

© Коллектив авторов, 2022

УДК 612.115.3:612.115.064

Сороколетов С.М.¹, Ляпина Л.А.², Григорьева М.Е.²

Антитромботические эффекты комплексных препаратов низкомолекулярного гепарина с аспирином в норме и при гиперкоагуляции

¹ГБУЗ «ГКБ им. С. П. Боткина» ДЗМ,

125284, Москва, Россия, 2-й Боткинский проезд, д. 5, к. 22;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»,

119234, Москва, Россия, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Введение. Актуальной проблемой физиологии и медицины является создание безопасных антитромботических препаратов. Обычно применяют антикоагулянты гепариновой природы. **Цель работы** – изучение противосвертывающего эффекта комплекса низкомолекулярного гепарина с аспирином (КГА) при его пероральном применении.

Методика. КГА создан при весовом соотношении гепарина и аспирина 1:6. Определены агрегация тромбоцитов, антикоагулянтная, фибринолитическая и фибриндеполимеризационная активности плазмы при ежедневном в течение 7 сут пероральном применении КГА в дозе 1 мг/кг массы тела здоровым крысам и при моделировании у них гиперкоагуляции введением тканевого тромбопластина.

Результаты. Через 20 ч после седьмого введения здоровым крысам КГА в плазме крови установлено повышение антикоагулянтной активности (АЧТВ) на 20%, суммарной фибринолитической активности (СФА) на 30%, фибриндеполимеризационной активности (ФДПА) на 45% и снижение агрегации тромбоцитов на 16 % по сравнению с нормой. Через 60 мин после последней трехкратной через каждые 30 мин инъекции тканевого тромбопластина (модель гиперкоагуляции) на фоне предварительного в течение 7 сут поступления КГА в организм крыс (опыт) отмечались нормальные значения параметров гемостаза в отличие от показателей у контрольных крыс, получавших тромбопластин на фоне семикратно вводимого физиологического раствора (вместо комплекса).

Заключение. Впервые установлена способность КГА проявлять антикоагулянтные, фибринолитические, фибриндеполимеризационные свойства и снижать агрегацию тромбоцитов при пероральном введении здоровым крысам, а также животным с гиперкоагуляцией. Делается вывод о перспективности исследования КГА в качестве антитромботического перорального средства, что в дальнейшем следует учитывать при разработке подходов к терапии гиперкоагуляционных состояний.

Ключевые слова: низкомолекулярный гепарин; аспирин; комплекс; фибринолиз; тромбопластин; многократное пероральное введение

Для цитирования: Сороколетов С.М., Ляпина Л.А., Григорьева М.Е. Антитромботические эффекты комплексных препаратов низкомолекулярного гепарина с аспирином в норме и при гиперкоагуляции. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(3): 45-51.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.03.45-51

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Сороколетов С.М., написание текста и редактирование – Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., определение параметров крови – Григорьева М.Е., Ляпина Л.А. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Ляпина Людмила Анисимовна, e-mail: lyapinal@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 31.03.2022

Принята к печати 14.06.2022

Опубликована 12.09.2022

Sorokoletov S.M.¹, Lyapina L.A.², Grigorjeva M.E.²**Antithrombotic effects of low molecular weight heparin-aspirin combination therapy in normal condition and hypercoagulation**¹Botkin Municipal Clinical Hospital,2nd Botkinsky Proezd 5, Moscow 125284, Russian Federation;²Lomonosov Moscow State University,

Leninskie Gory 1/12, Moscow 119234, Russian Federation

Creation of safe antithrombotic drugs is a relevant problem of physiology and medicine. Generally, heparin anticoagulants are used. **The aim** of this work was to study the anticoagulant effect of an oral combination drug including a low molecular weight heparin and aspirin (CHA).

Methods. CHA was formulated with a 1:6 w/w ratio of heparin and aspirin. Platelet aggregation, anticoagulant, fibrinolytic, and fibrin-depolymerization activities of plasma were determined with daily oral administration of CHA (1 mg/kg body weight, daily, for 7 days) to intact rats and to rats with hypercoagulation modeled by administration of tissue thromboplastin.

