



MD 2513 F1 2004.08.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 2513⁽¹³⁾ F1
(51) Int. Cl.⁷: A 61 B 5/145

(12) BREVET DE INVENȚIE

| | |
|--|---|
| Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi revocată în termen de 6 luni de la data publicării | |
| <p>(21) Nr. depozit: a 2003 0024 (22) Data depozit: 2003.01.27</p> | <p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2004.08.31, BOPI nr. 8/2004</p> |
| <p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE CARDIOLOGIE AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD</p> <p>(72) Inventatori: POPOVICI Mihail, MD; SÎRBU Sergiu, MD; COBEȚ Valeriu, MD; IVANOV Victoria, MD; POPOVICI Ion, MD; CIOBANU Lucia, MD</p> <p>(73) Titular: INSTITUTUL DE CARDIOLOGIE AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD</p> | |

(54) Metodă de diagnostic precoce al infarctului miocardic acut

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la medicină, în special la cardiologie.

Esența metodei de diagnostic precoce al infarctului miocardic acut constă în determinarea prezenței în serul sanguin a markerului biologic SR-

2
5 Ca²⁺- ATP-azei cu ajutorul anticorpilor monoclonali specifici Anti-Ca²⁺-ATP-azei SERCA 2 Monoclonal ab Clone Nr. 2A7-A1.
Revendicări: 1

10

MD 2513 F1 2004.08.31

MD 2513 F1 2004.08.31

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în special la cardiologie.

Infarctul miocardic acut (IMA) este o sechelă severă a ischemiei miocardului, care afectează serios calitatea vieții și determină superioritatea indicelui mortalității prin alterările ischemice cardiace. Circa 10% din pacienții care se adresează după îngrijiri medicale în baza angorului pectoral suferă de infarct miocardic.

Diagnosticul IMA este o problemă litigioasă a cardiologiei, mai ales în faza precoce de debut a necrozei ischemice (în special, primele 4-6 ore) sau în cazul de o suprafață de infarct intramural prea mică pentru a declanșa niște semne clinice și paraclinice diagnostice evidente. În circa 4...8% cazuri, diagnosticul IMA dezvoltat nu se stabilește. Este revăzută și atitudinea prognostică față de microinfarctul miocardic. Conform consensului între Societatea Europeană a Cardiologilor și Colegiul American al Cardiologilor, orîșicare necroză ischemică a miocardului, indiferent de dimensiunile acesteia, trebuie calificată ca infarct miocardic, având în vedere riscul coronarian real, creat de micronecroză, prin dereglările regionale ale hemostazei și intensificarea trombozei.

Diagnosticul precoce al IMA este foarte important în sensul obținerii unei reperfuzii cât mai timpurii a zonei miocardului afectat prin terapie fibrinolitice și antitrombotice, care de altfel este recomandată anume în primele ore de la debutul IMA.

Există 3 criterii oportune de diagnostic (acceptate de OMS) a IMA:

1. puseu de durere insuportabilă poststernală;
2. modificările corespunzătoare electrocardiografice;
3. creșterea în sânge a concentrației și/sau activității a unor enzime, calificate cu marcheri biochimici de diagnostic.

Fiecare din aceste criterii are valoarea sa diagnostică și gradul respectiv de informativitate, sensibilitate și specificitate.

Durerea post- și parasternală, caracteristică IMA, poate fi constatată și la alte maladii somatice (ulcer gastric, reflux gastroesofagian, pancreatită, neuromiozită, mediastenită etc).

Semnele ECG principale ale IMA sunt, de regulă reprezentate prin:

Supradenivelarea segmentului ST, inversia undei T, apariția tardivă (după 30 zile) a undei Q patologice. Totodată, este de menționat că așa modificări pot asocia și alte patologii cardiace, așa ca, cardiomegalia, pericarditele, miocarditele, supradilatatarea cavitaților cardiace. Sau unda Q patologică apare chiar în faza incipientă de evoluție a IMA, sau unda Q patologică nu va apărea de loc în cadrul infarctului miocardic, în deosebi în cazul unei ischemiei restrictive (așa numitul non-Q infarct).

