



**Н. Б. Курильців<sup>1</sup>, О. В. Зборовська<sup>2</sup>,  
Л. М. Величко<sup>2</sup>, А. Л. Хирівський<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

<sup>2</sup> ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України»

## Динаміка клінічних ознак і показників біомаркера запалення неоптерину в сироватці крові кроликів із експериментальним неінфекційним автоімунним увеїтом, з урахуванням різного ступеня тяжкості

**Вступ.** Увеїт – запалення судинної оболонки ока, що включає запалення райдужки, циліарного тіла та власне судинної оболонки. Хвороба може уражати також інші внутрішньоочні структури – білкову оболонку, сітківку, кровоносні судини сітківки та зоровий нерв.

Увеїт уражає понад 2 млн людей у всьому світі [9], у розвинених країнах це одна з п'яти причин сліпоти у працездатного населення, що становить близько 10,0% усіх випадків [8, 12, 15, 19, 21]. На відміну від інших хвороб ока, таких, як глаукома або вікова макулярна дегенерація, які зазвичай фіксують у людей похилого віку, увеїт трапляється в усіх вікових групах, часто у людей молодого віку [20, 24, 25].

Увеїт має численні клінічні форми. Відомо понад 60 етіологічних чинників цієї хвороби [10]. Залежно від етіологічних чинників, згідно з міжнародними класифікаціями, клінічно увеїти поділяють на інфекційні, неінфекційні, маскарадний синдром та інші (ідіопатичні) [7, 11, 24, 26].

Діагностика увеїту переважно потребує проведення низки клінічних, лабораторних та інструментальних досліджень, що вимагає значних зусиль і часу. У багатьох випадках потрібно негайно обирати лікування з метою збереження зорових функцій. Надійним помічником у діагностиці внутрішньоочного запалення може бути визначення доступних біомаркерів у біологічних середовищах. За різних типів хвороб виділяються різні специфічні білки, частина з яких може стати біомаркерами.

У 2011 р. робоча група з вивчення біомаркерів Національного інституту здоров'я (National Institute of Health – NIH) оприлюднила визначення поняття «біомаркер». У 2015 р. спільна керівна рада (Food and

Drug Administration - FDA) NIH удосконалила початкове визначення як «показник нормальних біологічних і патогенних процесів або реакція на вплив, або втручання, включаючи терапевтичне лікування» [4, 5]. Ця ж рада виокремила різні типи біомаркерів – молекулярні, гістологічні, рентгенографічні та фізіологічні, а також створила класифікацію із таких основних категорій: діагностичні, прогностичні, моніторингові, біомаркери відповіді, безпеки та ризику. Під час вивчення різних хвороб біомаркери використовують для селекції пацієнтів, створення класифікацій або з'ясування захворювання, прогнозування та моніторингу клінічної відповіді на лікування [23]. Раніше біомаркери мали дослідницький характер, але з часом їх стали застосовувати у клінічній практиці.

Обираючи спосіб виділення біомаркерів із середовищ і тканин для діагностики очних хвороб, слід брати до уваги будову очного аналізатора. Хоча аналіз вологи передньої камери та склистого тіла містить цінну інформацію про внутрішньоочні процеси, вилучення цих середовищ на оці зі запальними змінами створює великий ризик більшої активації запального процесу та виникнення різноманітних ускладнень. Тому альтернативним способом діагностики увеїту може бути аналіз сироватки крові, що потребує докладного вивчення.

Існує багато біомаркерів запалення, але не всі є інформативними. Крім цього, більшість біомаркерів нестійка в біологічних рідинах, оскільки компоненти оксидативного стресу, зміни цитокінового та хемокінового профілю чинять руйнівну дію на них [17, 22]. Тому властивості біомаркера теж не менш важливі для адекватного розуміння запальних про-

цесів. Згідно з результатами багатьох досліджень, одним із показових біомаркерів різних хвороб може бути неоптерин (НП), оскільки він є стабільним метаболітом і визначення його концентрації асоційоване з активацією клітинного імунітету [1, 14, 16]. Важливо й те, що НП легко визначити в сироватці та плазмі крові, в сечі, сльозі, волозі передньої камери, склистому тілі, інших біологічних рідинах і тканинах [2, 13, 18]. За інформацією з різних джерел і проведених досліджень, концентрація НП зазвичай залежить від ступеня активності патологічного процесу. Щобільше, завелика концентрація НП є одним із основних предикторів несприятливого прогнозу [16].