Results. 20 h after the 7th administration of CHA to control rats, increases in plasma anticoagulant activity (activated partial thromboplastin time, aPTT) by 20%, total fibrinolytic activity (TFA) by 30%, and the fibrin-depolymerization activity (FDPA) by 45%, and a decrease in platelet aggregation by 16% as compared to the intact rats were observed. 60 min after the last of three tissue thromboplastin injections administered every 30 minutes (hypercoagulation model) following the CHA administration for 7 days (experiment), hemostasis parameters were normal as distinct from the control rats treated with thromboplastin following 7 administrations of a saline solution (instead of CHA).

Conclusion. This study was the first to demonstrate that CHA has anticoagulant, fibrinolytic, and fibrin-depolymerizing activities and reduces platelet aggregation when administered orally both to intact rats and rats with hypercoagulation. Thus, we concluded that CHA is promising as an oral antithrombotic drug, which should be taken into account in future development of the treatment of hypercoagulation conditions.

Keywords: low molecular weight heparin; aspirin; complex; fibrinolysis; thromboplastin; multiple administration

For citation: Sorokoletov S.M., Lyapina L.A., Grigorjeva M.E. Antithrombotic effects of low molecular weight heparin-aspirin combination therapy in normal condition and hypercoagulation. *Patologicheskaya Fiziologiya Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2022; 66(3): 45-51.

DOI: 10.25557/0031-2991.2022.03.45-51

Author's contribution: the concept and design of the research – Sorokoletov S.M.; writing the text – Lyapina L.A., Grigorjeva M.E.; editing – Grigorjeva M.E.; blood parameters definitions – Lyapina L.A., Grigorjeva M.E. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: *Ludmila A. Lyapina*, Doctor of Biological Sciences, Principal Researcher Laboratory of blood coagulation "Lomonosov Moscow State University", Leninskie Gory, 1, p. 12, 119234, Moscow, e-mail: lyapinal@mail.ru

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors:

Lyapina L.A., <https://orcid.org/0000-0002-8983-652X>

Grigorjeva M.E., <https://orcid.org/0000-0003-0469-3943>

Received 31.03.2022

Accepted 14.06.2022

Published 12.09.2022

Введение

Известно, что естественный гликозаминогликан крови гепарин проявляет антикоагулянтную активность вследствие блокады свертывающей активности тромбина, фактора X и других факторов свертывания крови [1, 2]. Особый интерес представляет низкомолекулярный гепарин (НМГ), который обладает рядом преимуществ перед нефракционированным гепарином (НФГ), а именно безопасностью применения, отсутствием необходимости проведения ла-

бораторного контроля и отсутствием побочных геморрагических эффектов [3]. Гепарин в организме в свободном виде не встречается, так как благодаря наличию электроотрицательного заряда взаимодействует через свои сульфатные и карбоксильные группы с различными аминокислотами, пептидами, белками с образованием комплексных соединений [4–6]. Имеются различия и в действии НФГ и НМГ [7]. До настоящего времени нет четких данных о механизмах действия комплексов НМГ с различными агентами [8]. Известно, что такое средство, как

аспирин участвует в снижении агрегации тромбоцитов за счет уменьшения образования тромбосана А2 и ингибирования циклооксигеназы [9, 10]. В сравнительном исследовании НМГ и аспирина, применяемых для профилактики тромбоза глубоких вен (ТГВ) в ортопедической хирургии, показано, что НМГ более эффективен, чем аспирин, для пациентов с ТГВ после хирургического вмешательства [11]. Отмечено, что локально эффективный гепариновый комплекс с ацетилсалициловой кислотой и тикагрелором (антагонистом P2Y₁₂ рецепторов) в эксперименте значительно снижает тромбообразование в венозных трансплантатах. Местное введение этих препаратов может предотвращать развитие тромбоза в венозных трансплантатах [12]. Учитывая, что аспирин способен участвовать в комплексообразовании с гепарином, можно предположить, что он оказывает защитный антитромботический эффект на процессы как тромбоцитарного, так и плазменного гемостаза.

