

ВЛИЯНИЕ СЛИЗИ КОЖИ РЫБ РАЗНЫХ ВИДОВ НА АГРЕГАЦИОННУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ ЖВАЧНЫХ IN VITRO¹

© Фомина Л.Л., Кулакова Т.С.,
Ошуркова Ю.Л., Вайцель А.Э.



Любовь Леонидовна Фомина

Вологодская ГМХА им. Н.В. Верещагина
Российская Федерация, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2
E-mail: academy@molochnoe.ru
ORCID: 0000-0001-6850-6663; ResearcherID: T-8368-2018



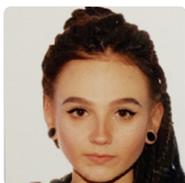
Татьяна Сергеевна Кулакова

Вологодская ГМХА им. Н.В. Верещагина
Российская Федерация, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2
E-mail: academy@molochnoe.ru
ORCID: 0000-0002-9528-2535



Юлия Леонидовна Ошуркова

Вологодская ГМХА им. Н.В. Верещагина
Российская Федерация, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2
E-mail: academy@molochnoe.ru
ORCID: 0000-0002-8376-0296; ResearcherID: T-8759-2018



Анастасия Эдуардовна Вайцель

Вологодская ГМХА им. Н.В. Верещагина
Российская Федерация, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2
E-mail: academy@molochnoe.ru

В работе приведены результаты исследования влияния слизи кожи рыб разных видов на тромбоциты крови жвачных. Показано, что использование слизи кожи карпов и сомов активизирует агрегацию тромбоцитов овец и коров сравнимо с коллагеном – сильнейшим агонистом тромбоцитов млекопитающих. Обнаружено, что все исследуемые методом дот-блота образцы слизи образовали иммунореплику с поликлональными антителами кролика, специфичными к тромбопластину и протромбопластину. При проведении электрофореза слизи установлено, что во всех образцах отчетливо выражена белковая составляющая с массой в диапазоне 25–35 кДа, что может соответствовать массе как тромбопластина, так и протромбопластина.

Рыбы, слизь, кровь, гемостаз, агрегация тромбоцитов.

¹ Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Правительства Вологодской области в рамках научного проекта № 18-44-350002.

Биотехнология и биотехнологические процессы широко применяются в трех отраслях народного хозяйства – медицине, сельском хозяйстве и промышленности, одним из перспективных направлений в современной фармакологии является создание биологически активных препаратов на основе веществ природного происхождения [1; 2, с. 3].

В целостном организме при отсутствии патологических воздействий жидкое состояние крови является следствием равновесия факторов, обуславливающих процессы свертывания и препятствующих их развитию. Нарушение подобного баланса может быть вызвано очень многими травмами, ранениями и послеоперационными осложнениями, связанными с повреждением крупных кровеносных сосудов, или стать наиболее опасным их спутником. Однако и ранения мелких артериальных сосудов или вен не могут считаться для организма безразличными и при ряде обстоятельств часто становятся причиной возникновения острого малокровия и даже гибели животного. Поэтому остановка кровотечения является неотложной хирургической помощью [3].

При больших обширных геморрагиях только остановить кровотечение мало: важно, чтобы средство, которое было применено, не вызывало каких-либо осложнений и реакций со стороны организма.

Самопроизвольная остановка кровотечения наступает тем быстрее и легче, чем меньше калибр сосуда и чем больше повреждается его стенка. Например, перерезка сосуда острым скальпелем всегда сопровождается более интенсивным кровотечением, чем перерезка того же сосуда ножницами [3].

Однако всякое повреждение более или менее крупных сосудов, сопровождающееся кровотечением, требует немедленного хирургического вмешательства.

В ветеринарной и медицинской хирургической практике проблема остановки и профилактики кровотечений очень актуальна, поэтому создание биологического гемостатика из природных пептидов, обладающих высокой биологической активностью, менее выраженным побочным действием и высокой доступностью, представляет значительный интерес [4; 5].

