

**Ольга Гузун***

Кандидат медичних наук, старший науковий співробітник
ДУ «Інститут очних хвороб та тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»
65061, бульв. Французький, 49/51, м. Одеса, Україна
<https://orcid.org/0009-0003-6873-8503>

Людмила Велічко

Доктор медичних наук
ДУ «Інститут очних хвороб та тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»
65061, бульв. Французький, 49/51, м. Одеса, Україна
<https://orcid.org/0009-0008-8485-3698>

Системні біомаркери апоптозу та ендотеліальної активації у патогенезі рубеозу райдужки та іридокорнеального кута при вторинній неоваскулярній глаукомі

Анотація

Мета. Оцінити системні рівні CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54) у пацієнтів із вторинною неоваскулярною глаукомою (НВГ), визначити їх зв'язок із тяжкістю рубеозу райдужки та іридокорнеального кута, а також оцінити роль апоптоз-ендотеліальних порушень у неоваскулярному ремоделюванні переднього сегмента ока.

Матеріали та методи. В одноцентрове перехресне дослідження включено 186 очей із вторинною НВГ (96 – на тлі проліферативної діабетичної ретинопатії та 90 – після оклюзії вен сітківки) і 34 ока контрольної групи. Тяжкість рубеозу оцінювали за шкалою Weiss. Рівні CD95 та ICAM-1 у периферичній крові визначали імуноцитохімічним методом.

Результати дослідження. У пацієнтів із НВГ рівні CD95 та ICAM-1 були достовірно вищими порівняно з контролем ($p < 0,001$). Обидва маркери позитивно корелювали з тяжкістю рубеозу за Weiss (CD95: $rs = 0,46$; ICAM-1: $rs = 0,45$; $p < 0,001$) та рівнем внутрішньоочного тиску. У багатфакторній ordinal logistic regression моделі CD95 та ICAM-1 залишалися незалежно асоційованими з більш тяжким рубеозом після корекції на етіологію та внутрішньоочний тиск (CD95: OR = 2,31; 95 % CI 1,27-4,18; $p = 0,006$; ICAM-1: OR = 2,48; 95 % CI 1,56-3,95; $p < 0,001$). ROC-аналіз показав помірну дискримінаційну здатність маркерів щодо виявлення клінічно значущого рубеозу (Weiss $\geq$ II): AUC = 0,729 для CD95 та AUC = 0,730 для ICAM-1. Порогові значення становили 687 кл/мкл та 542 кл/мкл відповідно.

Висновок. CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54) асоціюються з тяжкістю рубеозу при вторинній НВГ і можуть розглядатися як системні біомаркери неоваскулярного ремоделювання та стратифікації ризику прогресування захворювання.

Ключові слова: CD95 (Fas); ICAM-1 (CD54); ангиогенез; неоваскулярне ремоделювання; ендотеліальна дисфункція; апоптоз; стратифікація ризику

ВСТУП

Вторинна неоваскулярна глаукома належить до найбільш тяжких форм глаукомного ураження ока та залишається однією з провідних причин необоротної втрати зору у пацієнтів з ішемічними захворюваннями сітківки. Найчастіше захворювання розвивається на тлі проліферативної діабетичної

ретинопатії (ПДР) та оклюзії вен сітківки (ОВС), для яких характерні хронічна тканинна гіпоксія, активація ангиогенезу та формування патологічних новоутворених судин у передньому/задньому сегменті ока. Рубеоз райдужки та іридокорнеального кута є ключовими клінічними проявами цього

Приклад цитування:

Гузун О, Велічко Л. Системні біомаркери апоптозу та ендотеліальної активації у патогенезі рубеозу райдужки та іридокорнеального кута при вторинній неоваскулярній глаукомі. Med Sci Ukr. 2026;22(2):14–23. DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2026.02>

*Автор-кореспондент (olga.v.guzun@gmail.com)



процесу, оскільки саме вони визначають подальше прогресування офтальмогіпертензії та формування рефрактерної глаукоми. Незважаючи на впровадження інгібіторів судинного ендотеліального фактора росту (vascular endothelial growth factor, VEGF) та сучасних лазерних технологій, клінічний перебіг захворювання залишається вкрай варіабельним, що свідчить про залучення додаткових патофізіологічних механізмів, які виходять за межі локального ангіогенного процесу.

S. Gerçeker Demircan & A. Şanal Doğan [1] у сучасному огляді НВГ підкреслили, що клінічний перебіг захворювання визначається складною взаємодією ретинальної ішемії, патологічного ангіогенезу, запалення та ремоделювання тканин переднього сегмента ока. S. Senthil *et al.* [2] зазначили, що прогресування рубеозу райдужки та неоваскуляризації кута передньої камери залежить не лише від VEGF-опосередкованих механізмів, але й від супутньої активації запальних і судинних сигнальних шляхів, які впливають на тяжкість перебігу захворювання та результати лікування. D. Urbonavičiūtė *et al.* [3] також показали, що неоваскулярна глаукома має багатокомпонентний патогенез, у якому ішемія, ангіогенез, запалення та фіброзно-судинне ремоделювання формують єдиний патологічний каскад.

Особливу увагу привертає роль ендотеліальної активації як одного з ключових механізмів неоваскулярного ремоделювання. M. Lendzioszek *et al.* [4], аналізуючи сучасні уявлення про патогенез ОВГ, показали, що ішемічне ушкодження супроводжується активацією прозапальних сигнальних шляхів, порушенням ендотеліального гомеостазу та ремоделюванням судинної стінки. Автори підкреслили, що ендотеліальна дисфункція є не лише наслідком ретинальної ішемії, але й активним учасником подальшого прогресування патологічного процесу. J. Tang & T.S. Kern [5] відзначили, що хронічна ретинальна гіпоксія стимулює продукцію VEGF та інших проангіогенних медіаторів, які підтримують розвиток рубеозу райдужки, неоваскуляризацію іридокорнеального кута та патологічне судинне ремоделювання.

