

ОПТОПРОТЕЗИРОВАНИЕ БИПОЛЯРНЫХ КЛЕТОК СЕТЧАТКИ

© 2022 г. А. Ю. Ротов¹, М. Л. Фирсов^{1,*}

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: Michael.Firsov@gmail.com

Поступила в редакцию 10.07.2022 г.

После доработки 16.09.2022 г.

Принята к публикации 17.09.2022 г.

Опыт оптогенетического протезирования сетчатки на животных моделях насчитывает уже более 16 лет, а в последний год появились первые результаты, полученные на человеке. За этот срок стали понятны основные проблемы протезирования, и одновременно были предложены подходы к их решению. В настоящем обзоре мы ставим себе задачу представить достижения в области оптогенетического протезирования биполярных клеток, уделяя внимание в основном относительно недавним публикациям. В обзоре описаны преимущества и недостатки протезирования биполярных клеток по сравнению с альтернативной мишенью — ганглиозными клетками, а также проведен сравнительный анализ эффективности использования в качестве протезирующего инструмента ионотропных светочувствительных белков, каналородопсинов, или метаботропных рецепторов, родопсинов.

Ключевые слова: сетчатка, оптогенетика, каналородопсин, родопсин, протезирование, биполярные клетки, нейродегенеративные заболевания

DOI: 10.31857/S0044452922060092

В последние годы мы наблюдаем ускорение развития протезирующих технологий, призванных хотя бы отчасти возместить утраченные целиком или в значительной степени те или иные сенсорные функции, в первую очередь зрение и слух. Наиболее разработанным и эффективным подходом к протезированию зрения на настоящий момент является имплантация электронного чипа, заменяющего погибшие сенсорные клетки и обеспечивающего сенсорный вход для нейронов сетчатки, переживших патологические процессы. Более 400 операций по имплантации различных протезирующих чипов во всем мире были в основном успешными и обеспечили частичный возврат зрения, позволяя пациентам различать крупные предметы, ориентироваться в пространстве, а в наиболее удачных случаях совершать такие сложные действия, как стрельба из лука и езда на велосипеде [1–3]. Технологическое развитие электронных чипов успешно продолжается более 15 лет, хотя уже сейчас ясно, что основными трудноразрешимыми проблемами этого подхода являются неуклонное глиальное зарастание зоны контактов чипа, что делает невозможным использование его более 1–2 лет, а также очень высокая индивидуальная стоимость процедуры протезирования [3].

Альтернативой электронным имплантам является оптогенетическое протезирование сетчатки. Этот подход становится возможным благодаря тому, что нейродегенеративные процессы затрагива-

ют в основном, и в первую очередь, слой фоторецепторных клеток, оставляя относительно неповрежденными биполярные и ганглиозные клетки. Отсюда следует основная идея оптогенетического подхода к протезированию сетчатки — придание биполярным или ганглиозным клеткам свойства светочувствительности при помощи генетических манипуляций. К настоящему времени опыт оптогенетического протезирования сетчатки на животных моделях насчитывает уже более 16 лет, а в последний год появились первые результаты, полученные на человеке. За этот срок стали понятны основные проблемы протезирования, и одновременно были предложены подходы к их решению (данные обобщены в [4–8]). В настоящем обзоре мы ставим себе задачу представить достижения в области оптогенетического протезирования биполярных клеток. Мы опишем преимущества и недостатки протезирования биполярных клеток по сравнению с альтернативной мишенью — ганглиозными клетками, а также проведем сравнительный анализ эффективности использования в качестве протезирующего инструмента ионотропных светочувствительных белков, каналородопсинов, или метаботропных рецепторов, родопсинов.

Животные модели и методы регистрации

За последние несколько лет не произошло какого-либо заметного изменения репертуара модель-

ных животных, используемых в экспериментах по созданию технологий оптогенетического протезирования. Основными животными линиями по-прежнему являются мыши с фенотипом rd (retinal degeneration) с различным генетическим фоном — линии rd1—rd19, имеющие нарушения в работе генов, регулирующих фототрансдукцию, зрительный цикл, клеточный метаболизм или биосинтез белка [9]. Наиболее часто используемая в экспериментах линия rd1 имеет мутацию в гене *Pde6B*, что приводит к нарушению работы фосфодиэстеразы 6 — важнейшего участника каскада фототрансдукции. Эта линия также является генетически неоднородной, и одна из коммерческих субпопуляций этой линии несет дополнительную мутацию в гене *Gpr179*, кодирующем структурный белок сигналы трансдукционного каскада биполярной клетки. Такая мутация делает животных с этими генетическими особенностями непригодными для целей оптогенетического протезирования биполярных клеток, что в свою очередь ведет к необходимости дополнительной генетической модификации животных этой субпопуляции с целью возврата аллели *Gpr179* к дикому типу [10].

Важной стороной создания технологии протезирования сетчатки являются процедуры верификации степени успешности генетических манипуляций. В качестве метода проверки восстановления светочувствительности сетчатки после протезирования по-прежнему используется такой подход, как регистрация электроретинограммы *in vivo* (на интактном наркотизированном животном) [11, 12], позволяющий проследить функциональные изменения зрительной функции на одном животном на длительном отрезке времени. В качестве *ex vivo* подхода к оценке светочувствительности сетчатки в последние годы доминирующее положение занимает многоканальная регистрация активности ганглиозных клеток при помощи мультиэлектродной матрицы (MEA, multielectrode array) [13—15]. При этом подходе изолированная сетчатка наслаивается ганглиозными клетками на матрицу, содержащую до 100 электродов, каждый из которых в сочетании со специальным программным обеспечением способен регистрировать активность одной или нескольких ганглиозных клеток. Ганглиозные клетки в отличие от фоторецепторов и биполярных клеток являются истинными нейронами и кодируют сигнал, поступающий по волокнам зрительного нерва в мозг, посредством изменения частоты генерации спайков (потенциалов действия). В здоровой сетчатке сигнал передается и обрабатывается в направлении от фоторецепторов к биполярным и от биполярных к ганглиозным клеткам, и регистрация ответов последних позволяет анализировать сигналы непосредственно перед их поступлением в мозг [16]. Поэтому применение MEA является одним из самых информативных и адекватных способов оценки функци-

онального состояния сетчатки и той информации, которую она способна передать в центральную нервную систему. В настоящем обзоре при описании функциональных последствий применения протезирующих технологий мы будем описывать результаты MEA-анализа, если не оговорено иное.

Вирусы или наночастицы?