Враховуючи труднощі діагностики увеїтів, що потребує комплексної оцінки клінічної картини, широкого спектра лабораторних аналізів, інструментальних методів дослідження, консультації суміжних спеціалістів, доцільно вивчити показники неоптерину біомаркера запального процесу в оці, що, можливо, зможе слугувати додатковим діагностичним підтвердженням неінфекційного аутоімунного увеїту (НАУ).

**Мета дослідження.** Дослідити динаміку клінічних ознак і показників біомаркера запалення неоптерину в сироватці крові кроликів із експериментальним неінфекційним аутоімунним увеїтом, із урахуванням різного ступеня тяжкості.

**Матеріали й методи дослідження.** Експериментальне дослідження проведено на 30 кроликах породи шиншила одного віку масою 2,5–3,0 кг, які перебували на стандартному раціоні харчування та в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького відповідно до загальноприйнятих норм. За два тижні до проведення дослідження тварини перебували на карантині. Під час дослідження (догляд, спостереження, маніпуляції та виведення тварин із експерименту, у тому числі використання наркозу) дотримувались міжнародних правил щодо роботи з експериментальними тваринами згідно зі «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», схваленими III Національним конгресом у Києві в 2007 р., та Гельсінкською декларацією «Правила використання експериментальних тварин у експериментальних дослідженнях» 1964–2000 рр.

Перед початком експерименту в усіх кроликів взяли аналіз сироватки крові для визначення вмісту НП й отримали референтні показники.

Моделювання НАУ у всіх кроликів проводили за допомогою попереднього введення у крайову вену вуха 1,0 мл нормальної стерильної кінської сироватки (АО Біолік, № 505008/21) упродовж 5 днів з інтервалом 24 год з метою сенсibilізації організму. Після цього усіх експериментальних тварин поділили на дві групи (I і II), по 15 тварин у кожній. Через 10 днів після останнього введення сироватки кроликам I групи в обидва ока інтравітреально ввели провокативну дозу нерозчиненої нормальної стерильної кінської сироватки (0,1 мл), кроликам II групи – провокативну дозу розчиненої

фізіологічним розчином у співвідношенні 1:2 нормальної стерильної кінської сироватки (0,1 мл).

Оцінку клінічних ознак і забір крові на аналіз показників біомаркера НП проводили на 3-й, 7-й, 10-й, 14-й і 21-й день після введення інтравітреально стерильної кінської сироватки. Клінічні ознаки оцінювали, спираючись на зовнішній огляд, обстеження під час бічного фокального освітлення, огляд у прохідному світлі, пряму офтальмоскопію, вимірювання внутрішньоочного тиску. Для оцінки ступенів тяжкості увеїту застосовували критерії міжнародної стандартизованої номенклатури увеїтів (Standardization of Uveitis Nomenclature – SUN) [11, 24].

Показники вмісту НП в сироватці крові кроликів визначали в лабораторії імунологічних досліджень ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України» методом імуноферментного аналізу з використанням набору реагентів для кількісного визначення НП в сироватці крові Rabbit Neopterin ELISA Kit (виробник MyBioSource, Inc, США) згідно з інструкцією. Результати оцінювали фотометрично (мікропланшетний імуноферментний аналізатор StatFax 2100, США).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерної програми Statistica 10.0. Обчислювали середнє арифметичне (M) і стандартну похибку середнього (m). Достовірною вважали різницю за  $p < = 0,05$  (за t-критерієм Стьюдента).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Середній показник НП у кроликів до початку експерименту становив  $1,7 \pm 0,2$  нмоль/л. Його вважали нормою, оскільки в літературних джерелах немає інформації про дослідження НП у здорових кроликів породи шиншила.

Через 24 год після інтравітреального введення стерильної кінської сироватки на обох очах усіх кроликів з'явилися перші клінічні ознаки увеїту – змішана ін'єкція очного яблука, опалесценція вологи передньої камери, в деяких випадках набряк рогівки та клітинна реакція у склистому тілі. На 3-й день на очах усіх кроликів (60 очей) були клінічні ознаки запалення судинної оболонки очного яблука різного ступеня тяжкості. На очах, де інтравітреально вводили провокативну дозу нерозчиненої нормальної стерильної кінської сироватки, НАУ характеризувався середнім і тяжким ступенем запалення. На очах, де інтравітреально вводили провокативну дозу розчиненої сироватки, увеїт характеризувався легким або середнім перебігом.