Значний інтерес у цьому аспекті становить молекула міжклітинної адгезії ICAM-1 (CD54), яка відображає активацію ендотелію та посилення лейкоцитарно-ендотеліальної взаємодії. D.R. Yang *et al.* [6] у комплексному огляді судинних ускладнень цукрового діабету показали, що ендотеліальна дисфункція супроводжується підвищенням експресії молекул адгезії, зокрема ICAM-1, розвитком мікросудинного запалення та порушенням судинного гомеостазу. Автори підкреслили, що активація ендотелію є важливим механізмом прогресування судинного ремоделювання та тканинної ішемії. Аналогічні результати дослідження отримали

S.F. Abcouwer [7], де активація прозапальних цитокінів і адгезивних молекул є важливою складовою ішемічного ушкодження сітківки та патологічного ангіогенезу, сприяючи підтриманню хронічного запалення і судинного ремоделювання.

Паралельно з ендотеліальною активацією важливе значення мають апоптоз-асоційовані механізми. L. Hu *et al.* [8] показали, що система CD95 (Fas) є не лише одним із ключових регуляторів програмованої клітинної смерті, але й бере участь у підтриманні запалення, міжклітинної сигналізації та тканинного ремоделювання. Автори підкреслили, що Fas-опосередковані сигнальні шляхи можуть впливати на перебіг хронічних судинно-запальних захворювань через поєднання апоптотичних та імунорегуляторних ефектів. Такі дані розширюють уявлення про можливу роль CD95 не лише як маркера клітинного ушкодження, але і як потенційного учасника патологічного ангіогенезу та неоваскулярного ремоделювання тканин.

C. Mishra & J.J. Meyer [9], аналізуючи механізми неоваскуляризації райдужки, дійшли висновку, що взаємодія ішемії, запалення, ендотеліальної активації та тканинного ремоделювання формує біологічне підґрунтя прогресування рубеозу. Автори підкреслили необхідність пошуку системних біомаркерів, здатних відображати активність цих процесів. У роботі O.V. Guzun *et al.* [10] було показано, що підвищені рівні ICAM-1 асоціюються з тяжчим перебігом діабетичної НВГ та менш сприятливою відповіддю на лікування. В іншому дослідженні E. Doğan *et al.* [11] встановили підвищення системних запальних біомаркерів, зокрема NLR, SII та TuG, у пацієнтів із неоваскулярною глаукомою, що підтвердило доцільність подальшого вивчення системних біологічних механізмів розвитку та прогресування захворювання.

Незважаючи на накопичені дані щодо ролі запалення, ендотеліальної дисфункції та апоптозу при ішемічних захворюваннях ока, взаємозв'язок між системними рівнями CD95 (Fas), ICAM-1 (CD54) та тяжкістю рубеозу райдужки й іридокорнеального кута при вторинній НВГ залишається недостатньо вивченим. Це обумовлює необхідність подальшого дослідження системних механізмів неоваскулярного ремоделювання переднього сегмента ока та пошуку біомаркерів, здатних відображати біологічну активність рубеозу і тяжкість перебігу захворювання. Тому метою дослідження було кількісно оцінити системні рівні CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54) у пацієнтів із вторинною неоваскулярною глаукомою на тлі проліферативної діабетичної ретинопатії та оклюзії вен сітківки, визначити їхній зв'язок із тяжкістю рубеозу райдужки та іридокорнеального кута, а також оцінити можливу роль системних апоптоз-ендотеліальних порушень у неоваскулярному ремоделюванні переднього сегмента ока.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дизайн дослідження та етичні аспекти. Було проведено одноцентрове перехресне обсерваційне дослідження, до якого було включено 186 пацієнтів (186 очей) із вторинною неоваскулярною глаукомою. Робота проводилася на базі Державної установи «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» протягом 2018-2024 років. Дослідження виконано відповідно до World Medical Association Declaration of Helsinki [12] та стандартів International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use [13] та схвалено комісією з біоетики ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова» (протокол №4, 2024). Усі учасники надали письмову інформовану згоду. Дані були деперсоналізовані відповідно до вимог конфіденційності. Маніпуляції не виходили за межі стандартної офтальмологічної практики.

Учасники та групи. До дослідження було включено 186 очей із НВГ: 96 – НВГ на тлі проліферативної діабетичної ретинопатії (НВГ/ПДР) та 90 – НВГ після оклюзії вен сітківки (НВГ/ОВС). Контрольну групу становили 34 ока осіб відповідного віку без рубеозу райдужки та глаукоми. Критерії включення: підтверджений діагноз НВГ на тлі ПДР або ОВС; наявність рубеозу райдужки; неконтрольований внутрішньоочний тиск (ВОТ) ≥ 30 мм рт. ст. Критерії виключення: вторинна НВГ іншого генезу; тяжка загальносоматична патологія, що могла впливати на імунні показники; відсутність клінічних ознак неоваскуляризації переднього сегмента.

Клінічне обстеження. Усім учасникам виконували стандартне офтальмологічне обстеження (візометрія, біомікроскопія, офтальмоскопія, гоніоскопія). ВОТ вимірювали апланацийною тонометрією за Голдманом. Ступінь неоваскуляризації райдужної оболонки оцінювали за класичною шкалою Weiss (1971), яка включає чотири стадії: Стадія I – розсіяні неоваскулярні судини, розташовані поблизу краю зіниці; Стадія II – неоваскулярна проліферація, що поширюється на середню периферію райдужної оболонки; Стадія III – судинна мережа, пов'язана з передніми синехіями та неповним закриттям кута; Стадія IV –

щільна неоваскулярна мережа з передніми синехіями та повним закриттям кута райдужної оболонки [14]. Пацієнтів зі стадією Weiss IV у досліджуваній когорті не було. Шкалу (Weiss $\geq$ II) використовували як кількісну міру клінічно значущого рубеозу.

