



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **118158**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2017 01185**

(22) Дата подання заявки: **09.02.2017**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.07.2017**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.07.2017, Бюл.№ 14**

(72) Винахідник(и):

**Яременко Олег Борисович (UA),
Петелицька Любов Богданівна (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ,
бул. Шевченка, 13, м. Київ, 01601 (UA)**

(54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ ПЕРВИННОГО СИСТЕМНОГО НЕКРОТИЗИВНОГО ВАСКУЛІТУ

(57) Реферат:

Спосіб діагностики первинного системного некротизивного васкуліту включає визначення сироваткових рівнів антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл. Додатково визначають рівень альфа-актину-2 в сироватці крові. При його рівні $\geq 85,8$ нг/мл діагностують первинний системний некротизивний васкуліт.

UA 118158 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме ревматології і може бути використана для оптимізації діагностичного процесу у хворих на первинні системні некротизивні васкуліти (ПСНВ).

Первинні системні некротизивні васкуліти (ПСНВ) - гетерогенна група захворювань невідомої етіології, основним морфологічним проявом яких є запалення та некроз стінки судин, а спектр клінічних проявів залежить від типу, розміру та локалізації пошкоджених судин і тяжкості супутніх запальних порушень [10]. До групи ПСНВ належать вузликовий поліартеріт (ВП) та васкуліти, асоційовані з антинейтрофільними цитоплазматичними антитілами (АНЦА). Гетерогенність клінічних проявів в дебюті ПСНВ значно ускладнює діагностичний процес. В середньому від початку симптомів до встановлення діагнозу гранулематозу з поліангіїтом (ГПА) - найпоширенішого ПСНВ, за даними іспанського ретроспективного дослідження, проходить 3,5 міс. (0,5-14 міс.) [5], а за даними нашої клініки -15,4 міс. (1-60 міс.). У зв'язку з відсутністю діагностичних критеріїв ПСНВ для встановлення діагнозу широко використовуються визначення нозологій згідно з Міжнародною погоджувальною конференцією в Chapel Hill 2012 [3]. Іншою широко вживаною класифікацією васкулітів є класифікація Американської колегії ревматологів (ACR), яка заснована переважно на клінічних даних [4]. Проте обидві класифікації були розроблені для порівняння груп хворих на васкуліт, а не як діагностичні критерії для окремого хворого, тому є недостатньо інформативними і на поточний час ведуться розробки по їх покращенню [1].

Діагностичними критеріями можуть бути лабораторні маркери ураження судинної стінки, оскільки всі ПСНВ характеризуються деструктивно-запальними змінами в судинах [9]. Так, при руйнуванні чи фрагментації гладком'язових клітин середнього шару судинної стінки вивільняється специфічний компонент міофібрил - альфа-актин-2, який виконує не лише скорочувальну функцію, але також бере участь в фіброгенезі [7]. Тому рівень альфа-актину-2 в крові може бути одним із перспективних маркерів для діагностики ПСНВ.

Найближчим аналогом до корисної моделі є визначення сироваткових рівнів АНЦА, які призначені для диференціації та визначення нозологічної приналежності васкуліту. Негативність за АНЦА хоча і входить у визначення ВП згідно з Міжнародною погоджувальною конференцією у Chapel Hill 2012 [3], проте АНЦА виявляються методом ІФА у 10,7 % хворих на ВП, асоційованого з вірусом гепатиту В, та у 27,3 % хворих на ВП без маркерів гепатиту В, а при використанні методу ELISA - відповідно у 11,1 % та 20 % хворих [2]. Крім того, в групі АНЦА-асоційованих васкулітів приблизно 10-20 % хворих на ГПА та мікроскопічний поліангіїт (МПА) та 40-50 % хворих на еозинофільний гранулематоз з поліангіїтом (ЕГПА) є негативними за АНЦА [8]. Тобто позитивність/негативність за АНЦА також не вирішує проблеми діагностики ПСНВ. Інших лабораторних показників для діагностики ПСНВ на поточний час не запропоновано.

В основу корисної моделі поставлена задача створення такого способу діагностики ПСНВ, який би дозволив покращити результати діагностичного процесу у даній категорії хворих, та підвищити ефективність діагностики у хворих на ПСНВ.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб діагностики первинного системного некротизивного васкуліту включає визначення сироваткових рівнів антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл, згідно з корисною моделлю, додатково визначають рівень альфа-актину-2 в сироватці крові і при його рівні $\geq 85,8$ нг/мл діагностують первинний системний некротизивний васкуліт.

