



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98552** (13) **C2**  
(51) МПК (2012.01)  
**G01N 33/48** (2006.01)  
**G01N 31/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

(21) Номер  
заявки: **а 2010 13600**

(22) Дата  
подання  
заявки: **16.11.2010**

(24) Дата, з якої  
є чинними  
права на  
винахід: **25.05.2012**

(41) Публікація  
відомостей  
про заявку: **25.10.2011,  
Бюл.№ 20**

(46) Публікація  
відомостей  
про видачу  
патенту: **25.05.2012,  
Бюл.№ 10**

(72) Винахідник(и):  
**Рибачук Валентина Миколаївна (UA),  
Рясненко Людмила Петрівна (UA),  
Рока-Мойя Яна Маріовна (UA),  
Харченко Світлана Михайлівна (UA),  
Гриненко Тетяна Вікторівна (UA)**

(73) Власник(и):  
**ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДИНА НАЦІОНАЛЬНОЇ  
АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,  
вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна (UA)**

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:  
Ляпина Л.А. О взаимодействии гепарина с сериновыми протеиназами системы свертывания крови // Физиология человека, 1980 - Т. 6, № 2. - С. 265-273.  
Гепарин-тест, «Технология-Стандарт», <http://mdnt.ru/tehnologia3.html>  
Реахром-Гепарин, «Ренам», код ГП-1, ГП-2, ГП-6  
<http://www.medicaltechnics.com/lab/firmprofile.asp?profile=51820>  
Гепарин-тест, «Технология-Стандарт», кат. № 1483,  
Росія [http://www.svemom.dn.ua/index.php?option=com\\_content&view=article&id=75&Itemid=102](http://www.svemom.dn.ua/index.php?option=com_content&view=article&id=75&Itemid=102)  
Normotest, «Technoclon», кат. № 5005020, Австрія .  
<http://www.medinst.su/index.php/2009-09-16-10-30-42/34-2009-09-15-07-15-21/119-technoclon-technoplastin>  
European Pharmacopoeia 6.0, 2.7.5. Heparins, low-molecular-mass. 01/2008:0828, P.2041-2043.  
US 4543335, Sep.24.1985.  
US 5308755, May.03.1994.  
US 6140062, Oct.31. 2000.  
US 20090042303, Feb.12.2009  
Дрозд Н.Н., Макаров В.А., Сергеева Е.В., Берковский А.Л., Варламов В.П., Банникова Г.Е., Мифтахова Н.Т. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ГЕПАРИНОВ ПРОТИВ АКТИВИРОВАННОГО ФАКТОРА Ха С ПОМОЩЬЮ НАБОРА "РЕАХРОМ-ГЕПАРИН" (НПО "РЕНАМ") Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2006.-N 2.-С.16-18.  
Набор реагентов для определения анти Ха активности гепарина оптическим методом. [он-лайн], 2008 [найдено 2012-03-22]. Знайдено в Інтернет: <URL:<http://www.technomedica.com/bian/Hepchrom.pdf>  
Jeanine M Walenga, Craig M Jackson Heparin and Low Molecular Weight Heparins Safety of Heparin Biosimilars. [он-лайн], 2009 [найдено 2012-03-22]. Знайдено в Інтернет:  
<URL:<http://natfonline.org/docs/heparinwebinar.pdf>  
Oshima G, Uchiyama H, Nagasawa K. A method to determine the affinity of heparin to thrombin and antithrombin III on equilibrium gel permeation chromatography. J Biochem. 1984 V.96, N.4, P.1033-9.  
И.С. Голомысов Экспериментальное Моделирование Лизиса Фибринового Сгустка In Vitro В Присутствии ?2-Антиплазмина И ?2-Макроглобулина. ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 2. ХИМИЯ. 2003, Т. 44, № 1, С.28-30.  
Методы определения активности гепарина. Москва, [он-лайн], 2011.[найдено 2011-10-25]. Знайдено в Інтернет:  
<URL:<http://www.renam.ru/dokumentaciya/metodicheskiesposobiya/Metody%20opredeleniya%20aktivnosti%20%20geparina.pdf>