Визначення біомаркерів. У зразках периферичної венозної крові визначали експресію CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54) на лімфоцитах методом непрямой імунофлюоресценції з використанням моноклональних антитіл до відповідних антигенів (Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна). Для візуалізації імунологічної реакції застосовували флюоресцеїнізотіюанат (ФІТЦ) того ж виробника. Лімфоцитарну суспензію отримували шляхом центрифугування периферичної крові на градієнті густини фіколу (1,076 г/см³; Сіместа, Україна) з подальшим дворазовим відмиванням клітин. Після приготування та фіксації мазків проводили інкубацію зі специфічними моноклональними антитілами, промивання та подальшу інкубацію з ФІТЦ протягом 3 годин. Після завершення промивання препарати досліджували за допомогою флуоресцентного мікроскопа iSCOPE (Euromex, Нідерланди). Під час аналізу визначали частку позитивно забарвлених клітин серед 100 лімфоцитів. Для стандартизації результатів отримані значення перераховували в абсолютну кількість CD95⁺ та CD54⁺ клітин на 1 мкл периферичної крові (клітин/мкл) з урахуванням абсолютної кількості лімфоцитів у загальному аналізі крові. Усі дослідження виконувалися в одній лабораторії за уніфікованим протоколом із використанням однакових реагентів та умов аналізу [15].

Кінцеві точки. Первинною кінцевою точкою була тяжкість рубеозу райдужки та іридокорнеального кута за шкалою Weiss як порядкова клінічна характеристика активності неоваскулярного процесу. Вторинною – наявність клінічно значущого рубеозу (Weiss $\geq$ II) для ROC-аналізу та стратифікації активності неоваскулярного процесу. Клінічні характеристики та рівні біомаркерів у пацієнтів із неоваскулярною глаукомою та в контрольній групі представлені в Таблиці 1.

Таблиця 1. Клінічні характеристики та рівні біомаркерів у пацієнтів із неоваскулярною глаукомою та в контрольній групі

Параметри	НВГ/ПДР (n = 96)	НВГ/ОВС (n = 90)	Контроль (n = 34)
	Me (Q1-Q3), n (%)		
Чоловік/жінка	42 (44 %) / 54 (56 %)	40 (44 %) / 50 (56 %)	13 (38 %) / 21 (62 %)
Вік, роки	66 (62-68.5)* ‡	63 (61-66)	63.5 (60-66)
Внутрішньоочний тиск, мм рт. ст.	36 (33-40)*	34 (33-40)*	15 (14-17)
Рубеоз райдужної оболонки (Weiss)			
● I ступінь	50 (52 %)	52 (58 %)	–
● II ступінь	28 (29 %)	29 (32 %)	–
● III ступінь	18 (19 %)	9 (10 %)	–

Таблиця 1. Продовження

Параметри	НВГ/ПДР (n = 96)	НВГ/ОВС (n = 90)	Контроль (n = 34)
	Me (Q1-Q3), n (%)		
CD95 (Fas), клітин/мкл	653 (610-832)*	612 (553-691)*	263.5 (220-283)
ICAM-1 (CD54), клітин/мкл	373 (345-566)*	368 (339-542)*	190.5 (186-197)
Тривалість ПДР/ ОВС, місяці	132 (84-168)* ‡	15 (12-18)*	–
Серцево-судинні захворювання	56 (58 %)*	53 (59 %)*	15 (44 %)

Примітки: дані подані як медіана (міжквартильний інтервал) або кількість (%). * – $p < 0,05$ між контролем та групою ПДР/ОВС; ‡ – $p < 0,05$ між групою НВГ/ПДР та НВГ/ОВС на відповідній стадії Weiss. НВГ – неоваскулярна глаукома; ПДР – проліферативна діабетична ретинопатія; ОВС – оклюзія вен сітківки; ICAM-1 – міжклітинна адгезійна молекула-1. Рівні CD95 та ICAM-1 наведені як абсолютна кількість позитивних лімфоцитів на мікролітр периферичної крові

Джерело: розроблено авторами

Статистичну обробку виконували у програмному середовищі JASP (версія 0.19.2) та Python. Нормальність розподілу біомаркерів була відхилена за тестом Shapiro-Wilk (CD95: $p < 0,001$; ICAM-1: $p < 0,001$), що обґрунтовує застосування непараметричних методів (Mann-Whitney для міжгрупових порівнянь, для багатогрупових порівнянь – критерій Kruskal-Wallis та коефіцієнта Spearman (r_s) для кореляцій). Кількісні змінні подавали як медіану та міжквартильний розмах (Q1-Q3). Для забезпечення статистичної незалежності спостережень від кожного пацієнта до аналізу включали лише одне око. У випадках двобічного ураження для дослідження відбирали око з більш вираженими проявами рубеозу райдужки та іридокорнеального кута за шкалою Weiss.

Для визначення незалежних предикторів тяжкості рубеозу виконували багатофакторний регресійний аналіз з корекцією на етіологію НВГ (ПДР/ОВС) та ВОТ. Діагностичну здатність CD95 та ICAM-1 щодо клінічно значущого рубеозу (Weiss $\geq$ II) оцінювали за допомогою ROC-аналізу з розрахунком площі під кривою (AUC), оптимального порогового значення за Youden index, чутливості та специфічності. Для виявлення дозалежних ефектів виконували квартильний аналіз із розрахунком частоти Weiss $\geq$ II у кожному квартилі. Статистично значущими вважали значення $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Рівні CD95 та ICAM-1 у пацієнтів із НВГ. З огляду на передбачувану роль апоптоз-асоційованих та ендотеліально-запальних механізмів у розвитку неоваскулярного процесу було проведено оцінку системних рівнів CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54). У пацієнтів із НВГ встановлено достовірне підвищення рівнів CD95 та ICAM-1 порівняно з контролем ($p < 0,001$). Найвищі рівні CD95 визначались у групі НВГ/ПДР, що може свідчити про більш виражену активацію апоптоз-асоційованих механізмів при діабетичному ішемічному ураженні. Рівні ICAM-1 також були вищими у групах НВГ порівняно з контролем, відображаючи активацію системного ендотеліального запалення.