Спосіб здійснюють наступним чином.

Було обстежено 36 хворих з ПСНВ (ВП - 8, АНЦА-асоційовані васкуліти - 28) в активній стадії хвороби, про що свідчили величини індексу клінічної активності васкуліту - Birmingham vasculitis activity score (BVAS) >11 [6], і 26 здорових людей відповідного віку і статі (група контролю). Діагноз певного васкуліту встановлювали за умови наявності необхідної кількості відповідних класифікаційних критеріїв ACR 1990 р. [4] чи визначення ПСНВ згідно з Міжнародною погоджувальною конференцією у Chapel Hill 2012 [3]. Згідно з пропонуванням способом визначали сироваткові рівні АНЦА та альфа-актину-2 методом імуноферментного аналізу. Частоту виявлення АНЦА та рівні альфа-актину-2 ($M \pm \sigma$) у хворих на ПСНВ та осіб контрольної групи наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Нозології	BVAS	АНЦА+, n (%)	Альфа-актин-2, нг/мл
ПСНВ	21,2±6,64	26 (72)	94,0±99,5 [#]
Контроль	-	0	44,7±25,7

Примітка. [#]p<0,05 порівняно з контрольною групою, n - кількість хворих.

Чверть хворих на ВП була позитивною за АНЦА (2 з 8 хворих), а у 14,3 % хворих на АНЦА-асоційовані васкуліти (4 з 28) АНЦА не виявлялися, що підтверджує недостатню диференційно-діагностичну значущість цього лабораторного маркера. Натомість рівень альфа-актину-2 в групі хворих з ПСНВ був удвічі вищим порівняно з контролем (p<0,05).

Враховуючи отримані дані, було проведено порівняльну оцінку діагностичної значущості визначення АНЦА та сироваткового рівня альфа-актину-2.

Для визначення чутливості та специфічності АНЦА у нашої когорти хворих використовували формули:

$$\text{чутливість} = \frac{TP}{TP + FN} \times 100\%, \quad \text{специфічність} = \frac{TN}{TN + FP} \times 100\%,$$

де TP (True Positives) - вірно класифіковані позитивні випадки (так звані істинно позитивні випадки);

TN (True Negatives) - вірно класифіковані негативні випадки (істинно негативні випадки);

FN (False Negatives) - позитивні випадки, класифіковані як негативні (помилка I типу - помилково негативні випадки);

FP (False Positives) -- негативні випадки, класифіковані як позитивні (помилка II типу - помилково позитивні випадки).

Для оцінки чутливості та специфічності альфа-актину-2 як діагностичного тесту, а також для визначення його порогового значення використовували ROC-аналіз, за даними якого наведено ROC-криву /для моделі діагностики ПСНВ за рівнем альфа-актину-2 (див. креслення) Інформативність показника оцінювали за величиною площі під кривою (AUC).

За результатами проведеного статистичного аналізу визначення АНЦА у даній когорти хворих продемонструвало достатню чутливість - 85,7 %, проте низьку специфічність - 75,0 %. При застосуванні ROC-аналізу та побудові характерної кривої для сироваткового рівня альфа-актину-2 виявлено відмінну прогностичну здатність даної моделі згідно з експертною шкалою для значень AUC (таблиця 2, в якій наведені характеристики ROC-аналізу).

Отже, порогове значення рівня альфа-актину-2 85,8 нг/мл з високою чутливістю (83 %) та специфічністю (84 %) дозволяє діагностувати ПСНВ у хворих з підозрою на ці захворювання. Вказаний рівень діагностичної значущості рівня альфа-актину-2 суттєво перевищує інформативність прототипу - рівня ЛНЦА - за показником специфічності (75 %) при близьких значеннях показника чутливості.

Таблиця 2

Площа під кривою (AUC)	P	95 %-довірчий інтервал	Порогове значення (діагностичний рівень)	Чутливість	Специфічність
0,96±0,16	0,008	0,60-1,00	85,8 нг/мл	83 %	84 %

Отже, з огляду на недостатню інформативність АНЦА, з метою діагностики ПСНВ доцільно визначати рівень альфа-актину-2 в сироватці крові. Рівень альфа-актину-2 в крові ≥85,8 нг/мл з високою вірогідністю свідчить на користь діагнозу ПСНВ.

