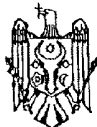




MD 2473 G2 2004.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) **2473** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) Int. Cl.⁷: A 61 B 35/80;
A 61 P 9/06

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2003 0037 (22) Data depozit: 2003.01.31	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2004.06.30, BOPI nr. 6/2004
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE CARDIOLOGIE AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (72) Inventatori: POPOVICI Mihail, MD; COBET Valeriu, MD; RUDIC Valeriu, MD; MALCOCI Anatol, MD; ROBU Alexandru, MD; TODIRAȘ Mihail, MD; POPOVICI Ion, MD; MORARU Ion, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE CARDIOLOGIE AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD	

(54) Metodă de corecție a variabilității ritmului cardiac

(57) Rezumat:

Invenția se referă la medicină, în special la cardiologie.

Esența metodei constă în administrarea preparatului pe bază de extract din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 în

doză de 1,05 mg/kilocorp cu viteza de 0,07 mg/kilocorp/min în calitate de remediu cardiotrop.
Revendicări: 1

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în special la cardiologie.

Variabilitatea ritmului cardiac (VRC) este o caracteristică funcțională a inimii, care ține de evaluarea electrofiziologică a abilității de automatism al cordului. Reglarea și controlul automatismului cardiac este prerogativa sistemului nervos autonom (vegetativ), care în fond determină și capacitatea adaptării urgente a nodului sinoatrial la diferite solicitări intra- și extracardiace. Totodată, perturbațiile controlului vegetativ, manifestate prin supraactivarea influențelor simpatice sau parasimpatice sau dezechilibrul lor dinamic (distonie neurocirculatorie ca expresie clinică) induc afectarea VRC și facilitează acțiunea aritmogenă a diferitelor noxe endogene și exogene. Ori, aceste tulburări pot cauza de sine stătător un fon aritmogen al cordului, conducând ulterior la apariția aritmiilor, în primul rând, a extrasistoliei, chiar în absența unor alterări notabile ale miocardului.

Deseori afectarea VRC evoluată pe un fundal de supraactivare a tonusului simpatic este asociată cu dereglări funcționale și metabolice miocardice, cum ar fi spasmul coronarian și depleția energetică.

Este cunoscută metoda de corecție a variabilității ritmului cardiac care include administrarea preparatului cardiotrop (taurina) [1].

Dezavantajul metodei date constă în aceea că ea nu asigură o corecție stabilă a variabilității ritmului cardiac.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în lărgirea arsenalului de metode care pot asigura o corecție stabilă a variabilității ritmului cardiac.

Esența metodei constă în administrarea preparatului pe bază de extract din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 în doză de 1,05 mg/kilocorp cu viteza de 0,07 mg/kilocorp/min în calitate de remediu cardiotrop.

Rezultatul obținut constă în lărgirea arsenalului de metode care pot asigura o corecție stabilă a variabilității ritmului cardiac.

Experimentele s-au efectuat pe șobolani albi. VRC a fost evaluată cu ajutorul plăcii de achiziție Opti-420, coaptată la senzorul pletismometric plasat pe coada șobolanului și conectată la calculator. Printr-un program special destinat acestui studiu s-au înregistrat în timp real valori cifrice și material ilustrativ. Indicii de bază au fost: Moda (Mo) – durata ciclului cardiac mai des întâlnit într-un număr concret de cicluri cardiace (noi am folosit diapazonul repetat de 150 cicluri); Amplitudinea modei (AMo) – incidența procentuală a Mo în careul de 150 cicluri; Indicele devierilor variaționale (IDV) – devierile maxime în secunde în raport cu valoarea Mo; Indicele vegetativ al ritmului cardiac (IVR) – calculat prin formula $1/MoIDV$; Indicele reglării adecvate a ritmului (IRA) – apreciat prin raportul AMo/Mo ; Indicele Baevski – estimat ca produsul $AMox0,5IVR$; Indicele echilibrului vegetativ (IEV) – evaluat prin formula AMo/IDV ; Indicele aritmogen (IA) – calculat prin raportul Mo/IDV (micșorarea lui semnifică creșterea fonului aritmogen, iar valorile dedublate și mai mici sunt acompaniate de apariția extrasistolelor, documentate electrocardiografic).