Асоціація біомаркерів із тяжкістю рубеозу. У загальній когорті НВГ встановлено достовірні позитивні кореляції між тяжкістю рубеозу за Weiss та рівнями біомаркерів: для CD95 $r_s = 0,46$, для ICAM-1 $r_s = 0,45$ (обидва $p < 0,001$). Також виявлено значущі зв'язки з ВОТ: CD95 $r_s = 0,58$ та ICAM-1 $r_s = 0,61$ ($p < 0,001$).

Багатофакторний аналіз. У багатофакторному ordinal logistic regression аналізі встановлено, що підвищення рівнів CD95 та ICAM-1 було незалежно асоційоване з більш тяжким рубеозом райдужки. Найбільш виражений зв'язок визначався для ICAM-1 (OR = 2,48; 95 % CI 1,56-3,95; $p < 0,001$) (Таблиця 2), що свідчить про важливу роль ендотеліальної активації та судинного запалення у формуванні неоваскулярного ремоделювання переднього сегмента ока.

Таблиця 2. Багатофакторний ordinal logistic regression аналіз асоціації CD95 та ICAM-1 із клінічно значущим рубеозом (Weiss $\geq$ II) при вторинній НВГ

Показник	β	SE	OR (95 % CI)	Wald χ^2	p
CD95	0,84	0,31	2,31 (1,27-4,18)	7,41	0,006
ICAM-1 (CD54)	0,91	0,24	2,48 (1,56-3,95)	14,36	<0,001
ВОТ	0,07	0,03	1,07 (1,01-1,14)	5,12	0,024
НВГ/ПДР (проти НВГ/ОВС)	0,42	0,28	1,52 (0,88-2,64)	2,21	0,137
Серцево-судинна патологія	0,29	0,25	1,34 (0,82-2,20)	1,37	0,241

Примітки: залежна змінна: ступінь рубеозу за Weiss; OR – odds ratio; CI – довірчий інтервал; НВГ – неоваскулярна глаукома; ВОТ – внутрішньоочний тиск; ПДР – проліферативна діабетична ретинопатія; ОВС – оклюзія вен сітківки

Джерело: розроблено авторами

Підвищення CD95 також асоціювалося зі зростанням ймовірності тяжкості рубеозу ($OR = 2,31$; $95\% \text{ CI } 1,27-4,18$; $p = 0,006$), відображаючи участь апоптоз-асоційованої сигналізації у прогресуванні ішемічно-репаративних процесів. Після корекції на ВОТ, етіологію НВГ та супутню серцево-судинну патологію етіологічний фактор (ПДР/ОВС) втрачав статистичну значущість, що може свідчити про більшу

роль системної біологічної активності процесу порівняно з нозологічною належністю захворювання.

Стратифікація клінічно значущого рубеозу.

ROC-аналіз продемонстрував співставну дискримінаційну здатність CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54) щодо виявлення клінічно значущого рубеозу ($Weiss \geq II$) у пацієнтів із вторинною неоваскулярною глаукомою (Рис. 1).

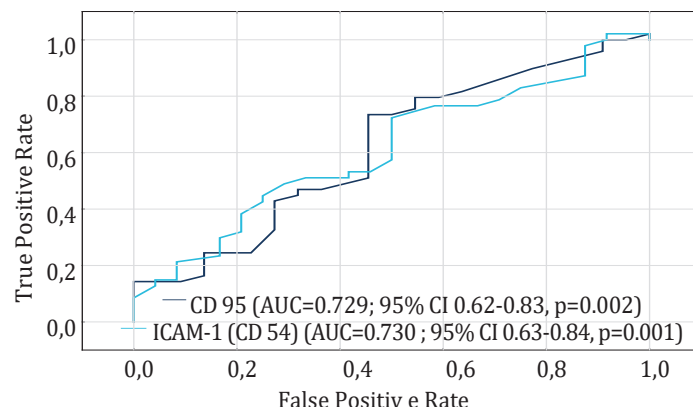


Рисунок 1. ROC-криві для диференціації клінічно значущого рубеозу ($Weiss \geq II$)

Примітки: криві робочих характеристик приймача (ROC), що показують діагностичну ефективність CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54) для виявлення клінічно значущого рубеозу райдужної оболонки ($Weiss \geq II$) у пацієнтів з неоваскулярною глаукомою. Діагональна пунктирна лінія свідчить про випадковий рівень

Джерело: розроблено авторами

Рисунок 1 демонструє, що площі під ROC-кривими становили 0,729 для CD95 та 0,730 для ICAM-1, це відповідає помірній прогностичній точності обох маркерів. Близькі значення AUC свідчать про порівнянний внесок апоптоз-асоційованих та ендотеліально-запальних механізмів у прогресування неоваскулярних змін переднього сегмента ока. Додатково було виконано непараметричний ранговий аналіз Kruskal-Wallis для оцінки зв'язку рівнів біомаркерів із градаціями рубеозу за шкалою Weiss у когорті НВГ ($n = 186$). Для CD95 виявлено високодостовірні міжгрупові відмінності між ступенями рубеозу ($H(2) = 43,149$; $p < 0,001$): середні ранги послідовно зростали від Weiss I ($n = 102$; середній ранг 74,26) до Weiss II ($n = 57$; 101,57) і Weiss III ($n = 27$; 149,13), що відображає монотонне підвищення рівнів CD95 зі зростанням тяжкості неоваскулярних змін. Аналогічну градієнтну залежність продемонстрував ICAM-1 (CD54): $H(2) = 42,30$; $p < 0,001$, із середніми рангами 74,20 для Weiss I ($n = 102$), 102,23 для Weiss II ($n = 57$)

та 147,98 для Weiss III ($n = 27$). Отримані результати підтверджують дозозалежний характер асоціації CD95 та ICAM-1 зі ступенем рубеозу та узгоджуються з даними регресійного аналізу, додатково підкреслюючи їхню патогенетичну значущість у формуванні активної неоваскуляризації переднього сегмента. Рівні біомаркерів прогресивно зростали зі збільшенням тяжкості рубеозу райдужки ($p\text{-trend} < 0,001$).