Несмотря на все положительные моменты этих препаратов, их общим минусом является высокая стоимость содержания и выращивания гидробионтов, а также сложность получения компонентов для изготовления этих препаратов.

В настоящее время отсутствует информация о наличии на фармацевтическом рынке гемостатических препаратов на основе активных компонентов слизи кожи рыб. Однако Б.А. Кудряшов, Г.В. Андренко, П.Д. Улитина (1958) на основании анализа свертывания крови у беломорских рыб – трески, наваги, зубатки, бычков и пинагора – пришли к выводу, что у них «биохимическая система свертывания крови сходна с системой млекопитающих животных». У рыб найдены основные тромбогенные белковые компоненты: тромботропин, протромбокиназа и тромбокиназа, протромбин, тромбин и фибриноген. Эти же авторы обнаружили, что слизь кожи рыб является богатым источником протромбокиназы. Слизь с кожи трески, даже разведенная в 10 раз, способна свертывать оксалатную плазму в течение 12–13 сек [4–8].

Известно, что слизь рыб обладает бактерицидными свойствами. Так как в водной среде процесс свертывания крови затруднен, возможно, слизь выполняет и гемостатическую функцию [4; 9].

Анализируя результаты предыдущих исследований, мы заключили, что слизь кожи карпов оказывала гемостатическое действие за счет активации тромбоцитов овец, то есть воздействовала на первич-

ный гемостаз [10; 11]. В связи с этим цель нашей работы – сравнительная оценка агрегационной активности слизи кожи рыб разных видов на кровь коров и овец.

Материалы и методы

Для исследования использовалась слизь с кожи 12 экземпляров карпов (*Syrpinus carpio carpio* Linnaeus, 1758) и 9 экземпляров африканских клариевых сомов (*Clarias gariepinus* Burchell, 1822). Рыбы содержались в аквариумах и УЗВ, расположенных в АкваБиоЦентре ФГБОУ ВО «Вологодская ГМХА». Слизь получали по методике Шульцта и др. (Schultz et al., 2007), собирая в полиэстеровые губки, нарезанные на кусочки 2x2x1 см [4; 5; 9].

Для оценки агрегационной активности слизи кожи рыб кровь овцы и коровы забирали из яремной вены в пробирки с цитратом натрия 3,8% в соотношении 9:1, центрифугировали 10 мин при 1500 об./мин для получения обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП). Часть плазмы отбирали, а оставшуюся центрифугировали при 3000 об./мин в течение 20 минут, получая бедную тромбоцитами плазму. Для оценки агонистической способности слизи кожи рыб применяли количественный метод, основанный на регистрации изменений светопропускания богатой тромбоцитами плазмы с применением ФЭК по Howard M.A. [4; 5; 9].

Определялись суммирующий индекс агрегации тромбоцитов (СИАТ), скорость агрегации (СА) и индекс дезагрегации тромбоцитов (ИДТ) овцы и коровы со свежеполученной слизью кожи рыб в сравнении с коллагеном – сильнейшим активатором агрегации тромбоцитов млекопитающих. Точность метода оценивалась на основании результатов повторных определений агрегационной активности слизи с одной и той же порцией плазмы донора (не менее 9 определений) [4; 5; 9; 10].