Testele biochimice au în acest context o pondere diagnostică de elecție și îmbracă în fond evaluarea serică dinamică a aminotransferazelor (ALT și AST), lactatdehidrogenazei (LDH), creatin-fosfokinazei (CK), mioglobinei și a componentelor sistemului troponinic cardiac, troponina T (TnT) și troponina I (TnI) [1].

Dezavantajul utilizării troponimelor constă în faptul, că aceste enzime sunt prezente și în alte multe țesuturi, prin ce specificitatea lor pierde autenticitatea.

Mai mari avantaje, în ce privește valoarea diagnostică, sunt atribuite mioglobinei și CK (izoforma mitocondrială, CK-MB).

Totodată, este de subliniat că odată cu aspectul pozitiv, reprezentat prin faptul că creșterea lor serică este destul de precoce, după 3...5 ore de la debutul alterărilor cardiomiocitare ischemice, redresarea valorilor de concentrație este foarte rapidă: circa 20 ore pentru mioglobină, circa 87 ore pentru CK-MB și 105 ore în medie pentru CK, fapt ce evident nu satisface problema diagnosticului AMI în contextul adresării tardive a pacientului (tabl.1). Datele tabelului sunt preluate din ghidul pentru medici, aprobat de Ministerul Sănătății al Federației Ruse, 2001.

Tabela 1

Dinamicul evolutiv sanguin al marcherilor infarctului miocardic acut

| Marcher | Timpul creșterii, ore | Timpul creșterii maxime, ore | Timpul redresării, ore |
|------------|-----------------------|------------------------------|------------------------|
| Mioglobină | 3,3 [2,5-4,3] | 6,0 [4-8,5] | 20 [15,5-39] |
| CK | 5 [4,3-8,1] | 16 [11,9-20,5] | 105 [72,6-130] |
| CK-MB | 4 [3,5-5,3] | 14 [11,5-15,6] | 87 [68,8-96,3] |
| Tnt | 5 [3,5-8,1] | 18 [12,8-75] | 172 [147-296,3] |
| TnT | 4,5 [4-6,5] | 19 [12,8-29,8] | 168 [105-168] |

MD 2513 F1 2004.08.31

4

Legendă: în paranteze se indică diapazonul devierilor de la valoarea medie în limitele intervalului statistic.

5 Asociația Americană în Problemele Chimiei Clinice evaluează mioglobina ca cel precoce marker biochimic al IMA, dar cu cea mai mică fereastră diagnostică.

10 Mioglobina reprezintă o proteină intraplasmatică și poate fi sechestrată din miocardiocitele în sânge și în cadrul creșterii permeabilității sarcolemei de origine neischemică, de exemplu, la acțiunea citocinelor proinflamatoare, sau la acțiunea unei ischemii minore ce nu provoacă moartea celulei prin necroză, dar influențează viabilitatea membranei celulare. Prin aceasta iarăși se va diminua specificitatea diagnostică, mai ales că creșterea lor serică poate fi constatată și în alterarea altor organe, în deosebi a musculaturii scheletice.

15 Cele mai recente constatări în careul diagnosticului precoce veritabil al IMA sunt legate de implementarea testului de evaluare serică a troponinelor (Tn). Troponinele reprezintă niște proteine montate în aparatul miofibrilar al cardiomiocitului, atașate pe miofilamentele subțiri. Cu specificitate cardiacă sunt recunoscute numai TnI și TnT, iar TnC după consecvența aminoacidă este identică cu cea scheletică și nu poate fi interesată în diagnosticul IMA.

20 În calitate de cea mai apropiată soluție noi aducem recomandările lansate de Societatea Europeană de Cardiologie și de Comitetului Colegiului American de Cardiologie care constau în determinarea serică a TnI și TnT care este astăzi cea mai veritabilă metodă biochimică de evaluare a IMA, fapt ce se datorează specificului și sensibilității înalte a acestui test [2].