Для стратифікації клінічно значущого рубеозу ($Weiss \geq II$) було виконано ROC-аналіз із розрахунком оптимальних порогових значень за Youden index. Для CD95 оптимальний cut-off становив 687 кл/мкл, що відповідало чутливості 63,1 % та специфічності 83,3 % при площі під кривою $AUC = 0,729$. Для ICAM-1 (CD54) оптимальний cut-off дорівнював 542 кл/мкл із чутливістю 59,5 % та специфічністю 85,3 % при $AUC = 0,730$. Отримані показники підтверджують клінічну придатність обох маркерів для кількісної ідентифікації клінічно значущого рубеозу (Таблиця 3).

Таблиця 1. Оптимальні порогові значення (Youden index) та діагностична ефективність CD95 і ICAM-1

Біомаркер	AUC (95 % CI)	Оптимальний поріг (Youden)	Чутливість, %	Специфічність, %
CD95 (Fas)	0,729 (0,62-0,83)	687,0	63,1	83,3
ICAM-1 (CD54)	0,730 (0,63-0,84)	542,0	59,5	85,3

Примітки: значення отримано за результатами ROC-аналізу для диференціації клінічно значущого рубеозу райдужки ($Weiss \geq II$). Оптимальні порогові значення визначалися за Youden index ($J = \text{чутливість} + \text{специфічність} - 1$). AUC – площа під ROC-кривою

Джерело: розроблено авторами

При квартильному аналізі встановлено дозозалежне зростання частоти тяжкого рубеозу райдужки зі збільшенням рівнів CD95 та ICAM-1. Частка пацієнтів із рубеозом Weiss II-III зростала від 12,5 % у найнижчому квартилі CD95 до 71,2 % у найвищому

квартилі. Аналогічна тенденція спостерігалась для ICAM-1 – від 15,1 % до 74,5 % відповідно. Отримані результати свідчать про градієнтне посилення неоваскулярної активності при зростанні системної апоптоз-ендотеліальної сигналізації (Рис. 2).

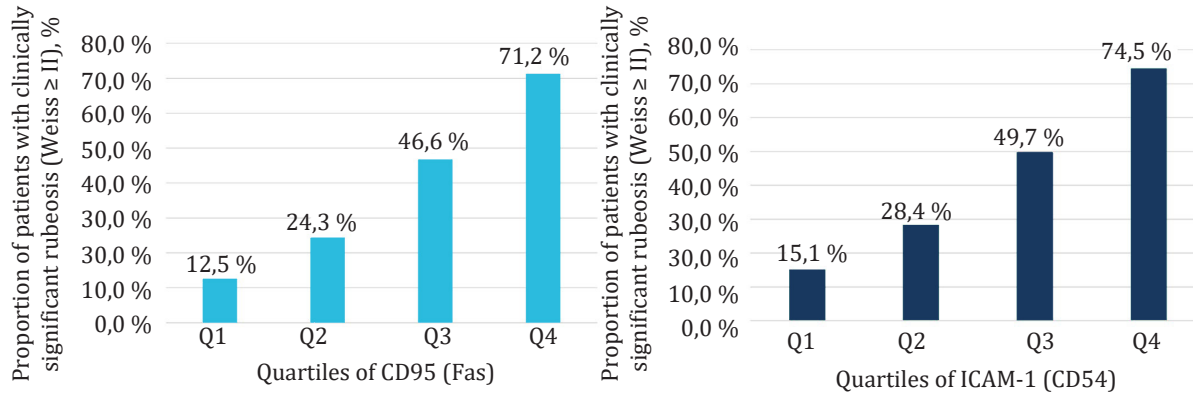


Рисунок 2. Частота клінічно значущого рубеозу Weiss $\geq$ II залежно від квартилів рівнів CD95 (a) та ICAM-1 (CD54) (b)

Примітки: Q1 – найнижчий квартиль (25 % пацієнтів із найнижчими значеннями маркера); Q4 – найвищий квартиль (25 % пацієнтів із найвищими значеннями маркера). Виявлено статистично значущий дозозалежний тренд для обох біомаркерів (p -trend < 0,001)

Джерело: розроблено авторами

Квартильний аналіз продемонстрував чіткий дозозалежний зв'язок між рівнями CD95 (Fas), ICAM-1 (CD54) та частотою клінічно значущого рубеозу (Weiss $\geq$ II) (Рис. 2). У міру переходу від найнижчого квартиля (Q1) до найвищого (Q4) спостерігалось послідовне зростання частоти виражених неоваскулярних змін переднього сегмента ока для обох біомаркерів. Найвищі показники рубеозу реєструвалися у пацієнтів із рівнями CD95 та ICAM-1, що відповідали четвертому квартилю, тоді як у групах із найнижчими концентраціями маркерів частота клінічно значущого рубеозу була мінімальною. Статистично значущий тренд (p -trend < 0,001) підтверджує наявність градієнтного зв'язку між посиленням системної апоптоз-ендотеліальної активації та прогресуванням неоваскулярного процесу. Отримані дані свідчать, що підвищення рівнів CD95 та ICAM-1 асоціюється з більш високою біологічною активністю рубеозу райдужки та іридокорнеального кута і може відображати наростання патологічного неоваскулярного ремоделювання при вторинній НВГ.

Отримані результати свідчать про важливу роль системної апоптоз-ендотеліальної активації у формуванні та прогресуванні рубеозу райдужки й іридокорнеального кута при вторинній неоваскулярній глаукомі. Відомо, що розвиток НВГ є наслідком складної взаємодії ретинальної ішемії, патологічного ангиогенезу, запалення та ремоделювання тканин переднього сегмента ока [1, 2]. Хронічна гіпоксія сітківки стимулює продукцію VEGF та інших

проангіогенних медіаторів, які підтримують формування рубеозу райдужки та неоваскуляризацію кута передньої камери [3, 5]. Однак сучасні уявлення про патогенез НВГ виходять за межі виключно VEGF-залежних механізмів і передбачають участь ендотеліальної дисфункції, системного запалення та імунної активації [4].