Цель работы – создание соединения НМГ с аспирином и исследование его влияния на агрегацию тромбоцитов, антикоагулянтные, фибринолитические свойства крови и степень полимеризации фибрина при атравматичном пероральном его применении у здоровых крыс и животных с гиперкоагуляцией.

Методика

В работе использовали препараты НМГ (Logiparin) (Дания, «Лео Фармасьютикал Продактс Лтд А/С») и аспирин-экспресс («Вауег» Германия). Готовили комплексный препарат из НМГ и аспирина в весовом соотношении, равном 1: 6.

В условиях *in vitro* при концентрации комплекса 10⁻³ мг/мл определяли антикоагулянтную (по тестам АЧТВ и тромбиновому времени – ТВ), фибринолитическую суммарную активность (СФА), активность тканевого активатора плазминогена (ТАП) и фибриндеполимеризационную (ФДПА) активность [13].

Эксперимент выполнен на 60 белых крысах-самцах с массой тела 180-200 г. Животных содержали в пластиковых клетках в стандартных лабораторных условиях при искусственном освещении (12 ч/12 ч – светлое/темное время), принудительной 12-кратной в час вентиляции, температуре 22-26 °С и относительной влажности 50-70%. Проведение работ осуществлялось в соответствии с приказом Минздрава России №199 от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и в соответствии с регламентом декларации ЕС от 2010 г. об использовании лабораторных животных. Исследование одобрено Этической комиссией университета.

Проведено 2 серии экспериментов: на здоровых животных и крысах, у которых моделировали гиперкоагуляцию 3-х-кратным (через каждые 30 мин) внутривенным введением тканевого тромбопластина 30 мг/кг (в объеме 0.6 мл на 200 г) массы тела.

В I серии животные были разделены на 4 группы: 1-я группа (Опыт) – введение КГА (1 мг/кг массы тела), 2-я группа (Контроль 1) – введение гепарина, 3-я (Контроль 2) – введение аспирина, 4-я группа (Контроль 3) – введение 0.85%-го NaCl. Гепарин и аспирин применяли в дозах, эквивалентных их содержанию в комплексе. Все препараты вводили перорально в течение 7 сут ежедневно через каждые 24 ч. Взятие крови осуществляли из *v. jugularis* через 20 ч после завершающего введения препаратов с использованием в качестве консерванта 3.8%-го цитрата натрия.

Во II серии (моделирование состояния гиперкоагуляции) использовали те же группы животных. Через 20 ч после завершающего перорального введения соответствующих препаратов крысам трижды с промежутками в 30 мин вводили тканевой тромбопластин (30 мг/кг) и через 60 мин после завершающего введения забирали кровь для исследования.

В плазме крови определяли антикоагулянтную активность по тестам АЧТВ и тромбинового времени (ТВ) на анализаторе АСКа 201-Астра; ферментативную (ФФ) и суммарную фибринолитическую (СФА) и фибриндеполимеризационную (ФДПА) активность, активность тканевого активатора плазминогена (ТАП), агрегацию тромбоцитов с использованием в качестве индуктора АДФ на анализаторе Биола [13, 14]. Статистический анализ данных осуществляли, используя пакет статистических программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США). Для полярного сравнения независимых групп применяли непараметрический критерий Манна Уитни. Полученные данные представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

Результаты

Нами установлено, что в условиях *in vitro* при концентрации в системе 10⁻³ мг/мл КГА проявляет антикоагулянтный эффект (по тесту АЧТВ увеличение на 30%, по тесту ТВ – на 10%), в то время как из составных частей только НМГ в эквивалентной концентрации повышает антикоагулянтную активность на 20% по тесту АЧТВ. Агрегация тромбоцитов статистически значимо снижается (на 16.4%) как после добавления в систему комплекса, так и после применения эквивалентной концентрации аспирина (табл. 1).

Комплекс КГА оказывает также и фибринолитический эффект. Так, СФА повышалась на 25%, ФФ на 17% после воздействия комплекса, при этом гепарин и аспирин повышали только СФА на 18-23%. Следует отметить, что КГА препятствует полимеризации фибрина, усиливая ФДПА на 50%. Из составных частей комплекса только аспирин оказывает аналогичный эффект, повышая ФДПА на 32% по сравнению с контролем.