Pentru a induce tulburarea RC am utilizat fluorura de sodiu, care în anumite doze cumulative, atinse la infuzie lentă, conduce la disfuncția controlului vegetativ asupra cordului. Fluorul (F), prin inhibiția colinesterazei activează tonusul parasimpatic, iar prin activarea enzimei de conversie angiotensinică stimulează formarea Ang II care, după cum se știe, cauzează activarea tonusului simpatic. Deci este un model concludent de dezechilibrare vegetativă. Clearensul fluorului nu este rapid, ceea ce oferă posibilitatea de a estima în dinamică gradul de restabilire a RC sau eficiența de corecție a preparatelor explorate. Pentru a reproduce o tulburare a RC cât mai aproape de condițiile naturale este necesar de a realiza o pantă joasă de creștere a concentrației de F în organism, evitând totodată alterările proprii ale cardiomiocitelor antrenate în generarea și propagarea potențialului de acțiune. În acest scop am împlântat în abdomenul șobolanului la adâncimea de 2 mm o canulă din titan, fixată exterior prin bandaj special. Folosirea ei este utilă, de regulă, după circa o săptămână, timp necesar pentru vindecarea rănii, care zilnic se prelucrează aseptice. Determinarea dozei optime de NaF în modelarea tulburării RC (doză hotărâtoare între dereglarea variabilității și apariția aritmiei propriu-zise) am efectuat-o pe fundalul estimării valorii IA, diminuarea căruia sub 40% din nivelul control este asociată cu apariția aritmiilor, în primul rând, a extrasistoliei.

Șobolanilor aflați în narcroză li s-au administrat prin canula de titan timp de 15 min 3 doze de NaF (fluorură de sodiu): 0,5; 1,0 și 1,5 mg/kilocorp/min. Modificarea maximă a indicilor VRC în aceste modele experimentale este constatată la minutul 20 după oprirea infuziei (sau minutul 35 de la începutul acțiunii fluorului). Valorile indicelui aritmogen în acest timp corespunzătoare dozelor de NaF administrate sunt prezentate în tab. 1.

Tabelul 1

Valorile indicelui aritmogen la minutul 20 de la oprirea infuziei NaF

Inițial, până la	NaF în doză de 0,5	NaF în doză de 1,0	NaF în doză de 1,0
------------------	--------------------	--------------------	--------------------

MD 2473 G2 2004.06.30

4

infuzie	mg/kilocorp/min (n=9)	mg/ kilocorp/min (n=9)	mg/ kilocorp/min (n=9)
4,4±0,3	2,74±0,13	1,81±0,08	1,51±0,08

La doza de 0,5 mg/ kilocorp/min NAF, valoarea IA a constituit 62% din valoarea inițială, iar la doza de 1,5 mg/kilocorp/min – circa 34%. Reducerea cu 2/3 a valorii indicelui aritmogen în ultimul caz indică o destabilizare electrofiziologică profundă, care într-adevăr a fost asociată electrocardiografic cu extrasistolia, deci doza de hotar este 1,0 mg/ kilocorp/min, doză care apropie la maxim posibilitățile experimentului de scopul indicat, și această doză de NaF se va utiliza ulterior în testarea efectului de corecție al extractului din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02.

Pentru a testa doza de corecție optimă a preparatului Bio-R am evaluat acțiunea lui asupra indicelui aritmogen (pe fundalul acțiunii fluorului) în diapazonul 0,03...0,11 mg/ kilocorp/min, utilizând 5 gradații de doză (0,03; 0,05; 0,07; 0,09; 0,11) și luând în considerație faptul că Bio-R este un preparat biologic activ. Extractul din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 s-a infuzat timp de 15 min în dozele menționate îndată după sfârșitul administrării NaF în doza de 1,0 mg/ kilocorp/min. Rezultatele obținute la minutul 20 de la oprirea infuziei NaF sau la minutul 5 de la oprirea infuziei Bio-R sunt prezentate în tab. 2.

Tabelul 2

Valorile indicelui aritmogen la acțiunea extractului din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 pe fundalul administrării F

Inițial	NaF n=9	extract din biomasa tulpinii de cianobacterii <i>Spirulina platensis</i> CNM – CB –02 0,03 n=9	extract din biomasa tulpinii de cianobacterii <i>Spirulina platensis</i> CNM – CB –02 0,05 n=8	extract din biomasa tulpinii de cianobacterii <i>Spirulina platensis</i> CNM – CB –02 0,07 n=9	extract din biomasa tulpinii de cianobacterii <i>Spirulina platensis</i> CNM – CB –02 0,09 n=9	extract din biomasa tulpinii de cianobacterii <i>Spirulina platensis</i> CNM – CB –02 0,11 n=8
4,4±0,3	1,81±0,08 p<0,001	2,40±0,13 +33% p<0,01	2,90±0,17 +60% p<0,01	3,50±0,19 +93% p<0,05	3,10±0,21 +71% p<0,01	2,60±0,14 +44% p<0,001

Legendă: p – valoarea semnificativă comparativ cu nivelul inițial exprimat în devieri procentuale calculate în raport cu valoarea IA documentată la infuzia NaF.

