

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 042763

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.22

(21) Номер заявки
202000365

(22) Дата подачи заявки
2019.06.26

(51) Int. Cl. G01N 33/96 (2006.01)
G01N 33/86 (2006.01)

(54) НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМ СВЕРТЫВАНИЯ И
ФИБРИНДЕСТРУКЦИИ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ НЕЙРОЗАБОЛЕВАНИЯ

(31) 2018123984

(32) 2018.07.02

(33) RU

(43) 2021.04.02

(86) PCT/RU2019/000464

(87) WO 2020/009614 2020.01.09

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ГЕМАТОЛОГИЧЕСКАЯ
КОРПОРАЦИЯ" (ООО "ТЕМАКОР")
(RU)

(56) US-A1-20080268483
EA-A1-201300544
EP-A2-0823476
US-A-6100072
RU-C1-2256464

(72) Изобретатель:
Атауллаханов Фази́л Ино́ятович,
Коротина Наталья Геннадьевна,
Фадеева Ольга Александровна (RU)

(57) Изобретение относится к биотехнологии и медицине, в частности к набору для диагностики степени тяжести нейрозаболеваний по образцу плазмы крови. Задача, на решение которой направлено заявляемое изобретение, заключается в повышении точности дозирования количества реагентов, увеличении срока их хранения, достижении удобства использования в процессе постановки теста. Технический результат, который может быть получен при реализации изобретения, заключается в повышении точности оценки состояния системы фибриндеструкции для последующего использования в диагностике нейрозаболеваний. Набор реагентов для диагностики степени нейровоспаления, включающий буферную соль и соль кальция ацетата, при этом он содержит ингибитор контактной активации системы свертывания и активатор плазминогена, где указанный ингибитор контактной активации и соль кальция ацетата в смеси с активатором плазминогена выполнены в виде лиофилизата с присадкой, а в качестве активатора плазминогена выбран рекомбинантный активатор плазминогена урокиназного типа.

042763
B1

042763
B1

Область техники

Изобретение относится к биотехнологии и медицине, в частности к набору для диагностики степени тяжести нейрозаболеваний по образцу плазмы крови.

Уровень техники

Согласно статистическим данным ВОЗ нейрозаболевания, в частности инсульт, являются второй причиной смертности в мире. Наиболее распространенным типом инсульта является ишемический инсульт (ИИ, патогенетически подразделяемый на атеротромботический, кардиоэмболический, лакунарный), формирующийся при окклюзии артерии, вследствие чего нарушается кровоснабжение той или иной области мозга. При ишемическом поражении в тканях мозга возникают лактацидоз, цитотоксический отек, аноксическая деполяризация мембран и смерть клеток. Для всех форм инсульта характерно развитие нейровоспаления в очагах поражения тканей мозга в той или иной степени.

Нейровоспаление рассматривают как общий компонент самых разнообразных патологий центральной нервной системы (ЦНС), включая не только острые, но также нейродегенеративные и некоторые психические заболевания. Нейровоспаление в неврологии является частным случаем системного неинфекционного воспаления и обычно связано с локальным повреждением гематоэнцефалического барьера и проникновением клеточных и плазменных элементов крови в паренхиму головного мозга. В результате чего в очаге инсульта наблюдается локальное появление клеток крови (макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов), фибриногена и выпадение фибрина и продуктов его деградации (ПДФ). Известно, что фибрин(оген) и ПДФ активно взаимодействуют с клетками микроглии, макрофагами и нейтрофилами в паренхиме мозга через образование комплекса с рецептором интегрин CD11b/CD18. При этом формируется ответ иммунной системы, сопровождающийся активной генерацией хемокинов, провоспалительных цитокинов и активных форм кислорода. Фибрин в (ЦНС) стимулирует инфильтрацию в очаг инсульта и последующую активацию миелин-специфических Т-клеток, которые вырабатывают аутоантитела к тканям мозга с последующими аутоиммунными расстройствами. При нейровоспалении также наблюдается фибрин(оген)-стимулируемая активация микроглии, которая приводит к апоптозу клеток мозга и гибели нейронов в очаге инсульта. Определение степени нейровоспаления, таким образом, представляется важной задачей в контексте диагностики и последующего лечения неврологических заболеваний. Степень заболевания, оцениваемая в общем случае, с помощью специально разработанных шкал и алгоритмов (например, National Institutes of Health Stroke Scale) или путем простого сравнения с нормальными значениями, включает в себя клиническую оценку риска (по множеству критериев) и/или проведение частных релевантных исследований. Общая картина складывается из суммы баллов (приписываемых каждому критерию), которой соответствует определенная степень выраженности заболевания или путем оценки посредством сравнения с нормальными значениями, которое используется при диагностике большинства заболеваний. При диагностике степени нейровоспаления пользуются аналогичными критериями.