Клінічні зміни модельованого НАУ у всіх кроликів обох експериментальних груп супроводжувалися суттєвим зростанням показників вмісту НП в сироватці крові з подальшою динамікою зниження (див. таблицю і рис. 1), в усі дні експерименту цей показник статистично значуще відрізнявся від норми ( $p < 0,05$ ).

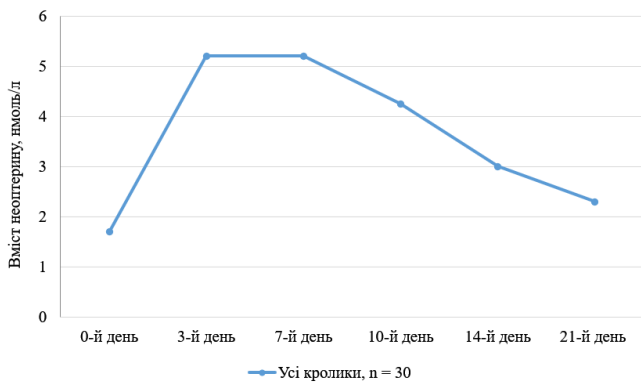


Рис. 1. Динаміка вмісту неоптерину в сироватці крові кроликів із експериментальним неінфекційним аутоімунним увеїтом.

На 3-й день після інтравітреального введення стерильної кінської сироватки в усіх експериментальних тварин обох груп спостерігалось значне зростання показників цього біомаркера, який становив  $5,20 \pm 0,70$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ). На 7-й день від початку експерименту середній показник вмісту НП в сироватці крові зберігався на тому ж рівні –  $5,20 \pm 0,80$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ), що свідчить про активність запальних змін, які підтверджували й клінічні ознаки НАУ. На 10-й день фіксували незначний регрес клінічних ознак запалення, а саме – зменшення клітинної реакції у волозі передньої камери та склистому тілі. На 10-й день концентрація НП знизилася до  $4,25 \pm 1,70$  нмоль/л, що статистично не суттєво порівняно з попередніми днями ( $p > 0,05$ ), але цей показник усе ще значно відрізнявся від референтного ( $p < 0,05$ ). У всіх кроликів клінічні ознаки увеїту з 14-го по 21-й день експерименту виявлялись регресом, на 21-й день лише у 33,0 % кроликів фіксували невиражену перикорнеальну ін'єкцію та поодинокі клітини у волозі передньої камери. Водночас показники вмісту НП в сироватці крові на 14-й день становили  $3,00 \pm 0,90$  нмоль/л ( $p > 0,05$ ), на 21-й –  $2,30 \pm 0,50$  нмоль/л ( $p > 0,05$ ).

Якщо проаналізувати динаміку показників НП в сироватці крові кроликів у кожній групі окремо, то результати значуще відрізняються на 3-й, 7-й, 10-й та 14-й день експерименту ( $p < 0,05$ ) та корелюють зі змінами клінічних ознак увеїту (див. таблицю і рис. 2.). У групі, в якій проведено інтравітреальне введення нерозчиненої нормальної стерильної кінської сироватки, у всіх тварин клінічні ознаки свідчили про середній і тяжкий перебіг увеїту, оскільки були виражені перикорнеальна ін'єкція, набрякла рогівка, преципітати на ендотелії, опалесценція у волозі передньої камери, ексудат, вузька зіниця, що мляво реагує на світло, задні синехії, клітинна реакція склистого тіла, очне дно в деталях не офтальмоскопувалось. На 16 очей (53,0 %) фіксували підвищення внутрішньоочного тиску. Такі клінічні ознаки зберігалися і на 7-й та 10-й день експерименту.