Традиционным инструментом доставки протезирующего генетического материала в нейроны сетчатки являются векторы на основе аденоассоциированных вирусов (AAV, см. обзор [17]). Этот тип носителей давно и широко используется для генетической терапии различных заболеваний и в составе противовирусных вакцин как эффективное и безопасное средство доставки. Основной проблемой при использовании AAV для целей оптогенетического протезирования сетчатки являются небольшая емкость вирусного капсида (до 4.7 тыс. п.о.) и его низкая тропность к нейронам сетчатки. Недостаточная емкость капсида не позволяет поместить в него минимально необходимый набор генетических элементов, включающий сильный промотор из гена, специфически экспрессирующегося в интересующих клетках сетчатки, и последовательность, кодирующую протезирующий светочувствительный белок. Этот недостаток является неустранимым, поэтому при использовании AAV в качестве носителя обычно используют различные компактные производные от исходной промоторной последовательности, включающие ограниченное количество регуляторных участков (для примеров см. [18—20]).

Существенно различается тропность серотипов AAV (с 1 по 9) к клеткам сетчатки, а также их способность преодолевать пограничные мембраны, расположенные со стороны ганглиозных и фоторецепторных клеток [17]. При субретинальном введении (в пространство между сетчаткой и пигментным эпителием) серотипы AAV1 и 4 в первую очередь трансдуцируют клетки эпителия и имеют низкое сродство к нейронам сетчатки [21, 22]. AAV2, 5 и 7 трансдуцируют эпителиальные и фоторецепторные клетки, а AAV8 и 9 также заражают Мюллеровскую глию [21, 22]. Однако при интравитреальном введении (в стекловидное тело) только серотип AAV2 способен эффективно преодолевать пограничную мембрану и трансдуцировать внутренние слои сетчатки (преимущественно ганглиозные клетки) [21, 22]. Направленная эволюция AAV в лабораторных условиях позволила получить модифицированные серотипы AAV2, обладающие повышенным сродством к нейронам сетчатки и более эффективно трансдуцирующие клетки промежуточных слоев, в том числе биполярные [23]. Так, показано, что множественные замены тирозина на фенилаланин в капсидных белках AAV2 приводят к повышению эффективности трансдукции, предпо-

ложительно, за счет снижения протеасомной деградации вирусов клетками [24].

Альтернативой вирусной доставке протезирующего материала в клетки сетчатки являются синтетические наночастицы различной природы, связывающиеся с молекулами ДНК (для обзора см. [25, 26]). Синтетические векторы имеют преимущество по сравнению с вирусными, т.к. они обладают существенно большей емкостью и способны переносить плазмиды, содержащие несколько генов интереса, либо обогащенные регуляторными последовательностями. Несмотря на то, что наночастицы в отличие от вирусов не способны к реализации специфических механизмов проникновения в клетку и доставки генетического материала в ядро, за последние годы исследователи научились модифицировать строение частиц с целью оптимизации механизмов их взаимодействия с клетками [27–29].

Биполярные или ганглиозные клетки?

Экспериментально подтверждено, что и биполярные, и ганглиозные клетки у модельных животных с дегенерацией фоторецепторов могут успешно быть использованы как мишень для оптогенетического протезирования (см. обзоры [6, 30]). Кроме того, клинические испытания показали, что ганглиозные клетки могут быть использованы для целей протезирования у человека [31]. Выбор клеток-мишеней, которым будет искусственно придаваться светочувствительность, является важнейшим этапом общей стратегии протезирования. Основными параметрами, определяющими данный выбор, являются доступность того или иного клеточного типа для вирусной трансфекции, его сохранность в ходе развития дегенеративных процессов в сетчатке и степень искажения естественного пути распространения зрительной информации. В здоровой сетчатке фоторецепторы генерируют в ответ на включение света тонический ответ, гиперполяризуя клетку. Этот сигнал через глутаматный синапс суммируется с ответами других фоторецепторов и передается на ON или OFF биполярную клетку, вызывая ее тоническую деполяризацию или гиперполяризацию соответственно. На последнем этапе ответы нескольких биполярных клеток суммируются и передаются как напрямую, так и через амакриновые клетки, на ганглиозную клетку, которая реагирует на входной сигнал увеличением частоты спайков. В дегенерировавшей сетчатке из трехзвенной цепочки генерации и прохождения сигнала рецепции светового стимула (фоторецепторы → биполярные клетки → ганглиозные клетки) выпадают фоторецепторы, оставляя таким образом возможность для создания как двухзвенной цепочки со светочувствительными биполярными клетками, так и однозвенной со светочувствительными ганглиозными клетками.

Развитие патологических дегенеративных процессов в сетчатке проходит в несколько этапов (см. обзоры [32, 33]). На ранних стадиях генетически детерминированные сбои в работе внутриклеточных механизмов в фоторецепторах запускают каскад событий, приводящих к их гибели. На этом этапе происходит также смещение функциональных характеристик биполярных клеток с ON на OFF за счет изменений в профиле экспрессии глутаматных рецепторов в их дендритных окончаниях [34]. Дальнейшие патологические процессы включают в себя фагоцитоз остатков фоторецепторов и деафферентацию биполярных клеток из-за исчезновения глутаматной передачи со стороны фоторецепторов и последующей ретракции их дендритов. Из-за этого функциональная aberrация биполярных клеток прогрессирует, что выражается в усилении экспрессии ионотропных глутаматных рецепторов в дендритах колбочковых ON-биполярных клеток и нарушениях в работе метаболитных рецепторов [35].

В переходном периоде, когда палочки уже полностью дегенерировали, а колбочки еще сохраняются, дендриты биполярных клеток могут разрастаться в поисках сохранившихся фоторецепторов для подключения к их синаптическим терминалям. На последней стадии топологическое ремоделирование сетчатки усиливается, происходит активная миграция выживших клеток в аномальные для их типа локации и уплотнение пограничной мембраны, образованной Мюллеровскими клетками, что создает серьезный барьер на пути возможного поступления терапевтических или протезирующих агентов. Отдельные биполярные и амакриновые клетки могут мигрировать в слой ганглиозных клеток и наоборот, ганглиозные клетки могут проникать во внутренний ядерный слой [32]. Наблюдаемые структурные сдвиги сопровождаются также изменениями транскриптомного репертуара белков, связанных с межклеточной коммуникацией, таких, как аннексин А7 и контактин 1. Показано, что уровни транскрипции обоих белков у мышей с фенотипом rd1 на 90-й день постнатального развития достоверно снижаются [36]. При этом транскриптомные профили, относящиеся к внутриклеточному сигналингу и базовым метаболическим процессам, у биполярных клеток меняются незначительно, что позволяет им сохранять статус перспективных мишеней для протезирования.