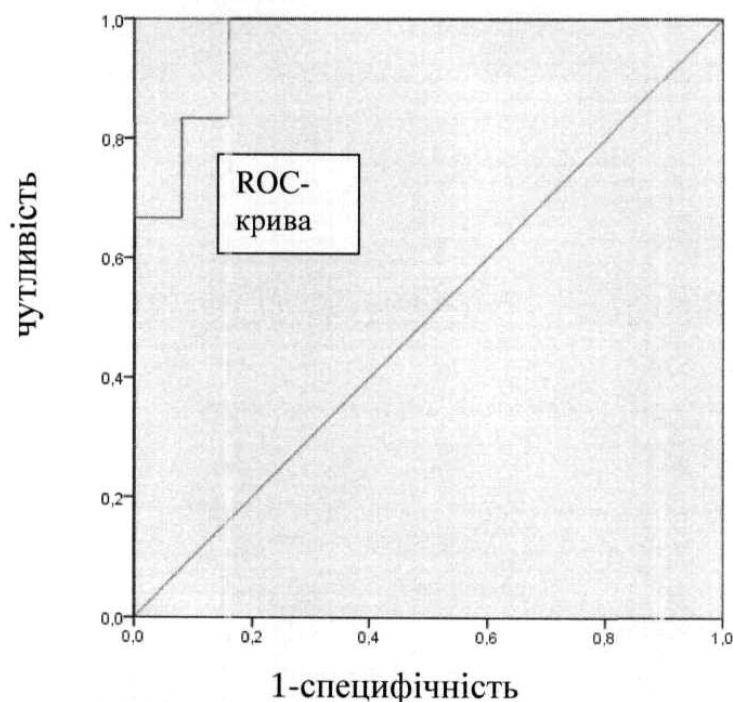
Отримані результати дозволяють рекомендувати запропонований спосіб до впровадження в практичну медицину. Спосіб був апробований в ревматологічному відділенні КМКЛ №3 та на кафедрі внутрішніх хвороб стоматологічного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Джерела інформації:

1. Craven A. ACR/EULAR-endorsed study to develop diagnostic and classification criteria for vasculitis (DCVAS) / A. Craven, J. Robson, C. Ponte, et al. // Clin Exp Nephrol. - 2013. - Vol. 17. - P. 619-621.
- 5 2. Guillevin L. Antineutrophil cytoplasm antibodies in systemic polyarteritis nodosa with and without hepatitis B virus infection and Churg-Strauss syndrome-62 patients / L. Guillevin, H. Visser, L. Noel, J. Pourrat, et al. // J. Rheumatol. - 1993. - Vol. 20. - P. 1345-1349.
3. Jennette J.C. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides / J.C. Jennette, R.J. Falk, P.A. Bacon, et al. // Arthritis & Rheumatism. - 2013. - Vol. 65. - P. 1-11.
- 10 4. Lightfoot R.W. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of polyarteritis nodosa / R.W. Lightfoot, B.A. Michel, D.A. Bloch, G.G. Hunder, N.J. Zvaifler, D.J. McShane, et al. // Arthritis Rheum. - 1990. - Vol. 33. - P. 88-93.
5. Martinez-Moillo M. Granulomatosis With Polyangiitis (Wegener). Description of 15 Cases // M. Martinez-Morillo, Grados D. // Reumatol Clin. - 2012. - Vol. 8. - P. 15-19.
- 15 6. Mukhtyar C. Modification and validation of the Birmingham vasculitis activity score (Version 3) / C. Mukhtyar, R. Lee, D. Brown, et al. // Ann Rheum Dis. - 2009. - Vol. 68. - P. 1827-1832.
7. Cherng S., Jenny Young, Hongbao Ma Alpha-Smooth Muscle Actin (α -SMA) / S. Cherng, J. Young, H. Ma // The Journal of American Science. 2008. - Vol. 4 (4). - P. 7-9.
- 20 8. Radice A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) / A. Radice, R. Sinico // Autoimmunity. - 2005. - Vol. 38(1). - P. 93-103.
9. Sharma A., Bacon P. Textbook of Systemic Vasculitis. // Medical Publishers Pvt Ltd. - 2015. - P. 419.
- 25 10. Watts R.A. Vasculitis in Clinical Practice // Oxford University Press. - 2008. - P. 4-5

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб діагностики первинного системного некротизивного васкуліту, що включає визначення сироваткових рівнів антинейтрофільних цитоплазматичних антитіл, який **відрізняється** тим, що
 30 додатково визначають рівень альфа-актину-2 в сироватці крові і при його рівні $\geq 85,8$ нг/мл діагностують первинний системний некротизивний васкуліт.



Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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