Наличие биологических маркеров нейровоспаления - молекул, концентрация которых резко возрастает при их высвобождении в кровь и ликвор (провоспалительных цитокинов, адгезивных молекул, низкомолекулярных медиаторов воспаления) может использоваться в диагностике нейровоспаления. Однако в процессе нейровоспаления запускается большое количество реакций, о назначении которых на сегодняшний день можно судить крайне ограниченно. Сложность диагностируемой системы, наличие положительных и отрицательных обратных связей, взаимодействие с другими системами организма, выраженная межиндивидуальная гетерогенность патологии и т.д. делает необходимым пересмотр стратегий исследования маркеров нейровоспаления. Так, в качестве биологических маркеров нейровоспаления используют оценку состояния систем свертывания и фибринеструкции, а изучение специфики молекулярных механизмов фибринеструкции открывает новые стратегии для мониторинга и лечения неврологических заболеваний. Диагностика степени нейровоспаления - совокупность мероприятий, направленных на выявление отклонения от нормы и его оценку в изменении свойств плазмы крови пациента, путем сравнения количественных показателей лабораторных исследований, измеренных для исследуемого образца с нормальными значениями - важное звено на данном пути. Изменение коагулологического - фибринеструктивного статуса больного, коррелирующее с неврологическим статусом может быть использовано для диагностики нейрозаболеваний, оценки тяжести состояния больных ишемическим инсультом и прогнозирования исходов заболевания.

Из уровня техники известны способы оценки состояния системы лизиса, которые основаны на определении времени и степени растворения сгустков крови или эуглобулиновой фракции плазмы крови (где в основном содержатся плазминоген и его активаторы, а ингибиторы фибринолиза удаляются), определении концентрации плазминогена и его активаторов, D-димеров. Косвенно фибринолиз оценивают глобальными тестами - тестом генерации тромбина и тромбоэластографией. Однако известные методики не способны оценить систему фибринеструкции в целом, оценивая только ее составляющие части в отдельности.

Основными реагентами, которые используются для исследования системы свертывания и последующей деструкции фибрина в лабораторной диагностике, являются агенты, ингибирующие контактную фазу, раствор соли кальция, активирующие смеси, дополнительные компоненты (субстраты, носители с антителами, отдельные факторы, буферные растворы и т.д.).

Так, из уровня техники известен набор, описанный в публикации американской заявки US 2008/0268483, кл. C12Q 1/S6, G01N 33/86, где для исследования формирования и лизиса тромба (CloFAL) используют буферный раствор, реагент одного или более активаторов свертывания, таких как тканевой фактор (TF) и/или тромбин, и одного или более активатора лизиса тромба, таких как тканевый активатор плазминогена (ТРА). Буферный раствор может содержать TRIS-буферный солевой раствор хлористого кальция.

Основным недостатком использования жидких реагентов в широкой практике является необходимость работы с растворами, которые нужно точно дозировать, что сказывается на качестве проведения теста, кроме того, приготовленные растворы, как правило, мало хранятся.