По тесту ТВ у КГА и гепарина выявлена тенденция к ингибированию активности тромбина. Следовательно, в условиях *in vitro* КГА по антикоагулянтной активности отличался только от аспирина, обладая в то же время более выраженным эффектом по сравнению с гепарином. Заметные отличия действия комплекса от составляющих его частей наблюдались по ФДПА и ФФ.

В экспериментах на животных установлено, что при многократном в течение 7 сут пероральном введении крысам комплекса ГА (1 мг/кг ежедневно) и его составных частей в эквивалентных дозах через 20 ч после завершающего введения антикоагулянтная активность возрастала под влиянием КГА на 20% и 16% (АЧТВ и ТВ соответственно). Как комплекс, так и аспирин в одинаковой степени при пероральном применении снижали агрегацию тромбоцитов на 16-17%. Такой же вывод можно сделать по поводу влияния комплекса и аспирина на фибринолитический процесс, отмечая наиболее значительный эффект после применения комплексного соединения КГА (табл. 2).

Таким образом, комплекс КГА при пероральном поступлении в организм крыс способствовал повышению противосвертывающих свойств плазмы крови, о чем свидетельствовали статистически значимое увеличение антикоагулянтной, СФА и ФДПА активности, а также снижение агрегации тромбоцитов, в то время как аспирин в эквивалентной дозе значимо повышал только СФА и ФДПА, но в меньшей степени, чем комплекс, и подавлял агрегацию тромбоцитов.

В последующих экспериментах моделировали у крыс состояние гиперкоагуляции путем 3-х-кратного внутривенного введения тромбопластина (30 мг/кг) на фоне предварительного многократного (в течение 7 сут) перорального применения КГА (1 мг/кг) и его составных частей в эквивалентных дозах, т.е. исследовалось профилактическое действие комплекса ГА на процессы тромбообразования. Следует отметить, что через 60 мин после последнего введения тромбопластина резко и статистически значимо повышается свертываемость крови по данным АЧТВ, АТ и СФА.

Комплекс ГА оказывает профилактический эффект при тромбообразовании, так как его предварительное введение до моделирования тромбообразования (введение тканевого тромбопластина) способствовало значимому восстановлению параметров гемостаза до нормального уровня. Следует обратить внимание, что показатели фибринолиза (СФА и ФДПА) в этих условиях значимо превышали нормаль-

Таблица 1/ Table 1

Показатели гемостаза после действия комплекса КГА в дозе 10⁻³ мг/мл в плазме крови здоровых крыс *in vitro*, (M±m)
Hemostasis indices after the action of complex GA at a dose of 10⁻³ mg/ml in blood plasma of healthy rats *in vitro*, (M±m)

Показатели гемостаза Hemostasis indicators	Исследуемые препараты Investigational drugs			
	КГА	Гепарин heparin	Аспирин aspirin	0.85% NaCl control
АЧТВ, %	130 ± 3.3**	120 ± 2.7**	103 ± 2.2	100 ± 1.0
ТВ, %	110 ± 0.8*	109 ± 1.0*	102 ± 2.2	100 ± 0.9
АТ, %	83.6 ± 1.7**	100 ± 1.1	83.6 ± 1.7**	100 ± 1.0
СФА, %	125 ± 7.6**	118 ± 2.0**	123 ± 1.9**	100 ± 1.8
ФФ, %	117 ± 1.1**	101 ± 3.0	109 ± 5.2	100 ± 1.1
ФДПА, %	150 ± 1.1**	110 ± 2.5*	132 ± 4.1**	100 ± 2.8

Примечание. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ по сравнению с соответствующими пробами с NaCl (контроль). КГА – комплекс гепарин-аспирин; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; ТВ – тромбиновое время; АТ – агрегация тромбоцитов; СФА – суммарная фибринолитическая активность; ФФ – ферментативная фибринолитическая активность, ФДПА – фибриндеполимеризационная активность.
Note. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ compared to the corresponding samples with NaCl (control). КГА – heparin-aspirin complex; АЧТВ – activated partial thromboplastin time; ТВ – thrombin time; АТ – platelet aggregation; СФА – total fibrinolytic activity; ФФ – enzymatic fibrinolytic activity; ФДПА – fibrin – depolymerization activity.