Dezavantajele acestei soluții constau în faptul că ele pot fi determinate în patul vascular și în cadrul altor patologii ca, cardiomiopatia dilatativă, miopatii, alterările nervoase, sepsis, SIDA, insuficiența cardiacă congestivă, iar faptul acesta pune la îndoială veridicitatea diagnosticului de IMA.

25 M. Plebani, M. Zaninotto, Diagnostical strategies in myocardial infarction using myoglobin measurement.// Eur. J. Cardiol., 1998, Ткю 19, p. 12...15 prezintă datele comparative ce țin de sensibilitatea și specificitatea diagnostică a mioglobinei, TnI, TnT, CK și CK-MB în diagnosticul IMA (tab.2).

Tabela 2

Sensibilitatea și specificitatea unor markeri ai infarctului miocardic acut

| Biomarker | Sensibilitatea (%) 3 ore | Sensibilitatea (%) 6 ore | Sensibilitatea (%) 12 ore | Specificitatea (%) |
|------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------|
| Mioglobină | 69(48-66) | 100(87-100) | 100(87-100) | 46(33-60) |
| TnI | 54(33-73) | 81(61-93) | 100(87-100) | 90(80-96) |
| TnT | 51(26-70) | 78(58-89) | 100(82-96) | 66(52-78) |
| CK | 31(14-52) | 54(33-73) | 88(70-97) | 66(52-78) |
| CK-MB | 46(27-67) | 88(70-97) | 100(87-100) | 78(66-88) |

30 Legendă: în paranteze se indică diapazonul devierilor de la valoarea medie în limitele intervalului statistic.

Din tabel este evident că dacă în primele 12 ore sensibilitatea testului cu Tn este practic la aceeași valoare cu ceilalți markeri, atunci indicele de specificitate este net superior: circa 90% pentru Tn contra - 46% pentru mioglobină, 66% pentru CK și 78%, în medie pentru CK-MB.

35 Dacă cea mai concludentă sensibilitate precoce este caracteristică pentru mioglobină (69%, în primele 3 ore), atunci coeficientul diagnostic ce integrează sensibilitatea și specificitatea este cu mult mai jos decât al troponinelor: 3,17 (69x46) contra 4,86 (54x90) pentru TnI și vs 4,54 (51x89) pentru TnT.

Împreună cu aceasta există un set de circumferințe care limitează totuși abilitatea diagnostică a Tn în IMA.

40 Problema invenției constă în extinderea arsenalului de metode de stabilire a IMA și obținerea unei metode certe de diagnosticare a IMA în primele ore de debut.

Esența metodei de diagnostic precoce al infarctului miocardic acut constă în determinarea prezenței în serul sanguin a markerului biologic SR-Ca²⁺-ATP-azei cu ajutorul anticorpilor monoclonali specifici Anti- Ca²⁺-ATP-azei SERCA 2 Monoclonal ab Clone Nr. 2A7-A1.

45 Rezultatul obținut constă în obținerea unei metode certe de diagnosticarea a IMA în primele ore de debut

Avantajele oportune ale acestei metode ce vizează principiile de diagnostic a IMA sunt următoarele:

50 1. RS-Ca-ATP-asa, spre deosebire de troponine, nu are stoc intraplasmatic, de aceea nu poate fi identificată la indivizii sănătoși. Ea, astfel, nu poate fi identificată în sânge nici în creșterea permeabilității sarcolemei, fapt determinat de impact ischemic ușor, asociat cu tulburări funcționale reversibile. Și, dimpotrivă, prezența ei în sânge pune în evidență faptul necrozei miocardice.