Определение присутствия в слизи кожи рыб белков – тромбопластина (фактор свертывания III, тканевой фактор, TF) и протромбопластина (фактор свертывания XI, F11) проводили методами дот-блота на образцах слизи от разных видов рыб. На нитроцеллюлозную мембрану (НЦ), заранее разрезанную на полоски, наносили испытуемые образцы слизи. После этого НЦ подсушивали и помещали в 2%-й раствор бычьего альбумина (BSA) на 1 ч при комнатной температуре. Затем проводили отмывку НЦ в отмывочном буфере (0,05%-й раствор Tween-20 в 1×PBS) в течение 10 мин. Далее НЦ инкубировали в 1,5 мл (для каждой полоски) специфичных АТ (поликлональные, кроличьи) (при разведении в 80–120 раз от исходной концентрации, заявленной производителем (Cloud-Clone Corp.)) в течение 24 ч при температуре 4 °С. Затем проводили отмывку в отмывочном буфере в течение 10 мин, после чего НЦ инкубировали в 1,5 мл (для каждой полоски) АТ к Ig кролика (анти-IgG кролика), конъюгированные с пероксидазой хрена – 2F12-HRP и 3F1-HRP, в разведениях – 1:200 (исходные концентрации 0,8 и 0,6 мг/мл соответственно). Анти-IgG кролика добавлялись в смеси в соотношении 1:1 по объему в течение 24 ч при температуре 4 °С. Затем проводили отмывку в отмывочном буфере в течение 10 мин. После отмывки – проявление иммунореплики раствором 3-аминоэтил-9-карбазола (АЭК), приготовленным на стабилизированном субстратном буфере (0,3 мл концентрированного раствора АЭК добавляли к субстратному буферу, разведенному деионизированной водой 1:9). В случае положительной реакции происходило образование иммунореплики, имеющей вид точки (дота) от бледно- до ярко-розового цвета.

Электрофорез проводили в градиентном (7,5%→15%), полиакриламидном геле (ПААГ), в денатурирующих услови-

ях по следующей методике: 30% раствор акриламида: 29,0 г навески акриламида (HeliconH-0104-0.5) и 1,0 г N,N'-метиленабисакриламида (SERVA 29196) помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяли в воде очищенной при постоянном перемешивании на ультразвуковой бане, затем доводили объем раствора до 100 мл и снова перемешивали. Полученный раствор фильтровали через целлюлозную мембрану с диаметром пор 0,45 мкм. Раствор хранили при температуре 4–6 °С не больше месяца.

Раствор натрия додецилсульфата: 10,0 г навески натрия додецилсульфата (HeliconAm-O227) помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяли в небольшом объеме воды очищенной при аккуратном перемешивании, чтобы не допустить вспенивания, затем доводили объем раствора до 100 мл и снова перемешивали. Полученный раствор хранился при комнатной температуре.

Раствор аммония персульфата (APS): 50,0 мг навески аммония персульфата (SigmaA-6761) растворяли в 0,5 мл воды очищенной. 1,5М буферный раствор трис-гидрохлорида (pH 8,8): 9,0825 г навески трис(гидроксиэтил)аминометана (Roche) помещали в стакан вместимостью 50 мл и растворяли в 40 мл воды. Доводили pH раствора до 8,80 с помощью 1М раствора хлористоводородной кислоты, затем переносили в мерную колбу на 50 мл, доводили объем раствора до метки и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через целлюлозную мембрану с диаметром пор 0,45 мкм. Раствор хранили при 4–6 °С не больше месяца.

1,0 М буферный раствор трис-гидрохлорида (pH 6,8): 6,055 г навески трис(гидроксиэтил)аминометана помещали в стакан вместимостью 50 мл, растворяли навеску в 40 мл воды. Переносили в мерную колбу, доводили pH раствора до 6,8 с помощью 1М раствора хлористоводородной кис-

лоты. Объем полученного раствора доводили до 50 мл и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через целлюлозную мембрану с диаметром пор 0,45 мкм. Раствор хранили при 4–6 °С не больше месяца.

10х электродный буферный раствор: в мерную колбу вместимостью 500 мл помещали навески: 2,0 г натрия додецилсульфата (HeliconAm-O227), 6,0 г трис(гидроксиэтил)аминометана и 30,0 г глицина (Panreac 141340.1000ф), растворяли в воде и доводили объем раствора до 200 мл. Полученный раствор хранили при комнатной температуре не более трех месяцев. Перед анализом раствор разводили водой очищенной в соотношении 1:9 соответственно.

4-хбуферный раствор для образцов для электрофореза: смешивали 2 мл 1М буферного раствора трисгидрохлорида (pH 6,8), 5 г глицерина, 4 мл 10% раствора натрия додецилсульфата, 0,5 мл 2-меркаптоэтанола и 2 мг бромфенолового синего (SigmaB-5525). Полученный раствор хранили при 4–6 °С не больше месяца.