Еще одним важным и негативным следствием функциональной и топологической перестройки сетчатки является возникновение у большинства переживающих нейронов спонтанной ритмической активности [37, 38]. Эта активность создает шумовой фон и затрудняет различение полезного сигнала, снижая тем самым чувствительность зрительной системы. Считается, что первичной причиной этой активности является деафферентация нейронов внутреннего ядерного слоя, а непосред-

ственным механизмом — аномальные флуктуации мембранного потенциала АП амакриновых клеток [39, 40]. АП амакриновые клетки синфазно через ON-биполярные и антифазно через знак-инвертирующий синапс с OFF-биполярными клетками возбуждают периодическую активность соответственно в ON и OFF ганглиозных клетках, что приводит к появлению относительно медленно распространяющихся волн спонтанной активности в сети ганглиозных клеток. Эта активность проявляется как генерация спайковых пачек с частотой около 10 Гц [41]. Фармакологическое разобщение коммуникации АП амакриновых и ON-биполярных клеток через щелевые контакты приводит к существенному уменьшению спонтанной активности ганглиозных клеток и улучшению отношения сигнал/шум [42].

Следует отметить, что протезирование оптогенетическими средствами биполярных, но не ганглиозных клеток оставляет отчасти функционирующей систему обработки сигнала с участием амакриновых клеток. Кроме того, ганглиозные клетки сами делятся на более чем 40 различных функциональных типов, по-разному взаимодействующих и обрабатывающих поступающую информацию [43, 44]. Их протезирование же преобразует все эти функциональные типы в единообразные детекторы света, существенно нарушая тем самым естественную схему обработки зрительной информации до ее поступления в мозг. Все вышеизложенное указывает на то, что протезирование биполярных клеток воссоздает схему обработки зрительной информации, более приближенную к естественной ситуации, чем протезирование ганглиозных клеток.

Эффективность доставки протезирующих трансгенов к клеткам того или иного типа во многом определяется выбором способа доставки вирусных конструкций к сетчатке: интравитреально или субретинально. Именно интравитреальная инъекция предпочтительна для доставки трансгенов во внутренние нейроны сетчатки, т.е. ганглиозные и биполярные клетки, в то время как субретинальные введения применяют для трансдукции фоторецепторов и клеток пигментного эпителия (например, в рамках генной терапии, см. обзор [45]). Задача массовой трансдукции ганглиозных клеток относительно проста, ввиду их максимальной близости к стекловидному телу и, соответственно, месту введения вектора. Биполярные клетки занимают наиболее труднодоступное положение в сетчатке, что делает их менее привлекательной мишенью для доставки трансгенов. Однако появившиеся в арсенале исследователей модифицированные серотипы AAV, обладающих повышенной тропностью к нейронам сетчатки и, как следствие, более эффективно проникающим в глубокие клеточные слои, позволило решить эту проблему [23, 46].

Попытки создания селективных компактных промоторов, предназначенных для целевой экспрессии трансгенов в ON биполярных клетках, предпринимаются исследователями с 2008 г. [47], и обычно берут за основу полноразмерные промоторы генов, кодирующих специфические для данного клеточного типа белки. Несмотря на то что первые разработки в этой области не могли обеспечить достаточного уровня селективности, зачастую допуская экспрессию светочувствительных белков в амакриновых или ганглиозных клетках [48], к настоящему времени можно выделить как минимум 3 конструкта, обеспечивающих высокоселективное оптопротезирование ON-биполярных клеток на основе генов *Grm6* [49–51] и *Pcp2* [49–51]. Сочетание оптимизированных серотипов AAV и селективных, мощных и компактных промоторов позволяет получать экспрессию в 70% от всех биполярных клеток сетчатки [13, 14], при этом доля трансдуцированных клеток оказывается существенно выше у палочковых биполярных клеток, чем у колбочковых. Доля нецелевой экспрессии трансгена составляет около 16% и приходится на OFF биполярные клетки [14].

Дополнительным подтверждением перспективности технологии протезирования биполярных клеток являются многочисленные данные о безопасности этого подхода. Показано, что у мышей линии rd1 экспрессия каналородопсина [52, 53] и родопсина [53] с использованием AAV не вызывала апоптоза и воспаления, как локального, так и системного. С другой стороны, повреждений или воспалительных процессов в сетчатке макака также не было обнаружено спустя 3 мес после селективной экспрессии модифицированного каналородопсина в ганглиозных клетках [54].

Зрительные опсины или каналородопсины?

В настоящее время в сетчатке млекопитающих выявлено более десяти типов биполярных клеток, которые по типу иннервируемых клеток делятся на палочковые и колбочковые, а по типу обработки полученного сигнала — на OFF (знак-сохраняющие) и ON (знак-инвертирующие) биполярные клетки (для обзора см. [55]). Успешная технология протезирования должна включать в себя экзогенный светочувствительный белок, позволяющий воспроизводить знак изменения потенциала биполярной клетки в ответ на освещение, и возможность селективной и эффективной экспрессии этого белка в правильном типе клеток. Созданные к настоящему времени технологии позволяют протезировать ON биполярные клетки за счет их трансфекции ионотропными или метаболитными светочувствительными белками. Эти белки в ответ на освещение вызывают изменение мембранного потенциала клетки, воспроизводя таким образом логику нормальной работы цепи прохождения сигнала

ла в сетчатке, что доказывается успешными попытками протезирования зрительной функции у модельных животных [14, 56, 57]. До сих пор не было известно попыток направленного протезирования OFF биполярных клеток, ни по отдельности, ни одновременно с протезированием ON биполярных клеток, хотя оптогенетические инструменты, позволяющие гиперполяризовать клетку (анионные каналы) в ответ на освещение, существуют и успешно применяются при решении других оптогенетических задач [58]. Попытки же протезирования каналородопсинами и зрительными опсинами ON биполярных клеток сетчатки модельных животных с дегенерацией фоторецепторов предпринимаются уже давно и успешно приводят к появлению светочувствительности, что подтверждается результатами различных функциональных тестов (для обзора см. [59]).