У проведеному дослідженні системні маркери ендотеліальної активації (ICAM-1/CD54) та апоптозу (CD95/Fas) були не лише достовірно підвищені у пацієнтів із вторинною НВГ, але й незалежно асоційовані з тяжкістю рубеозу. При цьому після корекції на внутрішньоочний тиск та етіологію захворювання обидва показники зберігали статистично значущий зв'язок із вираженістю неоваскулярних змін. Такі результати свідчать, що біологічна активність процесу визначається не лише локальними гемодинамічними змінами або рівнем офальмотонусу, а й системними механізмами судинного та клітинного ремоделювання.

Отримані дані узгоджуються із сучасною концепцією НВГ як мультифакторного судинно-запального захворювання, у якому неоваскуляризація переднього сегмента відображає інтегрований ішемічно-запальний каскад [2, 3]. S. Gerçeker Demircan & A. Şanal Doğan [1] підкреслюють, що клінічний перебіг НВГ визначається не лише ступенем ретинальної ішемії, але й вираженістю запальної відповіді, судинного ремоделювання та ендотеліальної дисфункції. Аналогічно, M. Lendzioszek *et al.* [4] розглядають ендотеліальну дисфункцію як один із ключових

механізмів підтримання ішемічно-неоваскулярного процесу при судинних захворюваннях сітківки.

Особливу увагу привертає ICAM-1 (CD54) як маркер активації ендотелію та міжклітинної адгезії. D.R. Yang *et al.* [6] показали, що при діабетичній мікроангіопатії ендотеліальна дисфункція супроводжується підвищенням експресії ICAM-1, розвитком мікросудинного запалення та порушенням судинного гомеостазу. S.F. Abscouwer [7] також наголошує на важливій ролі адгезивних молекул у підтриманні ішемічного запалення та патологічного ангіогенезу. Отримані результати підтверджують ці спостереження, оскільки незалежний зв'язок ICAM-1 із тяжкістю рубеозу зберігався навіть після врахування внутрішньоочного тиску. Додатковим підтвердженням цього є дані K. Siddiqui *et al.* [16] і метааналіз Y. Yao *et al.* [17], які продемонстрували системне підвищення рівнів ICAM-1 при діабетичній ретинопатії та інших ішемічних ретинальних захворюваннях. Отримані результати також узгоджуються з попередніми даними авторів, які продемонстрували асоціацію підвищених рівнів ICAM-1 із тяжчим клінічним перебігом діабетичної неоваскулярної глаукоми та менш сприятливою відповіддю на лікування [10]. Сукупність цих спостережень свідчить, що ендотеліальна активація є не лише маркером ішемічного ушкодження, але й потенційним компонентом прогресування неоваскулярного процесу.

Отримані результати також добре узгоджуються з даними щодо локального цитокінового мікросередовища при НВГ. S. Ohira *et al.* [18] продемонстрували значне підвищення рівнів IL-6, IL-8, CCL2, TNF- α та VEGF у водянистій волозі очей із НВГ, яке частково зберігалось навіть після анти-VEGF терапії. T. Kokubun *et al.* [19] виявили характерні профілі прозапальних цитокінів у пацієнтів із різними формами глаукоми, включно з НВГ. Ці дані свідчать, що порушення відтоку водянистої вологи при НВГ слід розглядати не лише як механічний наслідок неоваскуляризації, а і як прояв персистуючого запально-ендотеліального ремоделювання тканин переднього сегмента ока.

Поряд із ендотеліальною активацією важливу роль у формуванні неоваскулярного фенотипу відіграють апоптоз-асоційовані механізми. K. Seyrek *et al.* [20] і L. Hu *et al.* [8] показали, що система CD95/Fas є багатофункціональною сигнальною платформою, яка регулює не лише програмовану клітинну смерть, але й процеси запалення, клітинного виживання та тканинного ремоделювання. За умов хронічного ушкодження тканин активація CD95 може супроводжуватися залученням неапоптотичних сигнальних шляхів, включаючи NF- κ B, MAPK та PI3K/Akt, що підтримують прозапальне мікросередовище та патологічне ремоделювання. Виявлене у дослідженні підвищення системних рівнів CD95 у пацієнтів із більш тяжким рубеозом узгоджується з

цими уявленнями та свідчить про можливу участь Fas-опосередкованої сигналізації у підтриманні неоваскулярного процесу.

M. Lendzioszek *et al.* [4] відзначили, що ішемічні захворювання сітківки супроводжуються складною взаємодією гіпоксії, запалення, ендотеліальної дисфункції та судинного ремоделювання. Автори підкреслили, що прогресування ретиальної ішемії асоціюється з активацією прозапальних і проангіогенних сигнальних шляхів, які здатні підтримувати неоваскулярний процес навіть після усунення первинного судинного ушкодження. Отримані результати узгоджуються з цими уявленнями та свідчать про можливий внесок системних механізмів у підтримання патологічного ангіогенезу при вторинній НВГ. Додатковим підтвердженням ролі системного запалення є результати E.W. Böhm *et al.* [21], які встановили зв'язок між підвищеними показниками системного запалення та тяжкістю клінічних проявів оклюзії вен сітківки, а також їхнім впливом на функціональні результати захворювання. Вищі рівні ICAM-1 і CD95 при НВГ на тлі проліферативної діабетичної ретинопатії порівняно з постоклюзійною НВГ можуть відображати хронічний системний характер діабетичної мікроангіопатії, що супроводжується тривалою ендотеліальною активацією та запаленням [6, 10]. Подібні висновки отримали M. Kozman *et al.* [22], які показали, що ризик розвитку НВГ при проліферативній діабетичній ретинопатії визначається не лише локальною ішемією сітківки, а й системними метаболічними факторами, включаючи недостатній глікемічний контроль та супутні прояви діабетичної мікроангіопатії. Натомість при оклюзіях вен сітківки більшою мірою домінують гострі ішемічні та VEGF-опосередковані механізми [5].