В качестве ближайшего аналога заявляемого решения выбран набор, описанный в публикации евразийской заявки № 201300544 от 06.06.2013 г., где для исследования роста фибринового сгустка используют реагенты в лиофилизированной форме, содержащие стабилизирующие и формирующие присадки, а в качестве активатора свертывания выбран тканевой фактор, мобилизованный на торце поверхности пластиковой вставки-активатора.

Однако недостатком указанного аналога является отсутствие возможности его использования при исследовании системы фибриндеструкции в полной мере и, как следствие, невозможность диагностики степени тяжести нейрозаболеваний по образцу плазмы крови.

Сущность изобретения

Активность фибриндеструкции пропорциональна остроте системного воспаления, которое, в свою очередь, пропорционально остроте нейровоспаления и тяжести состояния пациента при ишемическом инсульте (ИИ). У больных с ИИ при измерении пространственно-временных параметров лизиса фибринового сгустка определяется суммарная литическая активность, отражающая изменения неврологического статуса больного. Изменение в системе фибриндеструкции у больных ИИ может быть использовано для оценки тяжести состояния больных острым ишемическим инсультом и в прогнозировании исходов заболевания. Поэтому крайне важно иметь возможность оперативно, точно и правильно диагностировать изменения/отклонения в работе системы фибриндеструкции в целом.

Разработанный авторами тест оценки системы фибриндеструкции и набор реагентов для его проведения позволяют качественно и количественно описать динамику процесса свертывания и фибриндеструкции, визуализируя процессы роста и лизиса фибринового сгустка в реальном времени.

Задача, на решение которой направлено заявляемое изобретение, заключается в устранении недостатков аналогов, известных из уровня техники.

Технический результат, который может быть получен при реализации заявляемого решения, заключается в повышении точности оценки состояния системы фибриндеструкции для последующего использования в диагностике степени нейрозаболеваний.

Выбранная форма используемых реагентов (маркированные лиофилизированные аликвоты) позволяет быстро, комфортно и унифицировано проводить исследование, повышая качество тестирования. Точно дозируемое количество реагентов в виде сухой формы не приводит к дополнительному разбавлению исследуемого образца, что крайне важно при измерении параметров роста фибринового сгустка в плазме крови и его растворения, поскольку данное измерение подразумевает индивидуальное аликвотирование малого объема. Выбранные дополнительные компоненты обеспечивают долгое и безопасное хранение составляющих набора без угрозы бактериального загрязнения.

Указанный технический результат обеспечивается подготовкой набора реагентов для диагностики степени нейровоспаления, включающего буферную соль и соль кальция ацетата, при этом он содержит ингибитор контактной активации системы свертывания и активатор плазминогена, где указанный ингибитор контактной активации и соль кальция ацетата в смеси с активатором плазминогена, выполнены в виде лиофилизата с присадкой, а в качестве активатора плазминогена выбран рекомбинантный активатор плазминогена урокиназного типа (р-Урокиназа).

А также тем, что в качестве ингибитора контактной активации системы свертывания выбран кукурузный ингибитор фактора Хагемана.

А также тем, что активатор плазминогена берут в концентрации 105 ед./мл.

А также тем, что в качестве буферной соли выбран HEPES-буфер.

А также тем, что в качестве присадки выбран поливинилпирролидон (ПВП 360000).

С созданием авторами упомянутого набора возросло удобство постановки и качество теста определения состояний коагуляции и фибриндеструкции исследуемого образца плазмы крови. Полученные авторами маркированные аликвоты реагентов позволили быстро, комфортно и унифицировано проводить пробоподготовку теста.

Предложенный авторами набор включает в себя в качестве первого реагента - лиофилизированный ингибитор контактной активации системы свертывания с буфером и присадкой, и в качестве второго реагента - лиофилизированную соль кальция с активатором плазминогена и присадкой.