UA 98552 C2

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИ-IIa-ФАКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЕПАРИНІВ І ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИ-IIa-ФАКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ГЕПАРИНІВ НА ЙОГО ОСНОВІ**

---

**(57) Реферат:**

Винахід належить до області біохімії та фармації і може бути використаний для біохімічних та біологічних досліджень, а також для контролю якості субстанцій гепаринів і готових лікарських препаратів на їх основі у фармацевтичній промисловості. Винахід полягає у створенні способу визначення анти-IIa-факторної активності низькомолекулярних гепаринів (НМГ) за залежністю максимальної швидкості латеральної агрегації фібрину від активності досліджуваного та стандартних розчинів НМГ під дією фактора IIa на фізіологічний субстрат - фібриноген. Джерелом фізіологічного субстрату та антитромбіну III є бідна на тромбоцити цитратна плазма крові людини або бика, свіжа, заморожена або ліофільно висушена. Реєстрування світлорозсіювання реакційної суміші проводять турбідиметричним методом. Також запропоновано тест-систему для визначення анти-IIa-факторної активності НМГ, яка містить бідну на тромбоцити плазму крові людини або бика з нормальними показниками гемостазу, заморожену або ліофільно висушену, стандартний зразок низькомолекулярного гепарину, ліофільно висушений фактор IIa з активністю 150 або 500 NIH/флакон, буферний розчин трис-HCl 1 М (концентрат). Технічним результатом винаходу є створення високочутливого, простого у виконанні, автоматичного та економного способу визначення анти-IIa-факторної активності НМГ і тест-системи на його основі.

Винахід належить до області біохімії та фармації і може бути використаний для біохімічних та біологічних досліджень, а також для контролю якості субстанцій гепаринів і готових лікарських препаратів на їх основі у фармацевтичній промисловості.

Існує декілька класів протитромботичних препаратів, здатних запобігати утворенню внутрішньосудинних тромбів або сприяти їх лізису. В першу чергу, це прямі антикоагулянти, зокрема, гепарини. Вони мають швидку та виражену антикоагулянтну дію. Ці мукополісахариди здатні утворювати комплекс з білком плазми крові - антитромбіном III, викликаючи його конформаційні зміни, що призводять до тисячкратного посилення здатності блокувати ключовий фермент каскаду зсідання крові - тромбін (фактор IIa). Тромбін безпосередньо реагує з фібриногеном, перетворюючи цей розчинний білок в нерозчинний полімер фібрин, який є основою тромбу. Крім того, комплекс гепарин - антитромбін III тією чи іншою мірою інактивує інші важливі ферменти системи зсідання крові [1].

З хімічної точки зору гепарини - це ланцюжки полімерів глюкозаміногліканів, які складаються з по чергово з'єднаних залишків D-глюкозаміну та уронової кислоти. Антитромботична активність цих молекул визначається довжиною пентасхаридних послідовностей, розміщених з певною частотою вздовж молекули гепарину. З функціональної точки зору їх поділяють на два класи: нефракціоновані гепарини (НГ) та низькомолекулярні гепарини (НМГ). НГ є сумішшю полісахаридних ланцюгів із середньою молекулярною масою близько 15 кДа. НМГ - це гетерогенна суміш полісахаридів із середньою молекулярною масою менше 8 кДа, що утворюється внаслідок фракціонування, ферментативної чи хімічної деполімеризації НГ. Полісахаридні послідовності, які блокують тромбін, складають близько 30 % НГ і близько 15-20 % НМГ.