Дозозалежний зв'язок CD95 та ICAM-1 із тяжкістю рубеозу підтверджує системний характер патологічних процесів, що лежать в основі неоваскулярного ремоделювання переднього сегмента ока при вторинній НВГ. Сукупність отриманих результатів свідчить про доцільність включення маркерів апоптозу та ендотеліальної активації до комплексної оцінки пацієнтів для підвищення об'єктивності прогнозування перебігу захворювання та обґрунтування персоналізованих лікувальних стратегій.

ВИСНОВКИ

1. У пацієнтів із вторинною НВГ встановлено достовірне підвищення системних рівнів CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54) порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$), що свідчить про активацію апоптоз-асоційованих та ендотеліально-запальних механізмів при неоваскулярному ремоделюванні переднього сегмента ока. В роботі виявлено достовірний позитивний зв'язок рівнів обох біомаркерів із тяжкістю рубеозу райдужки та іридокорнеального кута за шкалою Weiss, а також із рівнем внутрішньоочного

тиску, що підтверджує їхню асоціацію з активністю неоваскулярного процесу.

2. У багатофакторному ordinal logistic regression аналізі CD95 та ICAM-1 залишалися незалежними предикторами більш тяжкого рубеоу після корекції на етіологію захворювання та внутрішньоочний тиск (для CD95: OR = 2,31; 95 % CI 1,27-4,18; $p = 0,006$; для ICAM-1: OR = 2,48; 95 % CI 1,56-3,95; $p < 0,001$), що свідчить про самостійний внесок апоптоз-ендотеліальних механізмів у прогресування неоваскулярних змін. ROC-аналіз продемонстрував помірну дискримінаційну здатність обох маркерів щодо виявлення клінічно значущого рубеоу (AUC = 0,729 для CD95 та AUC = 0,730 для ICAM-1), а визначені порогові значення 687 кл/мкл та 542 кл/мкл відповідно можуть бути використані для стратифікації ризику тяжкого перебігу захворювання.

3. Квартильний аналіз виявив статистично значущий дозозалежний зв'язок між зростанням рівнів CD95 та ICAM-1 і частотою клінічно значущого рубеоу ($p\text{-trend} < 0,001$), що додатково підтверджує роль системної апоптоз-ендотеліальної активації у патогенезі вторинної НВГ. Отримані результати свідчать про доцільність використання CD95 та ICAM-1 як додаткових біомаркерів для оцінки біологічної активності рубеоу, об'єктивізації ризику прогресування захворювання та вдосконалення персоналізованих підходів до ведення пацієнтів.

4. Перспективним напрямом подальших досліджень є вивчення прогностичної цінності цих

біомаркерів у довготривалому спостереженні та їх інтеграція до багатофакторних моделей прогнозування перебігу і результатів лікування вторинної НВГ.

ПОДЯКИ

Автори висловлюють щиру подяку заступнику директора з наукової роботи ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України», доктору медичних наук Олегу Задорожному за наукове консультування, цінні методологічні рекомендації та підтримку на всіх етапах виконання дослідження. Його професійний досвід, критичний аналіз отриманих результатів і наукові поради сприяли вдосконаленню дизайну дослідження, статистичної обробки даних та інтерпретації отриманих результатів. Автори також висловлюють щиру подяку кандидату біологічних наук Олександрі Богдановій за проведення імунологічних досліджень, методичну допомогу при визначенні експресії CD95 (Fas) та ICAM-1 (CD54), а також за високий професіоналізм під час виконання лабораторного етапу роботи. Її участь забезпечила належну якість і відтворюваність отриманих імунологічних даних, що стали важливою складовою представленого дослідження.

ФІНАНСУВАННЯ

Немає.

КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Немає.

ДЖЕРЕЛА

- [1] Gerçeker Demircan S, Şanal Doğan A. Neovascular glaucoma: Comprehensive evaluation of etiology, treatment modalities, and visual prognosis. *BMC Ophthalmol.* 2025;25:540. DOI: [10.1186/s12886-025-04389-x](https://doi.org/10.1186/s12886-025-04389-x)
- [2] Senthil S, Dada T, Das T, Kaushik S, Puthuran GV, Philip R, et al. Neovascular glaucoma – a review. *Indian J Ophthalmol.* 2021;69(3):525–34. DOI: [10.4103/ijo.ijo_1591_20](https://doi.org/10.4103/ijo.ijo_1591_20)
- [3] Urbonavičiūtė D, Buteikienė D, Janulevičienė I. A review of neovascular glaucoma: Etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Medicina.* 2022;58(12):1870. DOI: [10.3390/medicina58121870](https://doi.org/10.3390/medicina58121870)
- [4] Lendzioszek M, Bryl A, Poppe E, Zorena K, Mrugacz M. Retinal vein occlusion-background knowledge and foreground knowledge prospects – a review. *J Clin Med.* 2024;13(13):3950. DOI: [10.3390/jcm13133950](https://doi.org/10.3390/jcm13133950)
- [5] Tang J, Kern TS. Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res.* 2011;30(5):343–58. DOI: [10.1016/j.preteyeres.2011.05.002](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2011.05.002)
- [6] Yang DR, Wang MY, Zhang CL, Wang Y. Endothelial dysfunction in vascular complications of diabetes: A comprehensive review of mechanisms and implications. *Front Endocrinol.* 2024;15:1359255. DOI: [10.3389/fendo.2024.1359255](https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1359255)
- [7] Abcouwer SF. Angiogenic factors and cytokines in diabetic retinopathy. *J Clin Cell Immunol.* 2013;1(11):1–12. DOI: [10.4172/2155-9899](https://doi.org/10.4172/2155-9899)
- [8] Hu L, Lu J, Fan H, Niu C, Han Y, Caiyin Q, et al. FAS mediates apoptosis, inflammation, and treatment of pathogen infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2025;15:1561102. DOI: [10.3389/fcimb.2025.1561102](https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1561102)
- [9] Mishra C, Meyer JJ. *Neovascular glaucoma*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
- [10] Guzun OV, Zadorozhnyy OS, Velychko LM, Bogdanova OV, Dumbrăveanu LG, Cuşnir VV, et al. The effect of the intercellular adhesion molecule-1 and glycated haemoglobin on the management of diabetic neovascular glaucoma. *Rom J Ophthalmol.* 2024;68(2):135–42. DOI: [10.22336/rjo.2024.25](https://doi.org/10.22336/rjo.2024.25)
- [11] Doğan E, Aydemir S, Özata Gündoğdu K, Alagöz G. Assessment of systemic inflammatory biomarkers in neovascular glaucoma. *Ocul Immunol Inflamm.* 2025;33(9):2022–8. DOI: [10.1080/09273948.2025.2547909](https://doi.org/10.1080/09273948.2025.2547909)
- [12] World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191–4. DOI: [10.1001/jama.2013.281053](https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053)