Așadar, analiza tabelului certifică că cel mai înalt grad de restabilire a indicelui aritmogen se datorează acțiunii preparatului a extractului din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 în doza de 0,07 mg/ kilocorp/min. Această doză este utilizată de noi în experimentele următoare.

Taurina (T), în calitate de cea mai apropiată soluție, s-a administrat timp de 15 min în doza de 3,5 mg/kilocorp/min, luând în considerație faptul că doza solitară de administrație parenterală a acestui aminoacid, după datele din literatură și experiența noastră, este mai frecvent utilizată ca fiind de 50 mg/ kilocorp.

Atât taurina, cât și extractul din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02, s-au infuzionat 15 min în dozele indicate în următoarele circumstanțe: îndată după oprirea infuziei NaF sau la minutul 20 de la oprirea administrării NaF, când expresiile de tulburare a VRC induse de fluor sunt maxime.

Valorile indicilor VRC în aceste două experimente sunt prezentate în tabelele 3 și 4 respectiv.

Tabelul 3

Valorile indicilor VRC la administrarea timp de 15 min a taurinei (3,5 mg/ kilocorp/min) și extractului din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 (0,07 mg/ kilocorp/min) îndată după oprirea infuziei NaF, documentate la minutul 20

Indici	Inițial	NaF	NaF+T	NaF+ extract din biomasa tulpinii de cianobacterii
--------	---------	-----	-------	--

MD 2473 G2 2004.06.30

5

				<i>Spirulina platensis</i> CNM – CB –02
Mo, s	0,44±0,04	0,98±0,09*	0,62±0,05*	0,48±0,04 &
AMo, %	81±5	26±2*	53±4* &	75±5 &
IDV, s	0,10±0,01	0,54±0,03*	0,29±0,02* &	0,12±0,01 &
IVR, 1/s ²	22,7±1,5	1,90±0,18*	5,56±0,40* &	17,40±1,30* &
IRA, u.c.	185±16	27±2*	85±6* &	156±13 &
I.Baevschi, u.c.	920±77	25±2*	147±12* &	652±50* &
IEV, u.c.	810±67	48±4*	183±16* &	625±48* &
IA	4,4±0,3	1,81±0,08*	2,70±0,18* &	3,50±0,19* &

Legendă: * – semnificativ comparativ cu valoarea inițială;

& – semnificativ comparativ cu indicele VRC la administrarea numai de NaF.

5 După cum se vede din tab. 3, administrarea timp de 15 min a NaF în doză de 3,5 mg/ kilocorp/min afectează concludent VRC, care poate fi semnificativ corectată prin taurină și, îndeosebi, prin extractul din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02, când administrarea lor timp de 15 min se realizează îndată după sfârșitul infuziei fluorului. Datele documentate la minutul 20 de la oprirea infuziei NaF mărturisesc despre o valoare notabil joasă a AMo (1/3 din valoarea inițială), în cazul acțiunii solitare a fluorului. Acest fenomen indică o destabilizare electrofiziologică marcată a cordului, confirmată și prin creșterea multiplă a IDV. La acțiunea taurinei micșorarea AMo a fost de două ori mai mică, iar la acțiunea Bio-R acest indice s-a depreciat semnificativ față de valoarea inițială. Merită atenție prin semnificația sa de pronosticare a aritmogenității valoarea IA, care la acțiunea fluorului a scăzut până la circa 41% din nivelul inițial. Spre comparație: la administrarea T diminuarea lui a fost constatată în medie până la 61%, iar la infuzia Bio-R nu mai jos de 79%. Indicele echilibrului vegetativ a suportat o scădere dramatică la acțiunea fluorului: de la 810±67 până la 48±4 u.c., fapt ce subliniază prezența unui control vegetativ defectuos sever asupra performanțelor electrofiziologice cardiace. În corecția cu T micșorarea IEF a fost de 4 ori mai mică, iar în corecția cu extractul din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 de circa 12 ori mai mică. Practic în așa manieră au evoluat dinamic și valorile indicelui Baevschi și indicele de reglare adecvată a VRC.

20 În a doua fază a experimentului taurina și extractul din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 s-au administrat 15 min în aceleași doze acumulative, începând cu minutul 20 de la oprirea infuziei NaF, deci când modificările indicilor VRC sunt maxime, datele fiind documentate după 10 min de la oprirea infuziei preparatelor sau după 45 min (20+15+10) de la oprirea infuziei NaF (tab. 4).