Принциповою відмінністю між НГ і НМГ є їх неоднакова інактивуюча дія щодо фактора IIa і фактора Ха, яка визначається механізмом блокування даних ферментів. Для інактивації фактора IIa необхідно утворення потрійного комплексу між гепарином, антитромбіном III і молекулою тромбіну. Для подібного ефекту молекула гепарину повинна бути досить довгою та містити ланцюжок з не менш як 18 пентасхаридних ділянок [2]. Практично всі молекули НГ містять такі ділянки. У випадку НМГ лише менше ніж половина молекул зберігає ці властивості. Така відмінність визначає еквівалентну активність НГ щодо фактора Ха і фактора IIa, в той час як НМГ мають переважно активність по відношенню до фактора Ха [3]. Значущість кожного з цих ефектів остаточно не з'ясована, однак з клінічної точки зору для надійної антикоагулянтної дії важливими є обидва процеси.

Анти-IIa-факторну активність НГ визначають за здатністю гепаринів прискорювати інгібування фактора IIa антитромбіном III.

Сьогодні в медичній практиці для дослідження системи гемостазу в нормі та при різноманітних патологіях застосовують способи і тест-системи на їх основі, чутливі до гепарину [4-14]. Деякі з них базуються на визначенні тромбін-гепаринового часу зсідання та використовуються для розрахунку індексу антитромбінового резерву плазми крові та вмісту гепарину в ній. Результати досліджень фіксують ручним або автоматичним методом за допомогою коагулологічного аналізатора.

Найбільш близьким до винаходу, що заявляється, за технічною суттю і результатом, що досягається, є спосіб визначення анти-IIa-факторної активності НМГ з використанням хромогенного субстрату S<sub>2238</sub> [15]. В основі способу лежить процес інгібування фактора IIa комплексом антитромбін III - НМГ:

антитромбін III - НМГ + фактор IIa (надлишок);  
антитромбін III - НМГ - фактор IIa + надлишок фактора IIa;  
надлишок фактору IIa + хромогенний субстрат → пара-нітроанілін.

Недоліком способу є тривалий час проведення аналізу, потреба в спеціальному обладнанні, дорогих реактивах та витратних матеріалах: хромогенному субстраті, антитромбіні III, факторі IIa, буферних розчинах, що містять альбумін.

На сьогодні не відомо простого у виконанні, високочутливого й економного способу для біологічних досліджень активності субстанцій НГ та їх готових лікарських форм, а також тест-системи для реалізації такого способу.

Задачею винаходу, що заявляється, є розробка високочутливого, простого у виконанні, автоматичного та економного способу визначення анти-IIa-факторної активності НМГ і тест-системи на його основі.

Поставлена задача вирішується шляхом інгібування фактора IIa комплексом антитромбін III - НМГ при утворенні фібрину, в якому субстратом фактора IIa є фізіологічний субстрат, а саме, фібриноген, джерелом фізіологічного субстрату і антитромбіну III є бідна на тромбоцити цитратна плазма крові, причому фізіологічний субстрат та антитромбін III не виділяють з

цитратної плазми крові як індивідуальні білки крові, використовуючи для калібрування стандартний зразок НМГ та турбідиметричний метод аналізу для реєстрації утворення фібрину під дією екзогенного фактору Іа.

Спосіб, що заявляється, дає змогу кількісно оцінювати два етапи цього процесу: утворення протофібрил та їх латеральну агрегацію. Перший етап - утворення протофібрил - визначається часом, протягом якого не відбувається зміна оптичних властивостей інкубаційного середовища. Другий етап - латеральна агрегація - настає після досягнення достатньої довжини протофібрил і асоціації протофібрил у фібрили, що супроводжується наростанням оптичної густини інкубаційного середовища. Критерієм оцінки комплексоутворення НМГ - антитромбін III - фактор Іа було вибрано величину максимальної швидкості латеральної агрегації фібрину ( $V_{\max}$ ). За отриманою калібрувальною кривою залежності  $V_{\max}$  від концентрації стандартного зразка НМГ в інкубаційному середовищі визначають невідому анти-Іа-факторну активність НМГ. Вирішення поставлених задач ілюструють приклади конкретного виконання.