Красящий раствор Кумасси: 0,1 г навески Кумасси бриллиантового R250 (Serva 35051) растворяли в смеси 50 мл спирта этилового и 43 мл воды очищенной. Полученный раствор озвучивали 5 минут на ультразвуковой бане. Затем добавляли 7 мл ледяной уксусной кислоты и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через целлюлозную мембрану с диаметром пор 0,45 мкм, затем хранили при комнатной температуре не больше двух месяцев.

Обесцвечивающий раствор: к 50 мл спирта этилового добавляли 35 мл ледяной уксусной кислоты, доводили объем раствора до 500 мл и перемешивали.

Фиксирующий раствор: к 50 мл спирта этилового добавляли 7 мл ледяной уксусной кислоты, доводили объем раствора до 100 мл и перемешивали.

2% раствор агарозы: 2 г навески агарозы для электрофореза помещали в стеклянную колбу, добавляли 100 мл воды очищенной и растворяли при нагревании.

Камера для вертикального электрофореза: Mini-PROTEANTetraBioRad 165800.

Приготовление разделяющего геля: 2% раствор агарозы нагревали в СВЧ-печи и наливали его с нижней стороны стекла, создавая пробку. В стеклянном флаконе объемом 10 мл смешивали 12% ПААГ: 1,6 мл воды очищенной, 2 мл 30% раствора акриламида, 1,3 мл 1,5М Трис-ОН (рН 8,8), 0,05 мл 100 г/л SDS, 0,05 мл 100 г/л APS и 0,002 мл тетраметилэтилендиамина (TEMED). Полученный раствор перемешивали и немедленно заливали, оставив место для концентрирующего геля (длина зубцов гребенки плюс 1 см). Поверх раствора геля наслаивали 1 мл воды.

Приготовление концентрирующего геля: по окончании полимеризации воду полностью сливали. В стеклянном флаконе объемом 10 мл для получения концентрирующего геля смешивали 0,68 мл воды очищенной, 0,17 мл 30% раствора акриламида, 0,13 мл 1,0 М Трис-ОН (рН 6,8), 0,01 мл 100 г/л SDS, 0,01 мл 100 г/л APS и 0,001 мл TEMED. Раствор перемешивали и немедленно заливали на поверхность разрешающего геля, помещая гребенку.

Приготовление раствора испытуемого образца: 20 мкл образца слизи кожи рыб отбирали в эппендорф, добавляли 10 мкл

двукратного форезного буфера для восстановления условий. Полученную смесь прогревали в течение 2 мин при температуре 97 °С. Готовый образец помещали в лунки в объеме 20 мкл.

Результаты обрабатывали с помощью программного пакета Microsoft Excel. Сравнение данных проводилось с применением U-критерия Манна-Уитни для независимых групп. Значение P приняли равным 0,05.

Результаты и обсуждение

По современным представлениям, в остановке кровотечения участвуют два механизма: сосудисто-тромбоцитарный (первичный) гемостаз и плазменно-коагуляционный (вторичный) гемостаз. Ранее было выявлено, что вторичный гемостаз у рыб все-таки менее активен – тромбиновое и протромбиновое время у рыб в 5–10 раз продолжительнее, чем у млекопитающих [8; 12–14], но в то же время скорость свертывания крови рыб намного выше, чем у млекопитающих. Это можно объяснить тем, что физиологическую роль вторичного гемостаза у рыб может брать на себя выделяемая ими кожная слизь [4; 5; 9; 10]. Результаты сравнения агрегационной активности слизи кожи рыб разных видов представлены в *табл.*

Анализируя полученные результаты, можно отметить, что при использовании слизи кожи рыб как агониста тромбоцитов овец получился достоверно более высокий индекс агрегации, чем при использовании коллагена, сильнее агониста

Таблица. Показатели агрегации тромбоцитов животных под влиянием слизи кожи рыб разных видов