ные значения, в то время как гепарин и аспирин таким действием не обладали (табл. 3).

Анализируя полученные нами результаты, необходимо отметить значительный положительный эффект в отношении предотвращения тромбообразования в кровотоке пероральным многократным введением комплекса гепарин-аспирин. Об этом свидетельствуют результаты настоящего исследования, когда только при взаимодействии гепарина с аспирином возникало новое соединение, обладающее одновременно антикоагулянтным, антиагрегационным в отношении тромбоцитов, фибринолитическим и фибриндеполимеризационным действием.

Полученные данные согласуются с показателями по другим комплексам гепарина с аминокислотами, например, с глутаминовой кислотой или глицином [6]. Механизм антикоагулянтного действия исследуемого комплексного соединения гепарина с аспирином обусловлен блокирующим влиянием на факторы внутреннего пути свертывания крови и небольшим ингибированием тромбина, что показано в настоящем исследовании в условиях *in vitro* при определении АЧТВ и ТВ. Что касается влияния комплекса на процессы фибринолиза, то он проявляет и ферментативную фибринолитическую, и фибриндеполимеризационную активность, препятствуя процессам

Таблица 2/ Table 2

Параметры гемостаза через 20 ч после 7-суточного перорального введения здоровым крысам комплекса ГА в дозе 1 мг/кг массы тела крыс и его составных частей в эквивалентных дозах, (M±m)

Hemostasis parameters 20 hours after 7-day oral administration to healthy rats of the HA complex at a dose of 1 mg/kg of rat body weight and its components in equivalent doses, (M ± m)

Показатели гемостаза Hemostasis indicators	Исследуемые препараты Investigational drugs			
	КГА	Гепарин heparin	Аспирин aspirin	0.85% NaCl control
АЧТВ, %	120 ± 3.0**	105 ± 1.0*	100 ± 2.2	100 ± 1.0
ТВ, %	116 ± 2.0**	108 ± 1.0*	102 ± 1.7	100 ± 0.9
АТ, %	84 ± 1.0**	100 ± 1.1	83 ± 1.7*	100 ± 1.0
СФА, %	130 ± 7.6**	108 ± 2.0	123 ± 1.9**	100 ± 1.8
ФФ, %	112 ± 1.1*	101 ± 3.0	109 ± 5.2	100 ± 1.1
ФДПА, %	145 ± 1.1**	110 ± 2.5*	132 ± 4.1**	100 ± 2.8

Примечание. Примечания те же, что в табл. 1.

Note. The notes are the same as in Table 1.

Таблица 3/ Table 3

Параметры гемостаза через 60 мин после трехкратного внутривенного введения крысам тканевого тромбoplastина (30 мг/кг) на фоне 7-суточного перорального введения КГА (1 мг/кг) и его составных частей в эквивалентном количестве, (M±m)

Hemostasis parameters 60 min after threefold intravenous administration of tissue thromboplastin (30 mg/kg) to rats on the background of 7-day oral administration of CGA (1 mg/kg) and its components in equivalent amounts, (M±m)

Параметры гемостаза Hemostasis indicators	Исследуемые препараты (+ тромбoplastин) Study drugs (+ thromboplastin)			
	КГА	Гепарин heparin	Аспирин aspirin	0.85% NaCl control
АЧТВ, %	110 ± 1.0*	88 ± 2.0	100 ± 2.2	79 ± 3.7**
АТ, %	100 ± 1.0	88 ± 1.1	101 ± 1.3	119 ± 1.0**
СФА, %	112 ± 3.6*	94 ± 2.0	99 ± 1.9	86 ± 2.8*
ФФ, %	100 ± 1.1	101 ± 2.0	93 ± 3.2	90 ± 1.1
ФДПА, %	118 ± 1.1**	98 ± 1.5	100 ± 2.1*	95 ± 2.8

Примечание. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ по сравнению с параметрами у здоровых крыс, принятыми за 100%. Остальные обозначения те же, что в табл. 1.