Ці патологічні зміни супроводжувались подібною динамікою показників вмісту НП в сироватці крові

експериментальних тварин. На 3-й день показник біомаркера НП у цій групі становив  $5,60 \pm 0,70$  нмоль/л, на 7-й –  $6,00 \pm 0,20$  нмоль/л, на 10-й –  $5,90 \pm 0,40$  нмоль/л відповідно. Починаючи з 14-го дня експерименту спостерігали незначний регрес ознак запалення, тобто зменшення набряку рогівки, клітинної інфільтрації вологи передньої камери та склистого тіла, але зберігались перикорнеальна ін'єкція, більш сформовані преципітати й вузька, млява зіниця, високий внутрішньоочний тиск. Поступово до 21-го дня ще більше затухали клінічні ознаки внутрішньоочного запалення, що виявлялось у розсмоктуванні клітин у передній камері, зменшенні набряку рогівки, у склистому тілі формувалася фіброзна тканина. Паралельно до цих клінічних змін змінювався і показник концентрації НП в сироватці крові кроликів. А саме, на 14-й день він становив  $3,80 \pm 0,40$  нмоль/л, на 21-й день –  $2,70 \pm 0,30$  нмоль/л.

На 21-й день у 33,0 % кроликів були збережені незначні запальні ознаки, що виявлялось невираженою перикорнеальною ін'єкцією, наявністю преципітатів, задніх синехій і поодиноких клітин у волозі передньої камери. Серед цього відсотка кроликів у одного на одному оці виник бомбаж райдужки, внутрішньоочний тиск пальпаторно відповідав трьом «+».

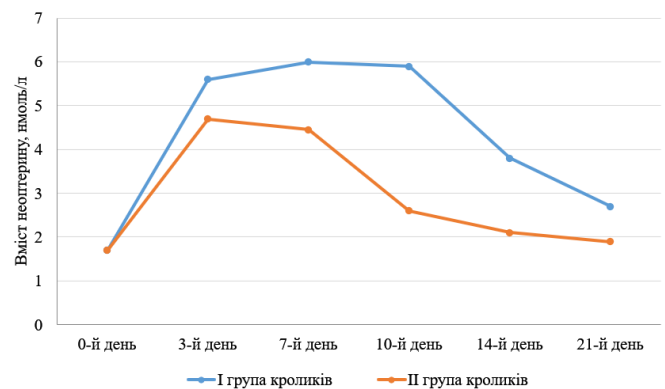


Рис. 2. Динаміка вмісту неоптерину в сироватці крові I і II груп кроликів із експериментальним неінфекційним аутоімунним увеїтом.

#### Динаміка вмісту неоптерину в сироватці крові I і II груп кроликів із неінфекційним аутоімунним увеїтом, нмоль/л (n, M±m, p)

Дні експерименту	I група (n = 15)	II група (n = 15)
3-й	$5,60 \pm 0,70^\circ$	$4,70 \pm 0,60^{*^\circ}$
7-й	$6,00 \pm 0,20^\circ$	$4,45 \pm 0,30^{*^\circ}$
10-й	$5,90 \pm 0,40^\circ$	$2,60 \pm 0,40^{*^\circ}$
14-й	$3,80 \pm 0,40^\circ$	$2,10 \pm 0,10^{*^\circ}$
21-й	$2,70 \pm 0,30$	$1,90 \pm 0,06^\circ$

**Примітки:** показники статистичної достовірності: \* –  $p < 0,05$  порівняно з I групою; ° –  $p < 0,05$  порівняно з нормою.

Результати аналізу клінічного перебігу та динаміки показників НП у II групі показано в таблиці та на рис. 2. На 3-й день клінічного обстеження НАУ виник у всіх



тварин, але тільки на восьми очах (27,0 %) експериментальних тварин він був із ознаками середнього ступеня тяжкості, що віддиференційовано згідно з клітинною реакцією вологи передньої камери та склистого тіла [11, 24]. На двох очах (7,0 %) були поодинокі ніжні преципітати й задні синехії. На 22 очах (73,0 %) фіксували незначні запальні зміни судинної оболонки – перикорнеальну або змішану ін'єкцію очного яблука, опалесценцію вологи передньої камери. Лише на трьох очах кроликів (10,0 %) фіксували підвищення внутрішньоочного тиску. Водночас концентрація НП у сироватці крові становила  $4,70 \pm 0,60$  нмоль/л. На 7-й день виражених змін клінічних проявів увеїту порівняно з попереднім днем оцінки не зафіксовано, середній показник НП теж майже не змінився і становив  $4,45 \pm 0,30$  нмоль/л відповідно. Починаючи з 10-го дня експерименту у II групі показник НП в сироватці крові знизився до  $2,60 \pm 0,40$  нмоль/л, що й підтверджувалось послабленням запалення. На 14-й день експерименту тільки на двох очах зберігалися залишкові зміни увеїту, а саме – незначна перикорнеальна ін'єкція, поодинокі клітини у волозі передньої камери та залишкові поодинокі преципітати на ендотелії рогівки. Показник вмісту НП у сироватці крові становив  $2,10 \pm 0,10$  нмоль/л. На 21-й день у всіх тварин II групи цей показник відповідав нормі ( $1,90 \pm 0,06$  нмоль/л,  $p > 0,05$ ).