Показатель		Кровь овцы			Кровь коровы		
		слизь кожи карпов (n = 12)	слизь кожи сомов (n = 9)	коллаген (n = 9)	слизь кожи карпов (n = 12)	слизь кожи сомов (n = 9)	коллаген (n = 9)
СИАТ	%	19,65±1,52*	20,00±2,33*	11,36±0,96	5,47±0,42	6,04±0,60	6,67±0,07
СА	мин	0,005±0,001	0,004±0,001	0,006±0,001	0,001±0,0003	0,018±0,003	0,019±0,001
ИДТ	%	5,72±0,41*	2,25±0,17	3,60±0,17	2,82±0,42*	1,53±0,22*	6,21±0,32

* Различия с коллагеном достоверны (p < 0,05).

тромбоцитов млекопитающих. На агрегацию тромбоцитов коров слюзы кожи рыб действовала с той же активностью, что и коллаген – СИАТ не имел достоверных отличий, но скорость агрегации была выше при воздействии слюзы кожи карпов. Оптимальную структуру тромбоцитарного сгустка характеризует индекс дезагрегации тромбоцитов, который был значительно ниже для крови коров при использовании в качестве агонистов слюзы кожи рыб, что указывает на большую устойчивость образующихся агрегатов (рис.).

С учетом проявленной гемостатической активности и исследования [8] мы попытались выделить белки слюзы кожи рыб, активирующие свертывание крови, иммунологическими методами с помощью поликлональных антител кролика, специфичных к тромбопластину и протромбопластину. В отношении образцов слюзы кожи рыб данные методы применялись впервые.

Методом дот-блота было обнаружено, что все исследуемые образцы слюзы (даже при разведении в несколько раз) образовали иммунореплику с поликлональными АТ кролика, специфичными к тромбопластину и протромбопластину (отмечалось

наличие бледно- или ярко-розовых точек (дотов) во всех квадратах, в которые вносили образцы слюзы). Полученные результаты подтверждают наличие в составе слюзы кожи рыб искомым белков.

Для определения белкового состава образцов слюзы рыб был проведен электрофорез. На полученных электрофореграммах образцы слюзы кожи рыб разных видов содержали сходный белковый состав, обладающий различными молекулярными массами (в диапазоне – более 116 и менее 14,4 кДа). Однако интенсивность окраски полос варьировалась, что может быть связано с различным количественным содержанием белков в исследуемых образцах.

Как известно из литературных данных, искомые белки – тромбопластин и протромбопластин – имеют молекулярные массы 33 и 29 кДа соответственно. На электрофореграммах есть полосы, соответствующие указанным массам, которые, вероятно, могут соответствовать искомым в образцах белкам, в частности практически во всех образцах отчетливо выражена белковая составляющая с массой в диапазоне 25–35 кДа, что может соответствовать массе как тромбопластина, так и протромбопластина.