2. Apariția Ca-ATP-asei în sânge denotă și despre prezența unei zone mici de necroză a miocardului, deci a microinfarctului. Dat fiind faptul că sechestrarea Ca-ATP-asei are loc până când nu se va repara integritatea celulară, prezența ei în sânge, de altfel ca și a troponinelor (q.v. tab2), va fi de o durată cu

MD 2513 F1 2004.08.31

5

mult mai mare, comparativ cu ceilalți marcheri. Așadar, această metodă poate servi și ca un test de evaluare veritabilă a dinamicului IMA și eficienței terapeutice.

3. RS-ATP-asa este mai vulnerabilă la acțiunile alterative hipoxice și ischemice, comparativ cu troponinele miofibrilare, și astfel evaluarea ei sangvină este anticipată mai precoce, după cum au arătat și datele noastre (tab.3).

4. Contrar troponinelor, RS-Ca-ATP-asa nu poate fi găsită în sânge în alte patologii somatice și analogic, CK-MB nu realizează cross-reacții cu forma I a Ca-ATP-asei scheletice.

Pentru a argumenta practic sufragiile aduse la prioritatea metodei de diagnostic precoce a IMA prin evaluarea serică a SR-ATP-asei, la 15 pacienți cu infarct miocardic acut, documentat veritabil electrocardiografic și anamnestic, s-a determinat prezența și conținutul acestei enzime proteice în sânge folosind anticorpi monoclonali specifici, după 3,5-4,0 ore și 6,5-7,0 ore de la debutul infarctului.

Anume troponina T reprezintă astăzi interesul oportun al specialiștilor în diagnosticarea dinamică veritabilă a infarctului miocardic acut și în afară de marker al IMA, TnT este antrenată în soluționarea inițierii tratamentului fibrinolic și antitrombotic (dacă TnT nu crește în sânge mai mult decât 0,2 ng/ml atunci se limitează la terapie antitrombotică).

Tabela 3

Valorile serice individuale absolute ale RS-ATP-asei și TnT la 15 pacienți cu infarct miocardic acut în primele 7 ore de evoluție:

| Pacientul | A - RS-ATP-asa (ng/ml) B -TnT (ng/ml) | 3,5-4 ore a IMA | &,5-7 ore a IMA |
|-----------|---|-----------------|-----------------|
| 1 | A | 54 | 96 |
| | B | 1,10 | 1,70 |
| 2 | A | 11 | 24 |
| | B | 0 | 0,25 |
| 3 | A | 2,30 | 11,30 |
| | B | 0 | 0 |
| 4 | A | 22 | 51 |
| | B | 0,31 | 0,88 |
| 5 | A | 0 | 8 |
| | B | 0 | 0 |
| 6 | A | 21 | 30 |
| | B | 0,20 | 0,70 |
| 7 | A | 16 | 23 |
| | B | 0,13 | 0,25 |
| 8 | A | 5 | 9 |
| | B | 0 | 0 |
| 9 | A | 29 | 34 |
| | B | 0,34 | 0,66 |
| 10 | A | 7 | 16 |
| | B | 0 | 0,14 |
| 11 | A | 14 | 23 |
| | B | 0,17 | 0,33 |
| 12 | A | 9,9 | 27 |
| | B | 0,11 | 0,23 |
| 13 | A | 0 | 13 |
| | B | 0 | 0,16 |
| 14 | A | 3,30 | 7,80 |
| | B | 0 | 0,18 |
| 15 | A | 6,50 | 20,6 |
| | B | 0,15 | 0,30 |

Așadar, în primele 3,5...4 ore de la debutul infarctului miocardic acut, RS-ATP-asa s-a apreciat cantitativ în sânge la 12 pacienți (80%), în diapazonul 3,3...54 ng/ml. În această perioadă de timp TnT s-a documentat cantitativ numai la 8 pacienți (53%). După 6,5...7 ore de evoluție a IMA RS-ATP-asa a fost apreciată în sânge la toți cei 15 pacienți investigați (diapazonul cantitativ fiind 8...96 ng/ml), pe când TnT a fost estimată la 12 pacienți, ceea ce constituie 80%.