25

Tabelul 4

30 Valorile indicilor VRC la administrarea timp de 15 min a taurinei (3,5 mg/kilocorp/min) și extractul din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 (0,07 mg/kilocorp/min) începând cu minutul 20 de la oprirea infuziei NaF, documentate la minutul 45

Indici	Inițial	NaF	NaF+T	NaF+ extract din biomasa tulpinii de cianobacterii <i>Spirulina platensis</i> CNM – CB –02
Mo, s	0,44±0,04	0,68±0,05*	0,61±0,05* &	0,50±0,04 &
AMo, %	81±5	42±4*	57±4* &	73±5 &
IDV, s	0,10±0,01	0,28±0,03*	0,21±0,01* &	0,11±0,01 &
IVR, 1/s ²	22,7±1,5	5,3±0,4*	7,8±0,5* &	13,3±1,3* &
IRA, u.c.	185±16	62±5*	93±7* &	146±13 &
I.Baevschi, u.c.	920±77	112±9*	223±117* &	490±42* &
IEV, u.c.	810±67	150±11*	271±19* &	486±40* &
IA	4,40±0,30	2,43±0,11*	2,90±0,16* &	3,30±0,19* &

Legendă: * – semnificativ comparativ cu valoarea inițială

& – semnificativ comparativ cu indicele VRC la administrarea numai de NaF

MD 2473 G2 2004.06.30

6

5 Datele experimentale certifică la min 45 de la oprirea infuziei NaF o restabilire notabilă a indicilor VRC în afara administrării T sau extractul din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB – 02, comparativ cu statusul documentat la minutul 20. Importantă este creșterea cu 60% a AMo și a IA cu circa 1/3. Cu toate acestea, toți parametrii VRC explorați au rămas semnificativ deviați de la valorile inițiale. Această redresare moderată la minutul 45 a performanțelor electrofiziologice poate fi datorată
10 clearensului fluorului și amorsării mecanismelor reparatorii ale eșalonului doi. În acest context este de menționat că și la minutul 90 după oprirea infuziei NaF restabilirea VRC a fost incompletă. Totodată, administrarea T sau Bio-R, chiar în platoul celor mai profunde dereglări ale VRC, a condus la o ameliorare mai concludentă, superior inerentă preparatului de origine algală.

15 Valoarea IA a crescut până la $3,3 \pm 0,19$ contra $2,9 \pm 0,16$ la administrarea T sau $2,43 \pm 0,11$ fără medicație. AMo a atins un nivel comparabil cu cel inițial (73 ± 5 contra 81 ± 5 , discrepanță nesemnificativă), beneficiu asociat și de normalizarea IDV (la administrarea T acești indici au rămas totuși veritabil deviați de nivelul inițial). IEV, indicele Baevski, ca și IRA, au crescut practic de 2 ori mai mult decât în lotul cu T. La această conotație este de menționat că la minutul 90 tulburările RC induse de acțiunea F totalmente
20 s-au restabilit prin administrarea Bio-R, gradul căreia la administrarea taurinei a rămas totuși mai inferior. Așadar, preparatul Bio-R administrat în doza 0,07 mg/kilocorp/min (doza cumulativă într-un minut - 1,05 mg/kilocorp) conduce la o corecție concludentă a tulburărilor variabilității ritmului cardiac induse de fluor, net superioară modulatorului natural al activității cardiace, taurinei.

20

MD 2473 G2 2004.06.30

7

(57) Revendicare:

- 5 Metodă de corecție a variabilității ritmului cardiac care include administrarea preparatului cardiotrop, **caracterizată prin aceea că** în calitate de preparat cardiotrop se administrează extractul din biomasa tulpinii de cianobacterii *Spirulina platensis* CNM – CB –02 în doză de 1,05 mg/kilocorp cu viteza de 0,07 mg/kilocorp/min.

10

(56) Referințe bibliografice:

1. Azuma J. The heart failure research with taurine group. Long-term effect of taurine in congestive heart failure> preliminary report.// In> Taurine in health and diseases. Eds by Huxtable RJ, and Michalk D., New-York, 1994, p. 425...435

Șef Secție:

CIOBAN Aurelia

Examinator:

IUSTIN Viorel

Redactor:

CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2003 0037		
(22) Data depozit: 2003.01.31		
(51) ⁷ : A 61 K 35/80, A 61 P 9/06 Alți indici de clasificare: Titlul : Metodă de tratament al aritmiilor (71) Solicitantul : INSTITUTUL DE CARDIOLOGIE AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD Termeni caracteristici : aritmie, spirulina		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl. (7))		
Au fost consultate cererile de brevet și brevetele MD, EA, SU în perioada 1994-2003, 1995-2003, 1971-2003 conform claselor Int. Cl. ⁷ A 61 K 35/80, A 61 P 9/06		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	RU 2008016, C1 1994.02.28	1
A	MD 545 C2 1996.05.31	1
☐ Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II		☐ Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate
A - document care definește stadiul anterior general		T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria care conține baza invenției
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul)		Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării		2004.02.17
Examinatorul		Iustin Viorel