При выборе стратегии протезирования одним из определяющих факторов эффективности является выбор типа протезирующего экзогенного светочувствительного белка. Исторически первые успешные эксперименты по оптогенетическому протезированию сетчатки модельных животных были выполнены с использованием каналородопсина [60], и впоследствии этот белок и его модификации были многократно и успешно применены для протезирования сетчатки [13, 14, 54, 61]. Модифицированный каналородопсин ChrimsonR со сдвинутым в длинноволновую область спектром поглощения был успешно использован для протезирования ганглиозных клеток сетчатки человека [31]. Большим преимуществом использования каналородопсина является относительная автономность этого подхода, при котором эффект протезирования зависит только от экспрессии одного экзогенного белка. Альтернативой каналородопсину как инструменту протезирования сетчатки являются светочувствительные метаболотропные рецепторы, например, зрительные опсины или меланопсин. В таком случае предполагается, что экзогенный рецептор встраивается в собственную сигнальную систему протезируемой клетки. В качестве подходящей для встраивания рецептора системы чаще всего рассматриваются постсинаптический сигнальный каскад ON биполярных клеток, запускаемая метаболотропным глутаматергическим рецептором mGluR6 и регулирующий проводимость TRPM1 каналов (см. обзор [62]). Метаболотропный светочувствительный рецептор может быть использован в немодифицированном виде (палочковый родопсин [63, 64]; колбочковый человеческий опсин [46]; меланопсин [65, 66]), или молекула может быть модифицирована с целью лучшей адаптации к эндогенному сигнальному каскаду. В последнем случае может быть использован химерный рецепторный белок, в котором нативный внутриклеточный домен, ответственный за взаимодействие с сигнальными G-бел-

ками, заменен на домен эндогенного рецептора mGluR6 [56, 67].

При протезировании биполярных клеток тем или иным типом белков результат может существенно отличаться по итоговой чувствительности сетчатки к свету. При введении в одной и той же концентрации вирусного вектора, несущего аналогичные генетические конструкторы, чувствительность ON биполярных клеток, протезируемых каналородопсином, была на 2.5 порядка ниже, чем при протезировании метаболотропным рецептором — родопсином крысы [63]. Похожее соотношение чувствительностей следует и из других работ, в которых биполярные клетки протезировались каналородопсинами [13, 61] и демонстрировали пороговую чувствительность в диапазоне 10^{13} – 10^{15} фотонов/см²/с, или метаболотропными опсинами [42, 51, 64] с чувствительностью 10^{11} – 10^{12} фотонов/см²/с (см. обобщающую схему на рис. 1). Объяснение такого различия вероятнее всего заключается в уровне деполяризации биполярной клетки в пересчете на один поглощенный квант света. Поглощение одного кванта молекулой каналородопсина приводит к открытию одного канала — самого каналородопсина, в то время как активация одним квантом молекулы метаболотропного рецептора запускает каскад внутриклеточной трансдукции, приводящий к открытию многих мембранных катионных каналов. Соответственно, во втором случае происходит больший сдвиг мембранного потенциала, что означает большую чувствительность протезируемой клетки к свету.

Протезирование биполярных клеток метаболотропными опсинами приводит к возникновению светочувствительности, охватывающей до 5 порядков интенсивности, в то время как применение каналородопсинов позволяет создать динамический диапазон только в 2 порядка интенсивности [42, 63]. Это происходит в частности из-за большей крутизны функции реакции клеток на свет от интенсивности стимула при протезировании каналородопсином, нежели при использовании метаболотропного рецептора [51]. При этом протезирование биполярных клеток метаболотропными опсинами создает динамический диапазон чувствительности на уровне отдельных ганглиозных клеток не более 4 порядков интенсивности световой стимуляции. Дополнительный порядок регулировки чувствительности к свету достигается за счет наложения и не полного совпадения чувствительностей многих различных ганглиозных клеток [42].

Форма ответа протезированной сетчатки на стимуляцию ступенчатой светом ожидается отличается от ответа здоровой сетчатки. Ответ на уровне ганглиозных клеток при протезировании ON биполярных клеток родопсином показывает замедленную по сравнению со здоровой сетчаткой кинетику ответа (больше время до пика и более медленное выключе-