#### Приклад 1

Венозну кров відбирають у пластикову пробірку з 3,8 %-им розчином цитрату натрію у співвідношенні 9:1, центрифугують протягом 15 хв при 3500 об/хв, в результаті одержують бідну тромбоцитами цитратну плазму крові (плазму крові), яку переносять в другу пробірку, де зберігають до проведення дослідів. До 1,7 мл 0,05 М трис-НСІ буферного розчину з рН 7,4, що містить 0,15 М NaCl, 1 мМ CaCl<sub>2</sub>, додають 0,1 мл одержаної плазми крові, 0,1 мл стандартного зразка розчину НМГ з активністю від 0 до 2,5 МО/мл інкубують протягом 3 хв при температурі від 20 до 25 °С, додають 0,1 мл розчину фактора Іа з активністю 20 NIH/мл, реєструють величину світлорозсіювання реакційної суміші при довжині хвилі 350 нм (Фіг.1) та за одержаними значеннями  $V_{\max}$  будують калібрувальну криву (Фіг.2). Час проведення аналізу складає 60 хв.

Готовий лікарський засіб НМГ розводять 0,15 М NaCl до активності близько 1-1,3 МО/мл, вносять 0,1 мл одержаного розведеного досліджуваного розчину в інкубаційне середовище, далі записують криві світлорозсіювання, використовуючи 3 повтори, визначають значення  $V_{\max}$ , за калібрувальною кривою визначають активність НМГ, яка становить 2700±230 МО/мл.

Біля 50 мг субстанції НМГ розчиняють в 100 мл 0,15 М NaCl, 1,5 мл отриманого розчину розбавляють до 50 мл 0,15 М NaCl, визначають активність субстанції НМГ, як описано вище, яка становить 85±7 МЕ/мг в перерахунку на суху речовину препарату.

#### Приклад 2

Для визначення анти-ІІ-факторної активності за прототипом [15], готують серію розведень стандартного зразка НМГ і досліджуваних препаратів. Використовують 4 повтори однакових серійних розведень. Для визначення активності НМГ використовують мікротитраційні планшети та планшетний спектрофотометр. Для розчинення хромогенного субстрату використовують буферний розчин: 0,025 М трис-ЕДТА, рН 8,4, 0,09 М NaCl. Для розчинення фактору Іа і антитромбіну III використовують буферний розчин 0,05 М трис-НСІ, рН 7,4, 0,15 М NaCl, 0,26 мМ альбуміну бика. До 20 мкл стандартних та досліджуваних розчинів додають по 20 мкл антитромбіну III з активністю 0,5 МО/мл, інкубують протягом 60 хв, потім додають 40 мкл фактору Іа з активністю 5 NIH/мл, інкубують протягом 60 хв, додають 100 мкл хромогенного субстрату S<sub>2238</sub> 0,5 мкМ, інкубують протягом 240 хв, реакцію зупиняють додаванням 100 мкл оцтової кислоти. Колориметричним методом вимірюють оптичну густину при 405 нм. Анти-Іа-факторна активність готової лікарської форми НМГ та субстанції НМГ за даним способом складає 2600±400 МО/мл, або 87±13 МЕ/мг відповідно в перерахунку на суху речовину препарату.

#### Приклад 3

Реакційна суміш і умови реакції залишають такими ж, як в прикладі 1, за виключенням кількості плазми крові - в роботу беруть 0,05 мл плазми крові. Анти-Іа-факторна активність готової лікарської форми НМГ складає 2635±200 МО/мл.