Note. * – $p < 0.05$, ** – $p < 0.01$ compared with the parameters in healthy rats taken as 100%. The other designations are the same as in table 1.

полимеризации фибрина, в отличие от эквивалентной дозы гепарина, входящей в его состав.

В данной работе впервые показано, что в соединении с гепарином аспирин оказывает противосвертывающие эффекты в организме, препятствуя процессам полимеризации фибрина (по тесту ФДПА). Гепарин, как это следует из данных литературы [3], при пероральном введении не проявляет антикоагулянтного действия, так как разрушается ферментами желудочно-кишечного тракта. Однако, доказывается, что в комплексных соединениях с аминокислотами и некоторыми низкомолекулярными веществами гепарин приобретает устойчивость против протеолитических ферментов [6]. Кроме того, установлено, что аспирин сам по себе или в комбинации с гепарином [15] приводит к значительному увеличению лизиса тромба и является синергичным при применении низкочастотного ультразвука, что может иметь важное значение для возможного использования низкочастотного ультразвука в алгоритмах лечения острых коронарных синдромов [16].

Согласно полученным в настоящем исследовании результатам, в комплексе гепарин-аспирин сочетаются свойства как антикоагулянта гепарина, так и антиагреганта аспирина, одновременно влияющего на фибринолиз крови и полимеризацию фибрина.

Таким образом, поскольку комплекс низкомолекулярного гепарина с аспирином оказывал выраженные противосвертывающие эффекты на систему гемостаза, защищая организм животных от фибрино- и тромбообразования в кровотоке, то он является перспективным средством от тромбозов, что требует дальнейшего детального изучения этих процессов.

Выводы:

1. Создано комплексное соединение гепарина с аспирином, обладающее в условиях *in vitro* антикоагулянтной, антиагрегационной в отношении тромбоцитов и фибриндеполимеризационной активностью.

2. Пероральное семикратное введение комплекса гепарин-аспирин здоровым животным (крысам) приводило через 20 ч после завершающего введения к антикоагулянтным, фибринолитическим и антитромбоцитарным эффектам в кровотоке крыс.

3. В условиях моделирования гиперкоагуляции у крыс путем введения тромбопластина предварительно вводимый комплекс гепарин-аспирин проявляет защитное профилактическое действие, восстанавливая нарушенные регуляторные взаимоотношения свертывающей и противосвертывающей систем организма, препятствуя процессам фибрино- и тромбообразования.

Литература

(п.п. 1; 2; 4; 5; 7–12; 15; 16 см. References)

3. Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.В. и др. *Методы определения активности гепарина: учебно-методическое пособие*. М.; ГБОУ ДПО РМАПО; 2015.
6. Николаева Л.С., Ляпина Л.А. *Метод создания новых высокоактивных антикоагулянтов крови на основе термодинамических моделей химических равновесий и коагуляционного анализа in vivo и in vitro*. М.; КИМ Л.А. Alicegroup; 2018.
13. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Шубина Т.А. *Теоретические и практические вопросы изучения функционального состояния противосвертывающей системы крови*. Москва; ООО Адвансед Солюшнз; 2012.
14. Баркаган З.С., Момот А.П. *Диагностика и контролируемая терапия системы гемостаза*. М.; Ньюдиамед; 2008.