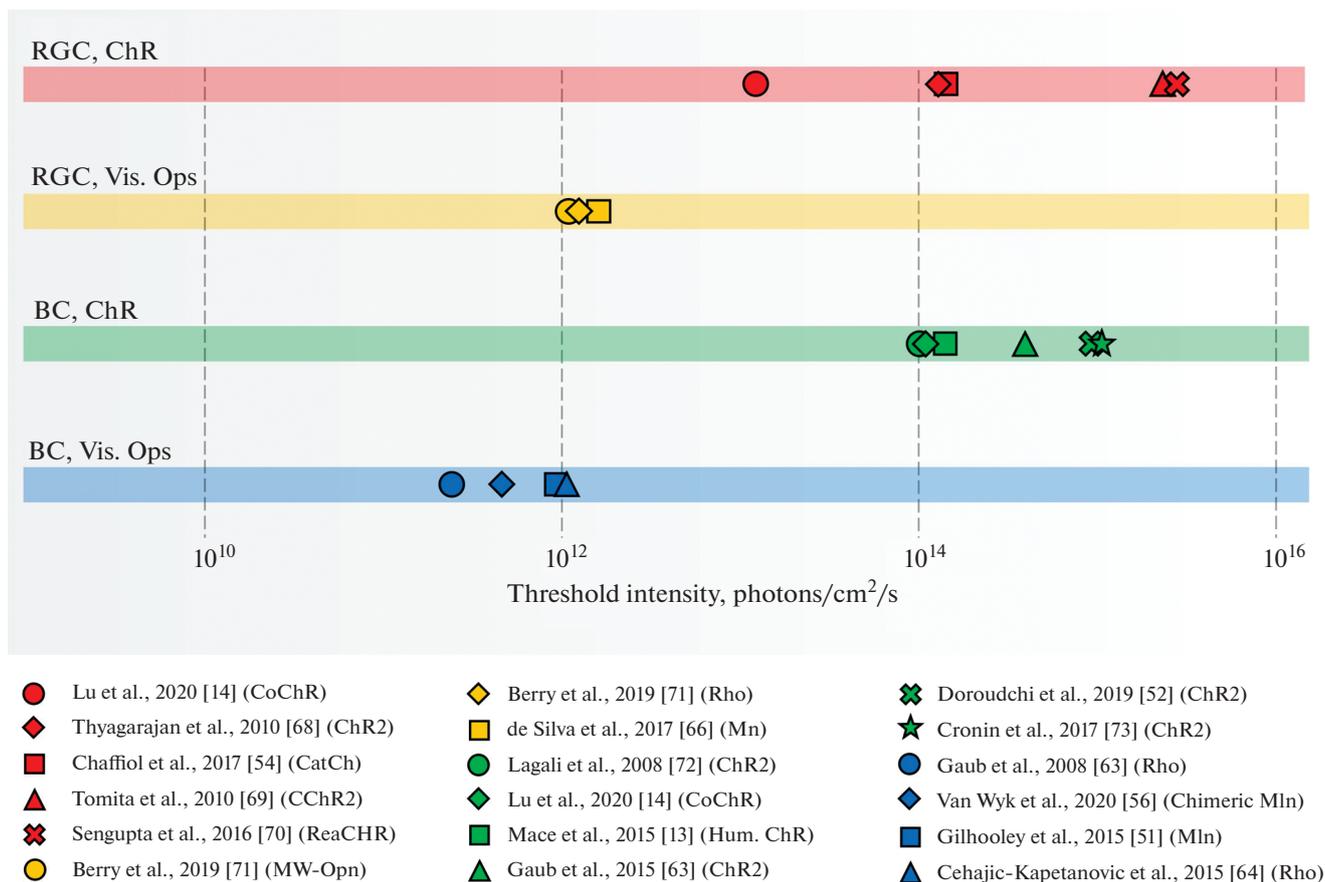


Рис. 1. Сводная схема значений пороговой чувствительности дегенерировавшей сетчатки после оптогенетического протезирования по данным из различных исследований. Данные (минимальная интенсивность светового стимула, вызывающего ответ сетчатки) сгруппированы в зависимости от того, какой тип клеток подвергся протезированию (биполярные или ганглиозные), и каким типом светочувствительного белка (каналородопсин или зрительный опсин). Литературные источники: ганглиозные клетки, протезирование каналородопсинами (RGC, ChR) – [14, 54, 68–70]; ганглиозные клетки, протезирование зрительными опсинами (RGC, Vis.Ops) – [66, 71]; биполярные клетки, протезирование каналородопсинами (BC, ChR) – [13, 14, 52, 63, 72, 73]; биполярные клетки, протезирование зрительными опсинами (BC, Vis.Ops) – [51, 56, 63, 64]. Сокращения: ChR – каналородопсин, CatCh/CoChR/ReaCHR – модифицированные каналородопсины, Rho – родопсин палочек, MW-Opn – зеленочувствительный опсин колбочек, Mln – меланопсин.

чение ответа). В то же время ответ демонстрирует признаки световой адаптации в искусственном каскаде фототрансдукции, что выражается в ускорении ответа при повышении интенсивности стимула, характерном и для здоровой сетчатки [63]. Также следует отметить, что некоторые ганглиозные клетки (около 7% от общего числа) отвечали на стимуляцию не увеличением, а уменьшением спайковой активности, что говорит о частичном восстановлении OFF-путей в обработке зрительного сигнала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре мы постарались описать относительно недавние достижения в создании технологии оптогенетического протезирования сетчатки, подвергшейся нейродегенерации. Получены новые подтверждения того, что использование

в качестве вектора трансдукции аденоассоциированного вируса, а также индукция экспрессии в клетках сетчатки родопсинов или каналородопсинов безопасны как для сетчатки [52, 53, 74], так и для организма в целом [52]. Кроме того, у животных моделей индукция экспрессии родопсинов и каналородопсинов является стабильной на протяжении многих месяцев [13, 52, 74], что позволяет надеяться на стабильный эффект экспрессии протезируемых белков у человека в случае введения этого метода в клиническую практику.

К настоящему времени создан и апробирован на животных с дегенерацией фоторецепторов эффективный инструментальный доставки генетического материала в сохраняющиеся клетки сетчатки. Сочетание определенных серотипов AAV с новейшими компактными промоторами позволяет достичь высокой селективности и эффективности трансдукции выбранного для протезирования типа кле-

ток сетчатки модельных животных (грызунов [50, 51], собак [74, 75], приматов [54, 76], обзор в [77]). Прямой перенос такого сочетания серотипа AAV и промотора для технологии протезирования сетчатки человека скорее всего невозможен, и для высокоспецифичной и эффективной доставки генетического материала в клетки человека потребуются разработка и последующая валидация соответствующих видоспецифичных промоторов (см. [18]).

Сегодня представляется неочевидным однозначный выбор в сторону протезирования биполярных или ганглиозных клеток, а также выбор каналородопсинов или родопсинов в качестве протезирующего материала. Протезирование биполярных клеток воссоздает более естественный путь прохождения зрительного сигнала в сетчатке, и, скорее всего, зрительная система будет легче адаптироваться к такому варианту протезирования. С другой стороны, проксимальное расположение ганглиозных клеток делает их доступнее для вирусных векторов, несмотря на последние достижения по созданию серотипов, проникающих в глубокие слои сетчатки. Прямые измерения подтверждают, что протезирование каналородопсином ганглиозных клеток позволяет получить существенно более высокую чувствительность, чем при протезировании каналородопсином биполярных клеток [14].

Во всех работах по протезированию биполярных клеток каналородопсином порог чувствительности сетчатки к свету составляет не менее 10^{13} фотонов/см²/с, в том числе при использовании современных модифицированных форм этого белка с увеличенной проводимостью и замедленным выключением канала [14, 78]. Низкая чувствительность приводит к необходимости постоянного использования высоких уровней освещенности, что может привести к светоиндуцированному повреждению сетчатки. Использование метаболитных опсинов во всех случаях позволяет создать чувствительность к свету примерно на 2 порядка выше, чем использование каналородопсинов, и таким образом снизить световую нагрузку на сетчатку [51, 63]. Кроме того, показано, что в ОН биполярных клетках искусственный трансдукционный каскад на основе родопсина способен к адаптации к уровню освещенности. Оба этих обстоятельства позволяют предположить, что будущие перспективные инструменты протезирования должны разрабатываться на основе метаболитных светочувствительных рецепторов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Грант в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития НЦМУ Павловский центр “Интегративная физиология — персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям стрессоустойчивости”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Оба автора внесли одинаковый вклад в анализ литературных данных и написание текста статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mills JO, Jalil A, Stanga PE (2017) Electronic retinal implants and artificial vision: journey and present. *Eye (Lond)* 31 (10): 1383–1398. <https://doi.org/10.1016/j.ajth.2019.151485> 10.1038/eye.2017.65
2. Bloch E, Luo Y, da Cruz L (2019) Advances in retinal prosthesis systems. *Therap Adv Ophthalmol* 11: 2515841418817501. <https://doi.org/10.1177/2515841418817501>
3. Ahuja AK, Behrend MR (2013) The Argus™ II retinal prosthesis: factors affecting patient selection for implantation. *Progress Retinal Eye Res* 36: 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2013.01.002>
4. Firsov M (2019) Perspectives for the Optogenetic Prosthesis of the Retina. *Neurosci Behav Physiol* 49: 192–8. <https://doi.org/10.1007/s11055-019-00714-2>
5. Kirpichnikov MP, Ostrovskiy MA (2015) [Optogenetics and prosthetic treatment of retinal degeneration]. *Vestn Oftalmol* 131 (3): 99–111. <https://doi.org/10.17116/oftalma2015131399-111>
6. Ostrovskiy MA, Kirpichnikov MP (2019) Prospects of Optogenetic Prosthesis of the Degenerative Retina of the Eye. *Biochemistry (Mosc)* 84 (5): 479–490. <https://doi.org/10.1134/S0006297919050031>
7. Scholl HP, Strauss RW, Singh MS, Dalkara D, Roska B, Picard S, et al. (2016) Emerging therapies for inherited retinal degeneration. *Sci Transl Med* 8 (368): 368rv6. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf2838>
8. Chaffiol A, Duebel J (2018) Mini-Review: Cell Type-Specific Optogenetic Vision Restoration Approaches. *Advanc Experiment Med Biol* 1074: 69–73. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75402-4_9
9. Collin GB, Gogna N, Chang B, Damkham N, Pinkney J, Hyde LF, Stone L, Naggert JK, Nishina PM, Krebs MP (2020) Mouse Models of Inherited Retinal Degeneration with Photoreceptor Cell Loss. *Cells* 9 (4): 931. <https://doi.org/10.3390/cells9040931>
10. Nishiguchi KM, Carvalho LS, Rizzi M, Powell K, Holthaus SM, Azam SA (2015) Gene therapy restores vision in rd1 mice after removal of a confounding mutation in Gpr179. *Nat Commun*. 6: 6006. <https://doi.org/10.1038/ncomms7006>

