **CATTLE HAIR AS A BIOMARKER OF MINERAL PROVISION OF ANIMALS**

**Kovalyonok Y.K**

*Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine,  
Internal Non-infectious Diseases Department,  
Russia, Saint Petersburg.*

The objective of the research was search of an optimal regime of terminal cattle hair preparation for chemical analysis. It has been shown that the use of both traditional preparation method and ones offered by the author do not satisfy with the positions of data uniformity in samples and can not be used in the laboratory practice.