Заявляемое изобретение может быть проиллюстрировано следующими фигурами чертежей, где на фиг. 1 представлен внешний вид второго реагента после лиофильного высушивания с добавлением разных присадок, а также внешний вид второго реагента (лиофильная форма) после ускоренного

хранения;

на фиг. 2 приведены снимки, соответствующие 2- и 40-й мин исследования пространственного роста и последующего лизиса фибринового сгустка;

на фиг. 3 проиллюстрированы результаты сравнения параметров фибриндеструкции на референсной замороженной плазме до и после сушки для выбранных концентраций активатора плазминогена. Графическое представление параметров LP и LOT, где "столбец" представляет собой среднее значение для полученных данных, "усы" - 2SD;

на фиг. 4 приведены сравнительные результаты для основных параметров фибриндеструкции с использованием "гипо-", "гиперфибринолизных" и нормальной плазм. Графическое представление параметров LP и LOT, где "коробочка" представляет собой среднее значение для полученных данных, "усы" - 2SD, точки - измеренные значения, горизонтальная линия - медиана данных.

Для измерения параметров фибриндеструкции в исследуемом образце *in vitro* было предложено использовать специальный тест, разработанный заявителем, где пространственно-временная динамика свертывания крови инициирована локализованным активатором свертывания в условиях, близких к условиям свертывания крови *in vivo*, а начало процесса лизиса ускорено добавлением активатора фибриндеструкции.

Для проведения теста образцы плазмы крови смешивают с первым и вторым реагентами через установленный промежуток времени и помещают в каналы измерительной кюветы, а затем исследуемый образец приводится в контакт с активатором свертывания. Процесс роста и лизиса фибринового сгустка регистрируется цифровой видеокамерой методом темного поля. Полученная серия снимков дает информацию о динамике коагуляции и фибриндеструкции в образце плазмы крови. На основе полученных снимков рассчитываются численные параметры динамики роста и фибриндеструкции, отображенные в табл. 1.

Таблица 1

Параметр	Обозначение	Единица измерения
Лат-тайм	T _{lag}	мин
Начальная скорость роста сгустка	V _i	мкм/мин
Скорость роста сгустка	V	мкм/мин
Плотность сгустка	D	усл.ед.
Время появления спонтанных сгустков	T _{sp}	мин
Размер сгустка	CS	мкм
Время до начала лизиса	LOT	мин
Динамика лизиса	LP	%/мин

Характерные времена свертывания плазмы и фибриндеструкции сгустка сильно отличаются, лизис *in vitro* наблюдается через десятки минут или часов, а образование сгустка занимает минуты. Однако при определенных условиях *in vitro* можно добиться относительного ускорения начала фибриндеструкции путем добавления небольших концентраций активатора лизиса.

Было установлено, что для получения стабильной и качественной сухой формы первого реагента наилучшее соотношение компонентов, входящих в состав реагента (ингибитор контактной активации системы свертывания (ИКА), используемый для подавления артефактной активности системы свертывания, полученной в результате пробоподготовки; стабилизирующие и формирующие присадки) следующее: ИКА: ПВП: НЕРЕС = 0,02:0,24:0,74 (м/м).

В качестве источника кальция была выбрана соль - кальция ацетат, позволяющая улучшить гигроскопические свойства реагента. С целью выбора рабочей концентрации эффектора фибриндеструкции, известного из уровня техники, для использования в наборе, изучали лизис фибринового сгустка, используя широкий диапазон концентраций р-Урокиназы.

Для тестирования в референсную свежезамороженную плазму крови добавляли активатор фибринолиза в жидком виде в разных концентрациях, разбавление образца не превышало 6% (v/v). На фиг. 2 показаны снимки, соответствующие 2- и 40-й мин исследования. При концентрации р-Урокиназы 75 ед./мл до 40 мин наблюдался нормальный рост сгустка, к 40-й мин были видны первые признаки лизиса. При увеличении концентрации р-Урокиназы до 225 ед./мл сгусток начинал растворяться раньше, чем успевал сформироваться, также имело место артефактное формирование спонтанных сгустков. По результатам предварительных исследований было решено приготовить лиофилизированную форму второго реагента с концентрацией р-Урокиназы 105 и 120 ед./мл. Лиофилизация производилась известным из аналога способом.