11. *A L, Zou T, He J, Chen X, Sun D, Fan X* (2019) Rescue of Retinal Degeneration in rd1 Mice by Intravitreally Injected Metformin. *Front Mol Neurosci* 12: 102. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00102>
12. *Dalk.e C, Löster J, Fuchs H, Gailus-Durner V, Soewarto D, Favor J* (2004) Electroretinography as a screening method for mutations causing retinal dysfunction in mice. *Investigative ophthalmology & visual science* 45 (2): 601–9. <https://doi.org/10.1167/iovs.03-0561>
13. *Mace E, Caplette R, Marre O, Sengupta A, Chaffiol A, Barbe P, et al.* (2015) Targeting channelrhodopsin-2 to ON-bipolar cells with vitreally administered AAV Restores ON and OFF visual responses in blind mice. *Mol Ther* 23 (1): 7–16. <https://doi.org/10.1038/mt.2014.154>
14. *Lu Q, Ganjawala TH, Krstevski A, Abrams GW, Pan ZH* (2020) Comparison of AAV-Mediated Optogenetic Vision Restoration between Retinal Ganglion Cell Expression and ON Bipolar Cell Targeting. *Mol Therap Meth Clin Devel* 18: 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2020.05.009>
15. *Tu HY, Matsuyama T* (2020) Multielectrode Array Recording of Mouse Retinas Transplanted with Stem Cell-Derived Retinal Sheets. *Methods Mol Biol* 2092: 207–20. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0175-4_15
16. *Reinhard K, Tikidji-Hamburyan A, Seitter H, Idrees S, Mutter M, Benkner B* (2014) Step-by-step instructions for retina recordings with perforated multi electrode arrays. *PloS one* 9 (8): e106148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106148>
17. *Planul A, Dalkara D* (2017) Vectors and Gene Delivery to the Retina. *Annu Rev Vis Sci* 3: 121–140. <https://doi.org/10.1146/annurev-vision-102016-061413>
18. *Juttner J, Szabo A, Gross-Scherf B, Morikawa RK, Rompani SB, Hantz P* (2019) Targeting neuronal and glial cell types with synthetic promoter AAVs in mice, non-human primates and humans. *Nat Neurosci* 22 (8): 1345–1356. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0431-2>
19. *de Leeuw CN, Dyka FM, Boye SL, Laprise S, Zhou M, Chou AY* (2014) Targeted CNS Delivery Using Human Mini Promoters and Demonstrated Compatibility with Adeno-Associated Viral Vectors. *Mol Therap Meth Clin Dev* 1: 5. <https://doi.org/10.1038/mtm.2013.5>
20. *Korecki AJ, Cueva-Vargas JL, Fornes O, Agostinone J, Farkas RA, Hickmott JW, et al.* (2021) Human Mini Promoters for ocular-rAAV expression in ON bipolar, cone, corneal, endothelial, Muller glial, and PAX6 cells. *Gene Ther* 28 (6): 351–372. <https://doi.org/10.1038/s41434-021-00227-z>
21. *Auricchio A, Kobinger G, Anand V, Hildinger M, O'Connor E, Maguire AM* (2001) Exchange of surface proteins impacts on viral vector cellular specificity and transduction characteristics: the retina as a model. *Hum Mol Genet* 10(26): 3075–3081. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.26.3075>
22. *Allocca M, Mussolino C, Garcia-Hoyos M, Sanges D, Iodice C, Petrillo M* (2007) Novel adeno-associated virus serotypes efficiently transduce murine photoreceptors. *J Virol* 81 (20): 11372–1380. <https://doi.org/10.1128/JVI.01327-07>
23. *Dalkara D, Byrne LC, Klimczak RR, Visel M, Yin L, Merigan WH, et al.* (2013) In vivo-directed evolution of a new adeno-associated virus for therapeutic outer retinal gene delivery from the vitreous. *Sci Transl Med* 5 (189): 189ra76. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3005708>
24. *Petrs-Silva H, Dinculescu A, Li Q, Deng WT, Pang JJ, Min SH* (2011) Novel properties of tyrosine-mutant AAV2 vectors in the mouse retina. *Mol Ther* 19 (2): 293–301. <https://doi.org/10.1038/mt.2010.234>
25. *Adijanto J, Naash MI* (2015) Nanoparticle-based technologies for retinal gene therapy. *Eur J Pharm Biopharm* 95 (Pt B): 353–367. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.12.028>
26. *Rotov AY, Romanov IS, Tarakanchikova YV, Astakhova LA* (2021) Application Prospects for Synthetic Nanoparticles in Optogenetic Retinal Prosthetics. *J Evol Biochem Physiol* 57 (6): 1333–1350. <https://doi.org/10.1134/S0022093021060132>
27. *Cardoso MM, Peça IN, Roque AC* (2012) Antibody-conjugated nanoparticles for therapeutic applications. *Current Med Chem* 19 (19): 3103–3127. <https://doi.org/10.2174/092986712800784667>
28. *Xu S, Olenyuk BZ, Okamoto CT, Hamm-Alvarez SF* (2013) Targeting receptor-mediated endocytotic pathways with nanoparticles: rationale and advances. *Adv Drug Deliv Rev* 65 (1): 121–138. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.041>
29. *Batabyal S, Kim S, Wright W, Mohanty S* (2021) Layer-specific nanophotonic delivery of therapeutic opsin-encoding genes into retina. *Exp Eye Res* 205: 108444. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.108444>
30. *Baker CK, Flannery JG* (2018) Innovative Optogenetic Strategies for Vision Restoration. *Front Cell Neurosci* 12: 316. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00316>
31. *Sahel JA, Boulanger-Scemama E, Pagot C, Arleo A, Galluppi F, Martel JN* (2021) Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nat Med* 27 (7): 1223–1229. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01351-4>
32. *Jones BW, Kondo M, Terasaki H, Lin Y, McCall M, Marc RE* (2012) Retinal remodeling. *Jpn J Ophthalmol* 56 (4): 289–306. <https://doi.org/10.1007/s10384-012-0147-2>
33. *Jones BW, Pfeiffer RL, Ferrell WD, Watt CB, Marmor M, Marc RE* (2016) Retinal remodeling in human retinitis pigmentosa. *Exp Eye Res* 150: 149–165. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2016.03.018>