- [13] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). [ICH Harmonised Guideline E6\(R3\): Guideline for Good Clinical Practice](#). Geneva: ICH; 2025. 86 P.
- [14] Teich SA, Walsh JB. A grading system for iris neovascularization. Prognostic implications for treatment. *Ophthalmology*. 1981;88(11):1102–6. DOI: [10.1016/s0161-6420\(81\)34900-8](#)
- [15] Velychko LM, Bogdanova OV. [A method for assessing the receptor-modifying effect of pharmacological immunotropic drugs on markers of cell activation](#). Patent of Ukraine № 103483. 2015: 24.
- [16] Siddiqui K, George TP, Mujammami M, Isnani A, Alfadda AA. The association of cell adhesion molecules and selectins (VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, L-selectin, and P-selectin) with microvascular complications in patients with type 2 diabetes: A follow-up study. *Front Endocrinol*. 2023;14:1072288. DOI: [10.3389/fendo.2023.1072288](#)
- [17] Yao Y, Du J, Li R, Zhao L, Luo N, Zhai JY, et al. Association between ICAM-1 level and diabetic retinopathy: A review and meta-analysis. *Postgrad Med J*. 2019;95(1121):162–8. DOI: [10.1136/postgradmedj-2018-136102](#)
- [18] Ohira S, Inoue T, Shobayashi K, Iwao K, Fukushima M, Tanihara H. Simultaneous increase in multiple proinflammatory cytokines in the aqueous humor in neovascular glaucoma with and without intravitreal bevacizumab injection. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56(6):3541–8. DOI: [10.1167/iops.14-15918](#)
- [19] Kokubun T, Tsuda S, Kunikata H, Yasuda M, Himori N, Kunimatsu-Sanuki S, et al. Characteristic profiles of inflammatory cytokines in the aqueous humor of glaucomatous eyes. *Ocul Immunol Inflamm*. 2018;26(8):1177–88. DOI: [10.1080/09273948.2017.1327605](#)
- [20] Seyrek K, Espe J, Reiss E, Lavrik IN. The crosstalk of apoptotic and non-apoptotic signaling in CD95 system. *Cells*. 2024; 13(21):1814. DOI: [10.3390/cells13211814](#)
- [21] Böhm EW, Wolfrum P, Welzel AM, Schuster AK, Wagner FM, Gericke A, et al. Systemic inflammation in retinal vein occlusion and its role in clinical outcomes of secondary macular edema. *J Clin Med*. 2026;15(2):407. DOI: [10.3390/jcm15020407](#)
- [22] Kozman M, Nyalakonda R, Farson L, Hunt M, Chuang A, Movahedan A, et al. [Risk factors associated with neovascular glaucoma in eyes with proliferative diabetic retinopathy](#). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2025;66(8):1660.

Olga Guzun

PhD in Medical Sciences, Senior Research Fellow
 State Institution "The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"
 65061, 49/51 Frantsuzskiy Blvd., Odesa, Ukraine
<https://orcid.org/0009-0003-6873-8503>

Liudmyla Velychko

Doctor of Medical Sciences
 State Institution "The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine"
 65061, 49/51 Frantsuzskiy Blvd., Odesa, Ukraine
<https://orcid.org/0009-0008-8485-3698>

Systemic biomarkers of apoptosis and endothelial activation in the pathogenesis of rubeosis iridis and iridocorneal angle neovascularisation in secondary neovascular glaucoma

Abstract

Aim. To assess systemic levels of CD95 (Fas) and ICAM-1 (CD54) in patients with secondary neovascular glaucoma (NVG), to determine the relationship with the severity of iris rubeosis and the iridocorneal angle, and to evaluate the role of endothelial apoptosis in neovascular remodelling of the anterior segment of the eye.

Materials and methods. A single-centre cross-sectional study included 186 eyes with secondary NVG (96 associated with proliferative diabetic retinopathy and 90 following retinal vein occlusion) and 34 eyes in the control group. The severity of rubeosis was assessed using the Weiss grading scale. CD95 and ICAM-1 levels in peripheral blood were measured using an immunocytochemical method.

Results. In patients with NVG, CD95 and ICAM-1 levels were significantly higher compared with controls ($p < 0.001$). Both markers positively correlated with the severity of rubeosis according to Weiss (CD95: $rs = 0.46$; ICAM-1: $rs = 0.45$; $p < 0.001$) and with intraocular pressure. In a multivariable ordinal logistic regression model, CD95 and ICAM-1 remained independently associated with more severe rubeosis after adjustment for aetiology and intraocular pressure (CD95: OR = 2.31; 95% CI 1.27-4.18; $p = 0.006$; ICAM-1: OR = 2.48; 95% CI 1.56-3.95; $p < 0.001$). ROC analysis demonstrated moderate discriminative ability of the markers for detecting clinically significant rubeosis (Weiss $\geq$ II): AUC = 0.729 for CD95 and AUC = 0.730 for ICAM-1. Cut-off values were 687 cells/ μ L and 542 cells/ μ L, respectively.

Conclusions. CD95 (Fas) and ICAM-1 (CD54) are associated with the severity of rubeosis in secondary NVG and may serve as systemic biomarkers for neovascular remodelling and risk stratification of disease progression.

Keywords: CD95 (Fas); ICAM-1 (CD54); angiogenesis; neovascular remodelling; endothelial dysfunction; apoptosis; risk stratification.