После окончания процесса лиофилизации продукт контролировали по показателям: внешний вид (таблетированная форма), тест на исследование пространственно-временной динамики свертывания и фибриндеструкции, концентрация ионов кальция.

Значения концентрации кальция, измеренные в образцах до и после лиофилизации, находились в допустимых пределах. Для реагента с 105 ед./мл р-Урокиназы было получено значение концентрации, равное $(20,6 \pm 0,6)$ мМ (среднее $\pm$ SD), для 120 ед./мл р-Урокиназы - $(19,1 \pm 0,3)$ мМ, при референсном диапазоне [17-23] мМ.

Внешний вид реагента имел вид таблетки.

На фиг. 3 приведено сравнение параметров фибриндеструкции с использованием референсной замороженной плазмы до и после лиофилизации второго реагента. Процесс лиофилизации активатора фибринолиза совместно с реагентом, содержащим соль кальция с присадками, приводил к снижению активности веществ, активирующих фибринолиз. Однако остаточной активности было достаточно для уверенной фиксации процесса фибринолиза за время исследования (для минимальной достаточной концентрации 105 ед./мл р-Урокиназы).

Таким образом, было установлено, что для получения стабильной и качественной сухой формы второго реагента наилучшее соотношение компонентов, входящих в состав реагента, следующее: Кальция ацетат: р-Урокиназа: ПВП = 0,7465:0,0004:0,2631 (м/м).

Для установления гарантированного срока годности и стабильности второго реагента было проведено ускоренное хранение экспериментальных наборов, укомплектованных образцами реагента на основе р-Урокиназы в концентрации 105 ед./мл при температуре 37°C в соответствии с ГОСТ Р ЕН 13640-2010. По истечению каждой временной точки хранения для образцов измеряли параметры коагуляции и лизиса, концентрацию кальция, проводили визуальный контроль. Тестирование расходного материала проводилось в соответствии с планом-графиком, через 0-6-14-25 дней хранения при 37°C соответственно. Критерием стабильности реагентов считали попадание значений проверяемых параметров в диапазон референсных значений.

В табл. 2 приведены значения параметров пространственно-временного свертывания, лизиса и измеренной концентрации кальция в указанных временных точках после хранения при 37°C в суховоздушном термостате. Представлены средние значения $\pm$ SD.

Таблица 2

Срок хран., дни	Т _{lag} , мин	V _I , мкм/мин	V, мкм/мин	LOT, мин	Конц. кальция, мМ
0	0,9 $\pm$ 0,0	58,5 $\pm$ 1,8	31,3 $\pm$ 0,5	30 $\pm$ 2	21,5 $\pm$ 0,1
6	0,9 $\pm$ 0,0	56,5 $\pm$ 0,6	28,1 $\pm$ 0,6	30 $\pm$ 2	22,7 $\pm$ 0,1
14	0,9 $\pm$ 0,0	56,6 $\pm$ 1,0	28,0 $\pm$ 0,8	28 $\pm$ 1	21,8 $\pm$ 0,1
25	1,1 $\pm$ 0,1	55,1 $\pm$ 1,8	29,5 $\pm$ 0,5	36 $\pm$ 2	21,1 $\pm$ 0,1
референс	[0,7-1,4]	[48-59]	[25-29]		[17-23]

Визуальный контроль: внешний вид реагентов сохранялся в виде плотной таблетки на протяжении 25 дней хранения.

Значения параметров, измеренные для проверяемых реагентов, попадали в диапазоны указанных референсных значений на протяжении всего исследования, что свидетельствует о выполнении критерия стабильности реагентов.

Время ускоренного хранения при 37°C пересчитывали на время прямого хранения при температуре 4°C по правилу Вант-Гоффа, получив: для 25 дней хранения при 37°C рассчитываемое время хранения при 4°C составило ~200 дней. Таким образом, по результатам проведенного ускоренного хранения, срок годности наборов, укомплектованных образцами второго реагента на основе р-Урокиназы, 105 ед./мл составил не менее 6 месяцев при 4°C.