34. *Marc RE, Jones BW, Anderson JR, Kinard K, Marshak DW, Wilson JH, et al.* (2007) Neural reprogramming in retinal degeneration. *Investigat Ophthalmol Vis Sci* 48 (7): 3364–3371.
<https://doi.org/10.1167/iovs.07-0032>
35. *Chua J, Fletcher EL, Kalloniatis M* (2009) Functional remodeling of glutamate receptors by inner retinal neurons occurs from an early stage of retinal degeneration. *J Comp Neurol* 514 (5): 473–491.
<https://doi.org/10.1002/cne.22029>
36. *Gilhooley MJ, Hickey DG, Lindner M, Palumaa T, Hughes S, Peirson SN* (2021) ON-bipolar cell gene expression during retinal degeneration: Implications for optogenetic visual restoration. *Exp Eye Res* 207: 108553.
<https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.108553>
37. *Margolis DJ, Detwiler PB* (2011) Cellular origin of spontaneous ganglion cell spike activity in animal models of retinitis pigmentosa. *J Ophthalmol*. 2011: 507037.
<https://doi.org/10.1155/2011/507037>
38. *Trenholm S, Awatramani GB* (2015) Origins of spontaneous activity in the degenerating retina. *Front Cell Neurosci* 9: 277.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00277>
39. *Borowska J, Trenholm S, Awatramani GB* (2011) An intrinsic neural oscillator in the degenerating mouse retina. *J Neurosci* 31 (13): 5000–5012.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5800-10.2011>
40. *Margolis DJ, Gartland AJ, Singer JH, Detwiler PB* (2014) Network oscillations drive correlated spiking of ON and OFF ganglion cells in the rd1 mouse model of retinal degeneration. *PloS one* 9 (1): e86253.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086253>
41. *Stasheff SF* (2008) Emergence of sustained spontaneous hyperactivity and temporary preservation of OFF responses in ganglion cells of the retinal degeneration (rd1) mouse. *J Neurophysiol* 99 (3): 1408–1421.
<https://doi.org/10.1152/jn.00144.2007>
42. *Eleftheriou CG, Cehajic-Kapetanovic J, Martial FP, Milosavljevic N, Bedford RA, Lucas RJ* (2017) Meclofenamic acid improves the signal to noise ratio for visual responses produced by ectopic expression of human rod opsin. *Mol Vis* 23: 334–345.
43. *Kolb H, Linberg KA, Fisher SK* (1992) Neurons of the human retina: a Golgi study. *J Comp Neurol* 318 (2): 147–187.
<https://doi.org/10.1002/cne.903180204>
44. *Kim US, Mahroo OA, Mollon JD, Yu-Wai-Man P* (2021) Retinal Ganglion Cells–Diversity of Cell Types and Clinical Relevance. *Front Neurol* 12: 661938.
<https://doi.org/10.3389/fneur.2021.661938>
45. *Rotov AY, Nikolaeva DA, Astakhova LA, Firsov ML* (2020) Virus Vectors for Optogenetic Prosthetization of the Retina. *Neurosci Behav Physiol* 50 (3): 358–366.
<https://doi.org/10.1007/s11055-020-00911-4>
46. *McClements ME, Staurenghi F, Visel M, Flannery JG, MacLaren RE, Cehajic-Kapetanovic J* (2021) AAV Induced Expression of Human Rod and Cone Opsin in Bipolar Cells of a Mouse Model of Retinal Degeneration. *BioMed Res Internat* 2021: 1–8.
<https://doi.org/10.1155/2021/4014797>
47. *Kim DS, Matsuda T, Cepko CL* (2008) A core paired-type and POU homeodomain-containing transcription factor program drives retinal bipolar cell gene expression. *J Neurosci* 28 (31): 7748–7764.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0397-08.2008>
48. *van WM, Hulliger EC, Girod L, Ebner A, Kleinlogel S* (2017) Present Molecular Limitations of ON-Bipolar Cell Targeted Gene Therapy. *Front Neurosci* 11: 161.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00161>
49. *Lu Q, Ganjawala TH, Ivanova E, Cheng JG, Troilo D, Pan ZH* (2016) AAV-mediated transduction and targeting of retinal bipolar cells with improved mGluR6 promoters in rodents and primates. *Gene Ther* 23 (8–9): 680–689. [gt201642 \[pii\]; https://doi.org/10.1038/gt.2016.42](https://doi.org/10.1038/gt.2016.42)
50. *Hulliger EC, Hostettler SM, Kleinlogel S* (2020) Empowering Retinal Gene Therapy with a Specific Promoter for Human Rod and Cone ON-Bipolar Cells. *Mol Ther Methods Clin Dev* 17: 505–519.
<https://doi.org/10.1016/j.omtm.2020.03.003>. eCollection 2020 Jun 12.
51. *Gilhooley MJ, Lindner M, Palumaa T, Hughes S, Peirson SN, Hankins MW* (2022) A systematic comparison of optogenetic approaches to visual restoration. *Mol Ther Methods Clin Dev* 25: 111–123.
<https://doi.org/10.1016/j.omtm.2022.03.003>
52. *Doroudchi MM, Greenberg KP, Liu J, Silka KA, Boyden ES, Lockridge JA* (2011) Virally delivered channelrhodopsin-2 safely and effectively restores visual function in multiple mouse models of blindness. *Mol Ther* 19 (7): 1220–1229.
<https://doi.org/10.1038/mt.2011.69>. Epub 2011 Apr 19.
53. *Wright P, Rodgers J, Wynne J, Bishop PN, Lucas RJ, Milosavljevic N* (2021) Viral Transduction of Human Rod Opsin or Channelrhodopsin Variants to Mouse ON Bipolar Cells Does Not Impact Retinal Anatomy or Cause Measurable Death in the Targeted Cells. *Int J Mol Sci* 22 (23): 13111.
<https://doi.org/10.3390/ijms222313111>
54. *Chaffiol A, Caplette R, Jaillard C, Brazhnikova E, Desrosiers M, Dubus E, et al.* (2017) A New Promoter Allows Optogenetic Vision Restoration with Enhanced Sensitivity in Macaque Retina. *Mol Ther* 25 (11): 2546–2560.
<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.07.011>
55. *Euler T, Haverkamp S, Schubert T, Baden T* (2014) Retinal bipolar cells: elementary building blocks of vision. *Nat Rev Neurosci* 15 (8): 507–519.
<https://doi.org/10.1038/nrn3783>