Таким чином, у проведеному дослідженні тяжкість перебігу експериментального НАУ визначалася концентрацією введеної інтравітреально нормальної стерильної кінської сироватки. Додатковим підтвердженням наростання тяжкості НАУ слугувала динаміка показника біомаркера запалення НП в сироватці крові кроликів. Хоча за наявності внутрішньоочного запалення порушується гематофтальмічний бар'єр, унаслідок

чого елементи запалення проникають у тканини та рідини очного яблука, це відбувається пізніше, ніж вони з'явилися в сироватці крові [3, 6, 16]. Забір крові та визначення концентрації в ній НП не потребує спеціальних навичок та мінімізує поширення й наростання тяжкості запального процесу. Крім цього, динаміка показників концентрації цього біомаркера свідчить про його стабільність у сироватці крові та асоціюється з імунною відповіддю на запалення. Ймовірно, високі показники НП з'являються ще до появи клінічних ознак запалення, що потребує подальшого вивчення.

**Висновки.** У результаті моделювання неінфекційного автоімунного увеїту в експерименті на кроликах отримано увеїт різного ступеня тяжкості. Показники біомаркера неоптерину в усіх експериментальних тварин із неінфекційним автоімунним увеїтом були підвищені й статистично значні, порівняно з референтним показником, на 3-й, 7-й, 10-й і 14-й день експерименту ( $p < 0,05$ ). У I групі експериментальних тварин, де змодельовано увеїт середнього й важкого ступеня, спостерігалось поступове зниження середнього показника неоптерину з  $5,60 \pm 0,70$  до  $2,70 \pm 0,30$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ), у II групі, де змодельовано увеїт легкого ступеня тяжкості, – з  $4,70 \pm 0,60$  до  $1,90 \pm 0,06$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ). Порівняння двох груп оприявило, що показник неоптерину був значуще вищий ( $p < 0,05$ ) у кроликів із увеїтом середнього і важкого перебігу на 3-й, 7-й, 10-й і 14-й день ( $p < 0,05$ ). На 21-й день експерименту концентрація неоптерину в обох групах статистично не відрізнялась, що свідчило про затухання запальних змін у оці. Визначення показників біомаркера запалення неоптерину в сироватці крові може бути критерієм оцінки тяжкості неінфекційного автоімунного увеїту, його перебігу і, ймовірно, прогнозування.

## Список літератури

1. Курильців НБ, Зборовська ОВ. Неоптерин – перспективний біомаркер діагностики внутрішньоочного запалення. Офтальмологічний журнал. 2021;3:55–60 (Kuryltsiv NB, Zborovska OV. Neopterin, a promising biomarker for the diagnosis of intraocular inflammation. J Ophthalmol. 2021;3:55-60) (Ukrainian) <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202135560>
2. Михайцева ІМ, Бондаренко НВ, Коломийчук СГ, Курильців НБ. Рівень неоптерину в передньому відділі ока при експериментальному увеїті, обтяженому очною гіпертензією, за умов впливу дипептидукарнозину. Офтальмологічний журнал. 2021;5:64–70 (Miheiceva IM, Bondarenko NV, Kolomijchuk SH, Kuryltsiv NB. The level of neopterin in the anterior segment of the eye in experimental uveitis aggravated by ocular hypertension under the condition of exposure to carnosinedipeptide. J Ophthalmol. 2021;5:64-70) (Ukrainian) <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202156470>
3. Bansal R, Gupta A. Protein biomarkers in uveitis. Front Immunol. 2020;11:1-13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.610428>
4. BEST (Biomarkers, Endpoints and other Tools) Resource: FDANIH Biomarker Working Group; 2021:54 p.
5. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther. 2001;69(3):89-95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
6. Cholkar K, Dasari SR, Pal D, Mitra AK. Eye: anatomy, physiology and barriers to drug delivery. Ocular transporters and receptors. Woodhead Publishing. 2013;4:1-36. <https://doi.org/10.1533/9781908818317.1>
7. Deschenes J, Murray PI, Rao NA, Nussenblatt RB. International Uveitis Study Group (IUSG): clinical classification of uveitis. Ocul Immunol Inflamm. 2008;16(1):1-2. <https://doi.org/10.1080/09273940801899822>
8. Durrani OM, Tehrani NN, Marr JE, Moradi P, Stavrou P, Murray PI. Degree, duration, and causes of visual loss in uveitis. Br J Ophthalmol. 2004;88:1159-1162. <https://doi.org/10.1136/bjo.2003.037226>
9. Foster CS, Kothari S, Anesi SD, Vitale AT, Chu D, Metzinger JL et al. The ocular immunology and uveitis foundation preferred practice patterns of uveitis management. Surv Ophthalmol. 2016;61(1):1-17. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2015.07.001>