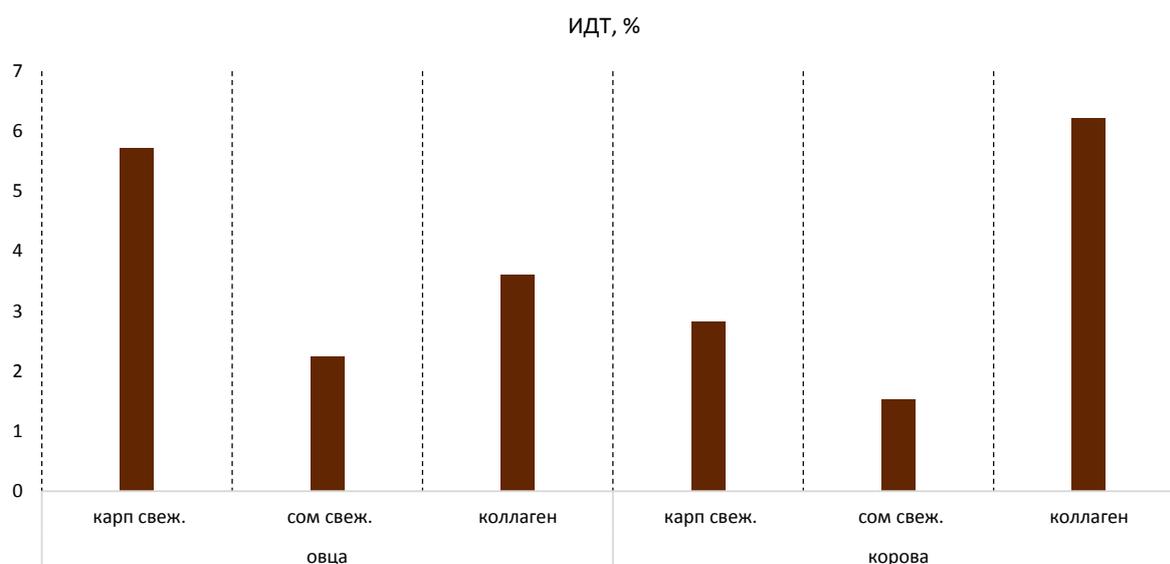


Рис. Индекс дезагрегации тромбоцитов жвачных при воздействии слюзы кожи рыб и коллагена

Следующий этап – постановка иммуноблоттинга образцов с целью выявления искомым белков. Данный вид анализа продемонстрировал наличие в исследуемых образцах слизи кожи рыб искомым белков – тромбопластина и протромбопластина, о чем можно судить по наличию иммунореplik с поликлональными АТ кролика, специфичными к тромбопластину и протромбопластину. Иммунореплики имели вид полос от бледно- до ярко-розового цвета, соответствующих молекулярным массам 33 и 29 кДа.

Таким образом, полученные результаты подтверждают наличие в составе слизи кожи рыб искомым белков, способных к иммобилизации на но-

сители с сохранением своих антигенных свойств.

Применение иммунохимических методов для детекции искомым белков в слизи кожи рыб обуславливает не только новизну полученных результатов, но и их оригинальность. В целом слизь кожи разных видов рыб можно использовать для активации агрегации тромбоцитов жвачных животных. Весьма практичным видится решение о создании биологического гемостатика на основе пептидов из указанного природного источника. Полученные экспериментальные данные позволяют перейти к следующему этапу исследования – проведению более подробной характеристики анализируемых белков слизи кожи рыб.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пептиды из рыб – фармакологические свойства и способы получения. URL: <http://ideal-pharma.ru/baza/peptidy-iz-ryb-farmakologicheskie-svojstva-i-sposoby-polucheniya> (дата обращения 30.01.2020).
2. Рыбаков С.С. Курс лекций по основам биотехнологии: в 2 ч. Ч. 2. Применение биотехнологии. Владимир: Изд-во Владим. гос. ун-та, 2010. 127 с.
3. Овариогистерэктомия у домашних животных. URL: <https://mydocx.ru/2-39410.html#1> (дата обращения 30.01.2020).
4. Вайцель А.Э., Фомина Л.Л. Применение слизи кожи рыб для активации агрегации тромбоцитов *in vitro* // Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регионам: сб. Т. 3. Биологические науки. Вологда, 2017. С. 18–20. URL: https://molochnoe.ru/resources/files/nauka/sborniki/sbornik_3.2_2017.pdf#1 (дата обращения 30.01.2020).
5. Вайцель А.Э. Зависимость стресс-реакций и гемостатической активности слизи кожи карпов // Наука и молодежь: новые идеи и решения в АПК: сб. мат-лов Всерос. науч.-метод. конф. с междунар. участием. Т. II. Иваново: ФГБОУ ВО Ивановская ГСХА, 2018. С. 18–22. URL: http://ivgsha.ru/about_the_university/library/about/festivalnauki2018_tom2редакция.pdf#1 (дата обращения 30.01.2020).
6. Иванов А.А. Физиология рыб: учебн. пособие для студентов. СПб.: Лань, 2011. 279 с.
7. Кожный покров. URL: <https://helpiks.org/1-112910.html> (дата обращения 30.01.2020).
8. Кудряшов Б.А., Андреев Г.В., Улитина П.Д. Тромботропин и протромбокиназа морских рыб // Докл. высш. школы. Биол. науки. 1958. № 3.
9. Вайцель А.Э., Березина Д.И., Фомина Л.Л. Гемостатические свойства слизи рыб // Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регионам: сб. Т. 3. Биологические науки. Вологда, 2016. С. 158–160.
10. Оценка гемостатической активности слизи кожи рыб *in vitro* / Л.Л. Фомина [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2018. № 4 (40). С. 7–11.
11. Fomina L.L., Kulakova T.S., Zhunina O.A., Oshurkova Ju.L., Vaytsel A.E. Hemostatic activity of the mucus of the skin of fish. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2018, November – December, RJPBCS, iss. 9 (6), no. 1130–1136.