#### Приклад 4

Реакційна суміш і умови реакції залишають такими ж, як в прикладі 1, за виключенням фізичного стану цитратної плазми крові - в роботу беруть 0,1 мл плазми крові, яка була заморожена при -20 °С і зберігалася протягом 6 місяців за цієї температури, розморожують її на водяній бані при температурі 37 °С протягом 30 хв. Анти-Іа-факторна активність готової лікарської форми НМГ складає 2735±220 МО/мл.

#### Приклад 5

Реакційна суміш і умови реакції залишають такими ж, як в прикладі 1, за виключенням фізичного стану цитратної плазми крові - в роботу беруть ліофільно висушену контрольну плазму крові з нормальним рівнем системи гемостазу, та в подальшому реконструюють,

витримуючи в дистильованій воді при температурі  $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$  протягом 20 хв. В реакційну суміш додають 0,1 мл приготовленої таким чином плазми крові. Активність готової лікарської форми НМГ складає  $2696 \pm 150$  МО/мл.

Приклад 6

- 5 Реакційна суміш і умови реакції залишають такими ж, як в прикладі 2, за виключенням плазми крові - в роботу беруть 0,05 мл плазми крові бика. Активність готової лікарської форми НМГ складає  $2705 \pm 180$  МО/мл.

Приклад 7

- 10 Реакційна суміш і умови реакції залишаються такими ж, як в прикладі 2, крім активності фактору IIa: - в одному випадку беруть фактор IIa з активністю 2 NIH/мл, в іншому - 200 NIH/мл. Значення  $V_{\max}$  для реакційних сумішей з використанням НМГ в діапазоні активностей від 0 до 2 МО/мл для фактору IIa з активністю 2 NIH/мл та 200 NIH/мл практично не відрізняються, що унеможливорює визначення активності препарату.

Приклад 8

- 15 Реакційна суміш і умови реакції залишалися такими ж, як в прикладі 2, але в буферному розчині замість кальцію хлориду використовують етилендіамінтетраоцтову кислоту (EDTA) 0,03 М. Активність НМГ складає  $2689 \pm 280$  МО/мл, час реєстрації вимірювання світлорозсіювання 12 хв.

Приклад 9

- 20 Тест-система для визначення анти-IIa-факторної активності низькомолекулярних гепаринів включає:

- бідну на тромбоцити плазму крові людини чи бика (заморожену чи ліофільно висушену) з нормальним показником гемостазу, яка є джерелом фізіологічного субстрату та антитромбіну III;
- стандартний зразок низькомолекулярного гепарину;
- 25 - ліофільно висушений фактор IIa з активністю 150 чи 500 NIH/флакон;
- буферний розчин трис-HCl 1 М (концентрат).

Визначення анти-IIa-факторної активності НМГ з використання тест-системи, що заявляється, проводять, виконуючи наступні дії:

- а) заморожену плазму крові людини чи бика розморожують, як описано в прикладі 4, або ліофільно висушену плазму крові людини чи бика реконструюють, як описано в прикладі 5;
- б) стандартний зразок НМГ з відомою анти-IIa-факторною активністю використовують для приготування 3-4 розчинів з активністю від 0,7 до 2,5 МО/мл;
- в) ліофільно висушений фактор IIa розчиняють в 0,15 М розчині натрію хлориду при температурі  $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$  протягом 30 хв до концентрації 20 NIH/мл;
- 35 г) концентрат буферного розчину розводять у співвідношенні 1:20 дистильованою водою;
- д) визначення анти-IIa-факторної активності НМГ проводять, як описано в прикладах 1, 3-6.

Порівняння показників активності НМГ, визначених за способом, що заявляється (приклади 1, 3-6), та за прототипом (приклад 2) показує, що результати аналізів співпадають, стандартне відхилення для способу, що заявляється складає близько  $\pm 8,5\%$ , а для прототипу -  $\pm 15,0\%$ .

- 40 У той же час аналіз прикладів 7-8 показує, що недотримання діапазону величин активностей та складу компонентів не дозволяє отримати результати аналізу або збільшує час на їх виконання.