Применение заявляемого набора далее иллюстрируется на неисчерпывающих примерах 1 и 2.

Пример 1.

Была проведена унифицированная постановка теста пространственно-временного свертывания и фибриндеструкции с использованием нормальной и модельных "гипер"- "гипофибринолизных" плазм. Для проведения теста 120 мкл образца плазмы крови смешивали с готовыми, точно дозированными лиофилизированными аликвотами (в виде таблетки) первого и второго заявляемых реагентов и помещали в измерительную кювету, после чего приводили в контакт с активаторной вставкой - пластиковой пластиной с нанесенным на торец пластины активатором свертывания. От активирующей поверхности вглубь плазмы начинался рост фибринового сгустка и его последующий лизис. Параметры процессов рассчитывались по-

сле окончания тестирования, с помощью разработанного заявителем программного обеспечения.

Модельную гиперфибринолизную плазму готовили, добавляя тканевой активатор плазминогена - Альтеплазу в плазму в конечной концентрации 0,02 мг/мл. Модельную гипофибринолизную плазму готовили, добавляя ингибитор активации плазминогена - транексамовую кислоту в плазму в конечной концентрации 0,0005 мг/мл. Были произведены повторные измерения с использованием второго реагента на основе р-Урокиназы, 105 ед./мл для всех типов плазм. В табл. 3 приведены результаты измерений. Представлены средние значения $\pm$ SD.

Таблица 3

Плазма/ параметр	Tlag, мин	Vi, мкм/мин	V, мкм/мин	LOT, мин	LP, %/мин
«норма»	0,9 $\pm$ 0,1	55,5 $\pm$ 1,9	27,2 $\pm$ 0,7	31 $\pm$ 3,5	3 $\pm$ 0,5
«гипер»	0,85 $\pm$ 0,1	53,6 $\pm$ 1,9	28,2 $\pm$ 5,3	10,6 $\pm$ 0,3	30,2 $\pm$ 5,6
«гипо»	0,96 $\pm$ 0,2	54,6 $\pm$ 1,7	27,9 $\pm$ 0,9	51,3 $\pm$ 4,8	2,4 $\pm$ 0,3
Референсные значения	0,8 $\pm$ 0,2	55 $\pm$ 3,2	27 $\pm$ 1,5		

Полученные измерения показывают, что время до начала лизиса на модельной гипоплазме по лизису заметно выше, чем на нормальной плазме. На гиперплазме наблюдается уменьшение времени до начала лизиса и заметно выше скорость лизиса, по сравнению с нормальной плазмой.

Анализ на статистически достоверное различие распределений параметров фибринолиза для различных типов плазм показал:

полученные параметры LP (динамика лизиса) для гиперплазмы достоверно отличаются от нормальной и гипоплазмы (критерий Вилкоксона, $p < 0.005$);

полученные параметры LP для нормальной и гипоплазмы, LOT (время до начала лизиса) для всех типов плазм достоверно различаются (критерий независимого непарного t-test, $p < 0.005$).

Пример 2.

Унифицированное проведение теста пространственно-временного свертывания и фибриндеструкции с использованием свежеприготовленной плазмы крови. Параметры роста фибринового сгустка и лизиса в норме и патологии.

Заявляемый набор реагентов был использован для тестирования образцов свежеприготовленной патоплазмы с гиперфибринолизным статусом системы гемостаза (разновидность неврологического заболевания, параноидная шизофрения).

Приготовление исследуемого образца и проведение теста осуществлялось как в примере 1.

Полученные в результате типичных исследований количественные характеристики значений сведены в табл. 4. Как видно из таблицы, значения параметров для патологических состояний отличаются от нормы в большую сторону (за исключением параметра Tlag, который ожидаемо находится в норме), соответственно, однозначно обозначая гиперфибринолизное (измененное) состояние, подтверждая, таким образом, корреляцию с неврологическим статусом больного.