12. Березина Д.И., Вайцель А.Э., Фомина Л.Л. Сравнительно-физиологические аспекты системы гемостаза рыб // Эволюционные и экологические аспекты изучения живой материи: сб. тр. Всерос. науч. конф. / Череповецкий государственный университет. Череповец, 2017. С. 38–43.
13. Фомина Л.Л., Кулакова Т.С., Березина Д.И. Определение активности плазменно-коагуляционного звена системы гемостаза рыб клоттинговыми методами с использованием коагулометра // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2017. Т. 35. № 3. С. 54–58.
14. Tavares-Dias M., Oliveira S.R. A review of the blood coagulation system of fish. *Revista Brasileira de Biociências*, 2009, no. 2.

Сведения об авторах

Любовь Леонидовна Фомина – кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина». Российская Федерация, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2; e-mail: academy@molochnoe.ru

Татьяна Сергеевна Кулакова – кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина». Российская Федерация, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2; e-mail: academy@molochnoe.ru

Юлия Леонидовна Ошуркова – кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина». Российская Федерация, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2; e-mail: academy@molochnoe.ru

Анастасия Эдуардовна Вайцель – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина». Российская Федерация, 160555, г. Вологда, с. Молочное, ул. Шмидта, д. 2; e-mail: academy@molochnoe.ru

THE INFLUENCE OF SKIN MUCUS OF DIFFERENT SPECIES OF FISH ON THE PLATELET AGGREGATION ACTIVITY OF RUMINANTS IN VITRO

Fomina L.L., Kulakova T.S., Oshurkova Yu.L., Vaitzel' A.E.

The paper presents the results of a research of influence of fish skin mucus on the ruminants' blood platelets. It is shown that the use of skin mucus of carp and catfish activates platelet aggregation of sheep and cows which is comparable to the collagen, the strongest agonist of mam-

mals' platelets. It is found that all the mucus samples studied by means of the dot-blot method formed an immune-replica with polyclonal antibodies of rabbit specific to thromboplastin and prothromboplastin. When conducting mucus electrophoresis, it was found that a protein component with a mass in the range of 25–35 kDa was distinctly expressed in all samples, which may correspond to the mass of both thromboplastin and prothromboplastin.

Fish, mucus, blood, hemostasis, platelet aggregation.

Information about the authors

Lyubov' L. Fomina – Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Vologda State Dairy Farming Academy by N.V. Vereshchagin”. 2, Schmidta Street, Molochnoe, Vologda, 160555, Russian Federation; e-mail: academy@molochnoe.ru

Tat'yana S. Kulakova – Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Vologda State Dairy Farming Academy by N.V. Vereshchagin”. 2, Schmidta Street, Molochnoe, Vologda, 160555, Russian Federation; e-mail: academy@molochnoe.ru

Yuliya L. Oshurkova – Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Vologda State Dairy Farming Academy by N.V. Vereshchagin”. 2, Schmidta Street, Molochnoe, Vologda, 160555, Russian Federation; e-mail: academy@molochnoe.ru

Anastasiya E. Vaitseľ – Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Vologda State Dairy Farming Academy by N.V. Vereshchagin”. 2, Schmidta Street, Molochnoe, Vologda, 160555, Russian Federation; e-mail: academy@molochnoe.ru