Таким чином, спосіб визначення анти-IIa-факторної активності НМГ, що заявляється, має ряд переваг порівняно з прототипом, а саме:

- 45 - дозволяє визначати анти-IIa-факторну активність як готових лікарських форм НМГ, так і субстанцій НМГ, використовуючи не індивідуальні реагенти високої вартості (хромогенний субстрат та антитромбін III), а бідну на тромбоцити плазму крові людини чи бика, як свіжоприготовлену, так і заморожену або ліофільно висушену, що містить в собі фізіологічний субстрат та антитромбін III;
- 50 - дозволяє турбідиметричним методом автоматично реєструвати максимальну швидкість реакції, за якою з високою точністю визначати анти-IIa-факторну активність НМГ;
- використовує один буферний розчин, а не два буферних розчини, як за прототипом;
- має значно менший час проведення аналізу порівняно з прототипом - 1 год. (за винаходом, що заявляється) проти 6 год. (за прототипом);
- 55 - має доступну вартість;
- не має вітчизняних та закордонних аналогів.

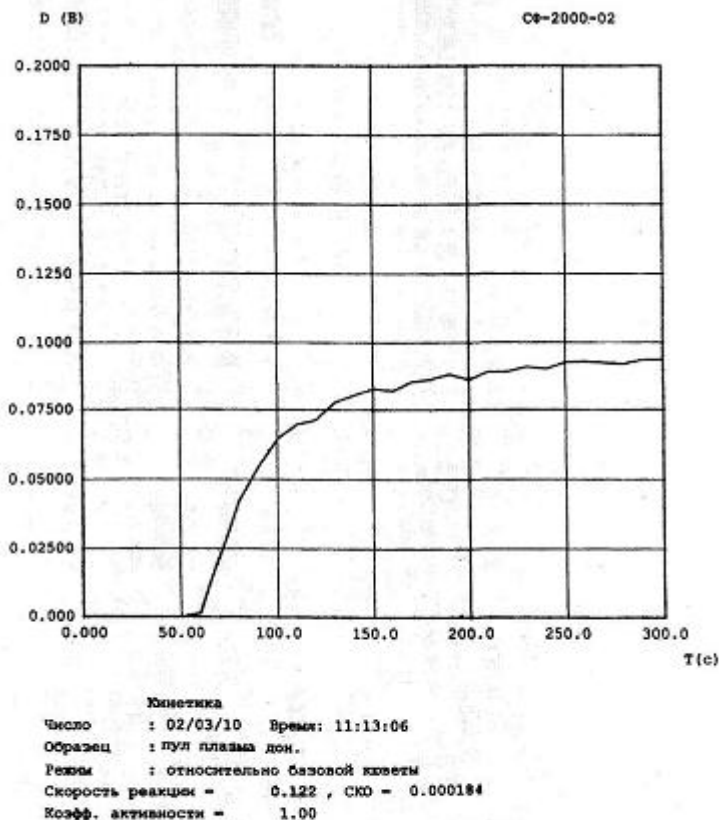
Джерела інформації:

1. Ляпина Л.А. О взаимодействии гепарина с сериновыми протеиназами системы свертывания крови // Физиология человека, 1980 - Т. 6, №2. - С. 265-273.