References

1. Onishi A., St Ange K., Dordick J.S., Linhardt R.J. Heparin and anticoagulation. *Front. Biosci. (Landmark Ed)*. 2016; 1(21): 1372–92.
2. Stief T.W. Inhibition of thrombin in plasma by heparin or arginine. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2007; 13(2): 146–53.
3. Berkovsky A.L., Sergeeva E.V., Suvorov A.V., et al. *Methods for determining the activity of heparin: an educational and methodological manual*. [Metody opredeleniya aktivnosti geparina; uchebno-metodicheskoe posobie]. Moscow; GBOU DPO RMAPO; 2015. (In Russian)
4. Gray E., Hogwood J., Mulloy B. The anticoagulant and antithrombotic mechanisms of heparin. *Handb Exp Pharmacol*. 2012; 207: 43–61.
5. Bertini S., Fareed J., Madaschi L., Risi G., Torri G., Naggi A. Characterization of PF4-Heparin Complexes by Photon Correlation Spectroscopy and Zeta Potential. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2017; 23(7): 725–34.
6. Nikolaeva L.S., Lyapina L.A. *A method for creating new highly active blood anticoagulants based on thermodynamic models of chemical equilibria and coagulation analysis in vivo and in vitro*. [Metod sozdaniya novikh visokoaktivnykh antikoagulantov krvi na osnove termodinamicheskikh modeley khimicheskikh ravnovesiy I analiza koagulazii in vitro i in vivo]. Moscow; KIM L.A. Alicegroup; 2019. (in Russian)
7. Oliynyk O., Barg W., Slifirczyk A., Oliynyk Y., Dubrov S., Gurianov V., Rorat M. Comparison of the Effect of Unfractionated Heparin and Enoxaparin Sodium at Different Doses on the Course of COVID-19-Associated Coagulopathy. *Life (Basel)*. 2021; 11(10): 1032.
8. Robertson L., Jones L.E. Fixed dose subcutaneous low molecular weight heparins versus adjusted dose unfractionated heparin for the initial treatment of venous thromboembolism. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017; 2(2): CD001100.
9. Perier D.M., Seret D.G., Huang D.F., Dillinger D.J., Henry P.P., Drouet P.L., Benamer D.H. Resistance à l'aspirine: l'ennemi de mon ami est mon ennemi. *Ann. Cardiol. Angeiol. (Paris)*. 2021; 70(6): 401–09.
10. Fernandez-Moreno M.C., Navas-Alcantara M.S., Jimenez-Gonzalo F. Switching from aspirin to clopidogrel in patients with aspirin resistance after an ischemic stroke. Is it a good solution? *Eur. J. Intern. Med.* 2014; 25(3): e40–e41.
11. Chen B., Hu N. Low molecular weight heparin and aspirin for prevention of deep vein thrombosis after orthopaedic surgery: a systematic review and meta-analysis. *Thromb. Thrombolysis. J.* 2021; 52(2): 553–59.

12. Akşit E., Kurt T., Büyük B., Çokkalender Ö. Drug-eluting Vein Graft with Acetylsalicylic Acid-Ticagrelor-Unfractionated Heparin Complex Inhibits Early Graft. *Thrombosis. Balkan. Med. J.* 2020; 37(5): 269-75.
13. Lyapina L.A., Grigorieva M.E., Obergan T.Yu., Shubina T.A. *Theoretical and practical issues of studying the functional state of the anti-coagulation system of the blood. [Teoreticheskie i prakticheskie problemi isucheniya funktsionalnogo sostoaniya protivosvertivauchei sistemi krovi]*. Moscow; OOO Advansed Solutions; 2012. (in Russian)
14. Barkagan Z.S., Momot A.P. *Diagnostics and controlled therapy of the hemostatic system. [Diagnostika i kontroliruemaya terapiya sistemy gemostaza]*. Moscow; Newdiamed; 2008. (in Russian)
15. Meyer Samama M. The new antithrombotic agents. *Presse Med.* 2005; 34(18): 1309-14.
16. Atar S., Neuman Y., Miyamoto T., Chen M., Birnbaum Y., Luo H., et al. Synergism of aspirin and heparin with a low-frequency non-invasive ultrasound system for augmentation of in-vitro clot lysis. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2003; 15(3): 165-69.

Сведения об авторах:

Сороколетов Сергей Михайлович, доктор мед. наук, проф., зам. гл. врача по мед. части (по терапевтической помощи), ГБУЗ ГКБ им. С.П. Боткина ДЗМ, действительный член Академии национальной безопасности, кардиолог, терапевт;

Ляпина Людмила Анисимовна, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. защитных систем крови им. проф.

Б.А. Кудряшова, каф. физиологии человека и животных биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова;

Григорьева Марина Евгеньевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. защитных систем крови им.

проф. Б.А. Кудряшова, каф. физиологии человека и животных биологического факультета МГУ.