Astfel, cu certitudine sensibilitatea mai înaltă a metodei de evaluare sangvină a SR-ATP-asei în diagnosticul precoce a infarctului miocardic acut, în comparație cu estimarea sangvină a troponinei T

MD 2513 F1 2004.08.31

6

(sensibilitatea TnT apreciată de noi este de altfel înalt corelativă cu cea descrisă în literatură, q.v. tab.2 după M.Plebani și colab.).

Luând în considerație specificitatea notabilă a ATP-asei sarcoplasmice putem califica estimarea ei cantitativă în sânge ca un marker precoce veritabil al infarctului miocardic acut.

5 Metodologic, ambele metode (evaluarea SR-ATP-asei și TnT) sunt realizate prin teste chimice uscate similare, folosind anticorpi monoclonali specifici.

Evaluări concrete de diagnostic precoce a infarctului miocardic acut prin metoda propusă de noi.

Exemple concrete de realizare

10 Pacientul A, bărbat, 54 ani, a fost internat în staționarul Centrului Cardiologic din Moscova cu suspiciune la infarct miocardic acut în baza unui puseu de durere marcat poststernal, dezvoltat pe fundalul unui stres psihoemoțional. În anamneză stenocardie instabilă. La momentul staționării ECG nu prezenta semne de infarct. IMA sau stare preinfarct? De soluționarea acestei dileme depinde strategia terapeutică întreprinsă. Să administrăm preparate fibrinolitice sau să ne limităm la remedii antitrombotice.

15 Determinarea serică imunochimică, prin anticorpi monoclonali specifici, a RS-ATP-asei după 4,5 ore de la evoluția puseului de durere a indicat prezența acestui marker în sânge (3,4 ng/ml), fapt ce denotă leziuni ischemice necrotizante, deci infarct miocardic. Acest fapt a fost concludent confirmat ulterior, după 22 ore, electrocardiografic. Dar terapia fibrinolică a fost efectuată timpuriu (după 5 ore), prin ce s-a condus la o reperfuzie adecvată a miocardului și la îmbunătățiri clinice evidente.

20 Pacientul B, femeie, 57 ani, a fost internată în staționarul Centrului Cardiologic din Moscova cu suspiciune la infarct miocardic acut în baza unui puseu de durere marcat poststernal. În anamneză stenocardie instabilă., ECG, la momentul staționării, nu prezenta semne de infarct miocardic acut.

25 Determinarea serică imunoclinică, prin anticorpi monoclonali specifici, a SR-ATP-asei după 5,5 ore de la evoluția puseului de durere a indicat prezența acestui marker în sânge (13,6 ng/ml), fapt ce a denotat leziuni ischemice necrotizante, deci infarct miocardic. Acest diagnostic a fost concludent confirmat ulterior, după 25 ore, electrocardiografic. Terapia fibrinolică a fost efectuată timpuriu (după 6 ore), prin ce s-a condus la o reperfuzie adecvată a miocardului și la îmbunătățiri clinice evidente.

30

(57) Revendicare:

Metodă de diagnostic precoce al infarctului miocardic acut, care include determinarea prezenței în serul sanguin a markerului biologic cu anticorpi monoclonali specifici **caracterizată prin aceea că** în calitate de marker biologic se determină SR-Ca²⁺-ATP-aza cu ajutorul Anti- Ca²⁺-ATP-azei SERCA 2 Monoclonal ab Clone Nr. 2A7-A1.

35

(56) Referințe bibliografice:

1. Шалаев С. В., Петрик Е. С., Панин А. И., Тропонины в кардиологической практике // Пособие для врачей, 2001, с. 24
2. The National Academy of Clinical Biochemistry // Guidelines for the use of cardiac markers in coronary artery diseases, Proceedings of Edutrac at the American Association for clinical chemistry, Chicago, 1998

Șef Secție: EGOROVA Tamara

Examinator: IUSTIN Viorel

Redactor: UNGUREANU Mihail