10. Hsu YR, Huang JC, Tao Y, Kaburaki T, Lee, Lin TC et al. Noninfectious uveitis in the Asia-Pacific region. *Eye (Lond)*. 2019;3(1):66-77. <https://doi.org/10.1038/s41433-018-0223-z>
11. Jabs DA, Dick A, Doucette JT, Gupta A, Lightman S, McCluskey P et al. Interobserver agreement among uveitis experts on uveitic diagnoses: the Standard of Uveitis Nomenclature Experience. *Am J Ophthalmol*. 2018;186:19-24. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2017.10.028>
12. Krishna U, Ajanaku D, Denniston AK, Gkika T. Uveitis: a sight-threatening disease which can impact all systems. *Postgrad Med J*. 2017;93:766-773. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2017-134891>
13. Lohoff M, Mak TW. Roles of interferon-regulatory factors in Thelper-cell differentiation. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(2):125-135. <https://doi.org/10.1038/nri1552>
14. Muller MM, Curtius HC, Herold M, Huber CH. Neopterin in clinical practice. *Clin Chim Acta*. 1991;201:1-16. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(91\)90019-9](https://doi.org/10.1016/0009-8981(91)90019-9)
15. Muñoz-Fernández S, Martín-Mola E. Uveitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2006;20:487-505. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2006.03.008>
16. Murr C, Widner B, Wirleitner D. Fuchs neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab*. 2002;3:175-187. <https://doi.org/10.2174/1389200024605082>
17. Ooi KGJ, Galatowicz G, Calder VL, Lightman SL. Cytokines and chemokines in uveitis - is there a correlation with clinical phenotype. *Clin Med Res*. 2006;4(4):294-309. <https://doi.org/10.3121/cmr.4.4.294>
18. Pingle SK, Tumane RG, Jawade AA. Neopterin: biomarker of cell-mediated immunity and potent usage as biomarker in silicosis and other occupational diseases. *Indian J Occup Environ Med*. 2008;12(3):107-111. <https://doi.org/10.4103/0019-5278.44690>
19. Rosenbaum JT, Bodaghi B, Couto C, Zierhut M, Acharya N, Pavesio C et al. New observations and emerging ideas in diagnosis and management of non-infectious uveitis: a review. *Semin Arthritis Rheum*. 2019;49(3):438-445. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2019.06.004>
20. Rothova A, Buitenhuis HJ, Meenken C, Brinkman CJ, Linsen A, Alberts C et al. Uveitis and systemic disease. *Br J Ophthalmol*. 1992;76:137-141. <https://doi.org/10.1136/bjo.76.3.137>
21. Rothova A, Suttrop-van Schulten MS, Frits Treffers W, Kijlstra A. Causes and frequency of blindness in patients with intraocular inflammatory disease. *Br J Ophthalmol*. 1996;80(4):332-336. <https://doi.org/10.1136/bjo.80.4.332>
22. Takase H, Sugita S, Taguchi C, Mochizuki M. Capacity of ocular infiltrating T helper type 1 cells of patients with non-infectious uveitis to produce chemokines. *Br J Ophthalmol*. 2006;90(6):765-768. <https://doi.org/10.1136/bjo.2005.087353>
23. Tamhane I M, Cabrera-Ghayouri S, Abelian G, Viswanath V. Review of biomarkers in ocular matrices: Challenges and Opportunities. *Pharm Res*. 2019;36(40):39-74. <https://doi.org/10.1007/s11095-019-2569-8>
24. Trusko B, Thorne J, Jabs D, Belfort R, Dick A, Gangaputra S et al. Standardization of Uveitis Nomenclature Working Group. The SUN Project. Development of a clinical evidence base utilizing informatics tools and techniques. *Methods Inf Med*. 2013;52:259-265. <https://doi.org/10.3414/ME12-01-0063>
25. Tsirouki T, Dastiridou A, Symeonidis C, Tounakaki O, Brazitikou I, Kalogeropoulos C et al. A focus on the epidemiology of uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*. 2018;26:2-16. <https://doi.org/10.1080/09273948.2016.1196713>
26. Zierhut M, Deuter C, Murray FI. Classification of uveitis - current guidelines. *European Ophthalmic Review*. 2007;77-78. <https://doi.org/10.17925/EOR.2007.00.00.77>