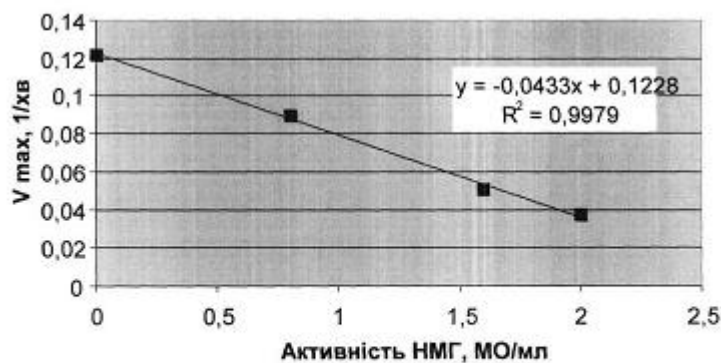
2. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. - Казань. - 2000. - С. 230-240.
3. Samama H., Wajman A. Les nouvelles heparins de faible masse moleculaire // Coeur, 1988. - 19. - p. 42-48.
- 5 4. Реаклот-Гепарин, "Ренам", код ГП-2, Росія <http://www.renam.ru/index.php?productID=787>.
5. Реахром-Гепарин, "Ренам", код ГП-1, Росія. <http://www.renam.ru/index.php?productID=788>.
6. АЧТВ-тест, "Ренам", код ПГ-6, Росія, <http://www.renam.ru/index.php?productID=761>.
7. Гепарин-тест, "Технология-Стандарт", кат№ 1483, Росія.
8. Normotest, "Technoclone", кат. № 5005020, Австрія.
- 10 9. АПТВ/АЧТВ-тест, "Ольвекс Диагностикум", кат. №152, Росія.
10. Гепарин-тест, "Ольвекс Диагностикум", кат. №006, Росія.
11. US 4543335, Sep.24.1985.
12. US 5308755, May.03.1994.
13. US 6140062, Oct.31. 2000.
- 15 14. US 20090042303, Feb.12.2009.
15. European Pharmacopoeia 6,0. "Heparins, Low-Molecular-Mass", 01/2008:0828. - P. 2041-2043.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 20 1. Спосіб визначення анти-IIa-факторної активності низькомолекулярного гепарину, шляхом взаємодії фактору IIa з субстратом в присутності стандартних та досліджуваних розчинів низькомолекулярного гепарину, з додаванням антитромбіну III, інкубуванням та реєструванням величини оптичної густини реакційної суміші, який **відрізняється** тим, що визначають анти-IIa-факторну активність низькомолекулярного гепарину за залежністю максимальної швидкості
- 25 латеральної агрегації фібрину від активності стандартних зразків низькомолекулярного гепарину, використовуючи фізіологічний субстрат: до буферного розчину додають плазму крові та досліджуваний зразок низькомолекулярного гепарину, розведений розчином NaCl до активності 1-1,3 МО/мл, реєструють світлорозсіювання реакційної суміші та визначають
- 30 активність НМГ за калібрувальною кривою залежності величини латеральної агрегації фібрину від концентрації НМГ.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що використовують як джерело фізіологічного субстрату та антитромбіну III бідну на тромбоцити цитратну плазму людини або бика.
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що фізіологічним субстратом є фібриноген.
- 35 4. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що використовують бідну на тромбоцити цитратну плазму людини або бика в свіжому, замороженому або ліофілізованому стані.
5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що використовують буферний розчин 0,05 трис-HCl, pH 7,4, що містить 0,15 M NaCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>.
6. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що величину світлорозсіювання утвореного розчину
- 40 фібрину реєструють при довжині хвилі 350 нм.
7. Тест-система для визначення анти-IIa-факторної активності низькомолекулярних гепаринів містить як джерело фізіологічного субстрату та антитромбіну III бідну на тромбоцити плазму крові людини або бика (заморожену або ліофільно висушену) з нормальними показниками гемостазу, стандартний зразок низькомолекулярного гепарину, ліофільно висушений фактор IIa
- 45 з активністю 150 або 500 NIH/флакон, буферний розчин трис-HCl 1 M (концентрат).



**Типова крива зміни світлорозсіювання при додаванні екзогенного тромбіну до бідної на тромбоцити цитратної плазми крові в інкубаційному середовищі.**  
**Фіг. 1.**



**Залежність величини  $V_{max}$  латеральної агрегації фібрину від концентрації НМГ (калібрувальна крива).**  
**Фіг. 2.**

Комп'ютерна верстка А. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601