Таблица 4

Параметр	патоплазма	нормаплазма	Референс
Tlag, мин	0,9	1,1	[0,6-1,5]
Vi, мкм/мин	57,6	49,9	[38-56]
V, мкм/мин	35,9	25,2	[20-29]
CS, мкм	1343	1069	[800-1200]
LOT, мин	37,0	34,3	
LP, %/мин	8,4	2,0	

Вышеописанный пример подтверждает, что заявляемый набор реагентов может быть использован для тестирования патологических образцов неврологической этиологии. Также подтверждает удобство их использования (таблетированная форма) и точность определения параметров теста за счет заранее аликовотированных реагентов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Набор реагентов для оценки состояния систем свертывания и фибриндеструкции при диагностике нейрозаболевания, включающий выполненные в форме лиофилизата первый реагент, содержащий ингибитор контактной активации системы свертывания (ИКА), в качестве которого используют кукурузный ингибитор фактора Хагемана, поливинилпирролидон (ПВП) в качестве формирующей присадки и НЕРЕС в качестве буферной соли при массовом соотношении ИКА:ПВП:НЕРЕС, равном 0,02:0,24:0,74, и второй реагент, содержащий кальция ацетат и рекомбинантный активатор плазминогена урокиназного типа (р-Урокиназа) при массовом соотношении кальция ацетат:р-Урокиназа:ПВП, равном

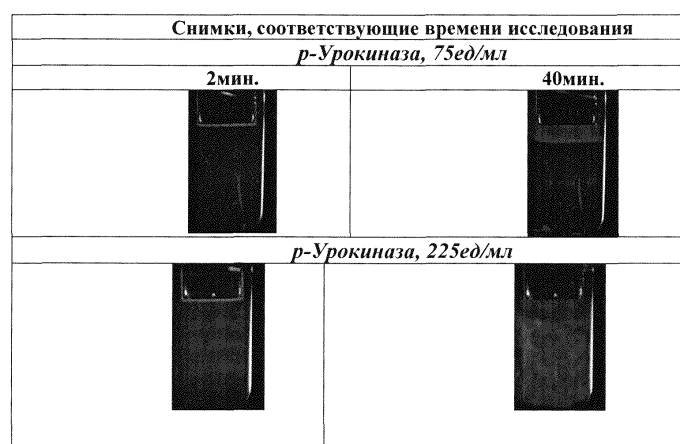
0,7465:0,0004:0,2631.

2. Набор по п.1, отличающийся тем, что содержит активатор плазминогена в концентрации 105 ед./мл.

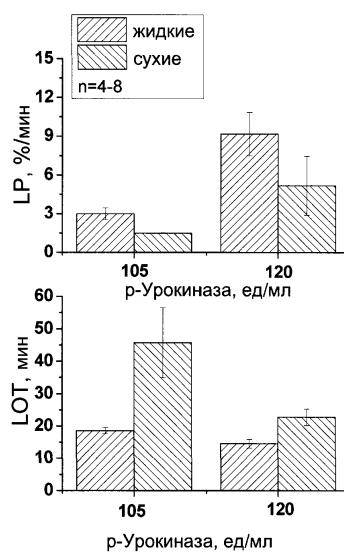
3. Набор по п.1, отличающийся тем, что содержит ПВП 360000.



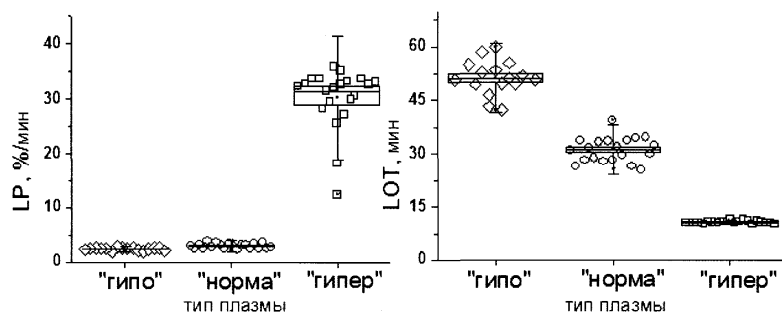
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