Стаття надійшла до редакції журналу 24.10.2022 р.

#### Конфлікт інтересів

Автори цієї статті стверджують, що конфлікту інтересів немає.

## Динаміка клінічних ознак і показників біомаркера запалення неоптерину в сироватці крові кроликів із експериментальним неінфекційним автоімунним увеїтом, з урахуванням різного ступеня тяжкості

Н. Б. Курильців, О. В. Зборовська, Л. М. Величко, А. Л. Хирівський

**Вступ.** Увеїт – запалення райдужки, циліарного тіла та власне судинної оболонки. Надійним помічником у діагностиці увеїту може стати визначення біомаркера неоптерину (НП) в сироватці крові.

**Мета.** Дослідити динаміку клінічних ознак і показників біомаркера запалення неоптерину в сироватці крові кроликів із експериментальним неінфекційним автоімунним увеїтом, враховуючи різний ступінь його тяжкості.

**Матеріали й методи.** Експериментальне дослідження проведено на 30 кроликах породи шиншила (I та II групи по 15 тварин у кожній). На очах усіх кроликів змодельовано НАУ (інтравітреальне введення нерозчиненої (I група) та розчиненої (II група) стерильної кінської сироватки. Попередньо проведено загальну сенсibiliзацію цією ж сироваткою, введеною внутрішньовенно.

**Результати.** В усіх кроликів із посиленням гострого запалення на 3-й, 7-й, 10-й, 14-й день експерименту показник НП був значно вищим від норми ( $p < 0,05$ ). У I групі тварин, де змодельований НАУ середнього

й тяжкого ступеня, показник НП значно відрізнявся від показника в групі II, де увеїт характеризувався легким перебігом. На 3-й день у I групі тварин він становив  $5,60 \pm 0,70$  нмоль/л, у II групі –  $4,70 \pm 0,60$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ), на 7-й день –  $6,00 \pm 0,20$  і  $4,45 \pm 0,30$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ), на 10-й день –  $5,90 \pm 0,40$  і  $2,60 \pm 0,40$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ), на 14-й день –  $3,80 \pm 0,40$  і  $2,10 \pm 0,10$  нмоль/л ( $p < 0,05$ ) відповідно. На 21-й день концентрація НП в обох групах статистично не відрізнялася ( $2,70 \pm 0,30$  нмоль/л ( $p > 0,05$ )), що свідчить про затухання запальних змін в оці.

**Висновки.** Отримано модель неінфекційного автоімунного увеїту різного ступеня тяжкості. Показники біомаркера неоптерину у всіх кроликів були підвищені й статистично значущі порівняно з референтним показником на 3-й, 7-й, 10-й і 14-й день експерименту ( $p < 0,05$ ). На 21-й день концентрація неоптерину в обох групах статистично не відрізнялась.

**Ключові слова:** експеримент, неінфекційний автоімунний увеїт, біомаркер неоптерин, сироватка крові.

## **Dynamics of Clinical Signs and Inflammatory Biomarker Neopterin Level in Blood Serum of Rabbits with Experimental Non-Infectious Autoimmune Uveitis with Respect to Different Degrees of its Severity**

**N. Kuryltsiv, O. Zborovska, L. Velychko, A. Khyrivskyi**

**Introduction.** Uveitis is an inflammatory condition involving iris, ciliary body and choroid of the eyebulb. Uveitis currently affects about two million people worldwide and is among five leading causes of blindness in the working population. Diagnosis of uveitis requires a number of investigations. As important biomarker in the diagnosis of uveitis can be used the detection of Neopterin (NP) in blood serum, since it is a stable metabolite and its increased level encompass activation of cellular immunity. It should be also noted that NP is present in blood serum and plasma, urine, tears, aqueous humor, vitreous body, other biological fluids and can be easily detected. According to literature data and our own investigations, the concentration of NP usually depends on the degree of activity of the pathological process, and its high concentration of NP is one of the main predictors of an unfavorable prognosis.

**The aim of the study.** To investigate the dynamics of clinical signs and inflammatory biomarker Neopterin level in blood serum of rabbits with experimental non-infectious autoimmune uveitis (NAU) considering varying degrees of severity.

**Materials and methods.** The experimental study was conducted on 30 rabbits of the "Chinchilla" breed, which were divided into two main groups (I and II), 15 animals in each. NAU was induced by intravitreal injection of an undiluted normal sterile horse serum to group I rabbits, while group II animals received diluted with the physiological solution serum in the proportion of 1:2. General sensitization was previously carried out with the same serum injected intravenously.

**Results.** The average level of NP in rabbits before the start of the experiment was  $1.7 \pm 0.2$  nmol/l. It was considered the norm, since there is no information in the literature about the study of NP in healthy rabbits of the "Chinchilla" breed. In the reported research the severity of experimental NAU was estimated due to the concentration of the injected normal sterile horse serum intravitreally. As an additional proof of the development of NAU clinical picture was used the detection of Neopterin concentration in blood serum of rabbits. In both group animals the development of acute inflammation on days 3, 7, 10 and 14 of experiment the NP level was significantly higher compared to control ( $p < 0.05$ ). However, in the I group animals with moderate and severe NAU, the level of NP was significantly higher than that in group II, in which uveitis was characterized by a mild course. Namely, on the 3rd day of experiment NP concentration in the I group animals was  $5.60 \pm 0.70$  nmol/l, in the group II –  $4.70 \pm 0.60$  nmol/l ( $p < 0.05$ ); on day 7th –  $6.00 \pm 0.20$  nmol/l and  $4.45 \pm 0.30$  nmol/l ( $p < 0.05$ ); on day 10th –  $5.90 \pm 0.40$  nmol/l and  $2.60 \pm 0.40$  nmol/l ( $p < 0.05$ ); on the 14th –  $3.80 \pm 0.40$  nmol/l and  $2.10 \pm 0.10$  nmol/l ( $p < 0.05$ ). On the day 21st, the NP concentration in both group animals did not differ statistically – estimated level  $2.70 \pm 0,30$  nmol/l, ( $p > 0.05$ ) – which apparently encompass the regression of inflammatory changes in the eye.

**Conclusions.** A correlation between the severity of experimental non-infectious autoimmune uveitis with concentration of inflammatory biomarker neopterin in blood serum was investigated in rabbits. NP level in all experimental animals was elevated and statistically different in comparison to NP control levels on days 3rd, 7th, 10th and 14th day of experiment. In the group of animals with a more severe course of uveitis, a significantly higher level of NP was noted compared to animals with a milder course of NAU. This observation confirms the immune response to inflammation and the stability of NP biomarker in blood serum. The dynamics of this biomarker levels in rabbits of two experimental groups has a correlation with the dynamics of clinical changes. Detection of the inflammatory biomarker Neopterin in blood serum can be used as a criterion for assesment the severity of non-infectious autoimmune uveitis, its course and, probably, prognosis.

**Keywords:** experiment, non-infectious autoimmune uveitis, biomarker Neopterin, blood serum.

**Відомості про авторів**

1. Курильців Надія Багратіонівна; Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра офтальмології ФПДО (79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; +38(032)276-97-63); кандидатка медичних наук, доцентка; +38(067)750-68-86; kuryltsivnb@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7633-9663>
2. Зборовська Олександра Володимирівна; ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України», відділ запальної патології ока (65000, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51; +38(048)729-84-35); докторка медичних наук, керівниця відділу запальної патології ока; +38(067)230-55-83; filatoveye@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2906-7367>
3. Величко Людмила Миколаївна; ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України», лабораторія імунологічних досліджень (65000, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51; +38(048)707-24-58); докторка медичних наук, завідувачка лабораторії імунологічних досліджень; +38(098)441-79-28; dokvelichko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-8255-8774>
4. Хирівський Адріан Любомирович; Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра променевої діагностики (79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; +38(032)276-97-63); інтерн 2-го року; +38(093)509-58-70, adrian.lviv98@gmail.com