56. *van WM, Pielecka-Fortuna J, Lowel S, Kleinlogel S* (2015) Restoring the ON Switch in Blind Retinas: Opto-mGluR6, a Next-Generation, Cell-Tailored Optogenetic Tool. *PLoS Biol* 13 (5): e1002143. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002143>
57. *Schilardi G, Kleinlogel S* (2021) Two Functional Classes of Rod Bipolar Cells in the Healthy and Degenerated Optogenetically Treated Murine Retina. *Front Cell Neurosci* 15: 809531. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.809531>.
58. *Khabou H, Garita-Hernandez M, Chaffiol A, Reichman S, Jaillard C, Brazhnikova E, et al.* (2018) Noninvasive gene delivery to foveal cones for vision restoration. *JCI Insight* 3 (2): 96029. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.96029>
59. *Simunovic MP, Shen W, Lin JY, Protti DA, Lisowski L, Gillies MC* (2019) Optogenetic approaches to vision restoration. *Exp Eye Res* 178: 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.09.003>
60. *Bi A, Cui J, Ma YP, Olshevskaya E, Pu M, Dizhoor AM* (2006) Ectopic expression of a microbial-type rhodopsin restores visual responses in mice with photoreceptor degeneration. *Neuron* 50(1): 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.02.026>
61. *Lindner M, Gilhooley MJ, Peirson SN, Hughes S, Hankins MW* (2021) The functional characteristics of optogenetic gene therapy for vision restoration. *Cell Mol Life Sci* 78 (4) 1597–1613. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03597-6>
62. *Martemyanov KA, Sampath AP* (2017) The Transduction Cascade in Retinal ON-Bipolar Cells: Signal Processing and Disease. *Ann Rev Vision Sci* 3: 25–51. <https://doi.org/10.1146/annurev-vision-102016-061338>
63. *Gaub BM, Berry MH, Holt AE, Isacoff EY, Flannery JG* (2015) Optogenetic Vision Restoration Using Rhodopsin for Enhanced Sensitivity. *Mol Ther* 23 (10): 1562–1571. <https://doi.org/10.1038/mt.2015.121>
64. *Cehajic-Kapetanovic J, Eleftheriou C, Allen AE, Milosavljevic N, Pienaar A, Bedford R* (2015) Restoration of Vision with Ectopic Expression of Human Rod Opsin. *Curr Biol* 25 (16): 2111–2122. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.029>
65. *Lin B, Koizumi A, Tanaka N, Panda S, Masland RH* (2008) Restoration of visual function in retinal degeneration mice by ectopic expression of melanopsin. *Proc Nat Acad Sci USA* 105 (41): 16009–16014. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806114105>
66. *De Silva SR, Barnard AR, Hughes S, Tam SKE, Martin C, Singh MS* (2017) Long-term restoration of visual function in end-stage retinal degeneration using subretinal human melanopsin gene therapy. *Proc Nat Acad Sci USA* 114 (42): 11211–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1701589114>
67. *Ballister ER, Rodgers J, Martial F, Lucas RJ* (2018) A live cell assay of GPCR coupling allows identification of optogenetic tools for controlling Go and Gi signaling. *BMC biology* 16 (1). <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0475-2>
68. *Thyagarajan S, van Wyk M, Lehmann K, Löwel S, Feng G, Wässle H* (2010) Visual function in mice with photoreceptor degeneration and transgenic expression of channelrhodopsin 2 in ganglion cells. *J Neurosci* 30 (26): 8745–8758. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.4417-09.2010>
69. *Tomita H, Sugano E, Isago H, Hiroi T, Wang Z, Ohta E* (2010) Channelrhodopsin-2 gene transduced into retinal ganglion cells restores functional vision in genetically blind rats. *Exp Eye Res* 90 (3): 429–436. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2009.12.006>
70. *Sengupta A, Chaffiol A, Mace E, Caplette R, Desrosiers M, Lampic M* (2016) Red-shifted channelrhodopsin stimulation restores light responses in blind mice, macaque retina, and human retina. *EMBO Mol Med* 8 (11): 1248–1264. <https://doi.org/10.15252/emmm.201505699>
71. *Berry MH, Holt A, Salari A, Veit J, Visel M, Levitz J, et al.* (2019) Restoration of high-sensitivity and adapting vision with a cone opsin. *Nat Commun* 10 (1): 1221. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09124-x>
72. *Lagali PS, Balya D, Awatramani GB, Münch TA, Kim DS, Busskamp V, et al.* (2008) Light-activated channels targeted to ON bipolar cells restore visual function in retinal degeneration. *Nat Neurosci* 11 (6): 667–675. <https://doi.org/10.1038/nn.2117>
73. *Cronin T, Vandenbergh LH, Hantz P, Juttner J, Reimann A, Kacso AE* (2014) Efficient transduction and optogenetic stimulation of retinal bipolar cells by a synthetic adeno-associated virus capsid and promoter. *EMBO Mol Med* 6 (9): 1175–1190. <https://doi.org/10.15252/emmm.201404077>
74. *Ameline B, Tshilenge KT, Weber M, Biget M, Libeau L, Caplette R* (2017) Long-term expression of melanopsin and channelrhodopsin causes no gross alterations in the dystrophic dog retina. *Gene Ther* 24 (11): 735–741. <https://doi.org/10.1038/gt.2017.63>
75. *Beltran WA* (2009) The use of canine models of inherited retinal degeneration to test novel therapeutic approaches. *Vet Ophthalmol* 12 (3): 192–204. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2009.00694.x>
76. *Chaffiol A, Provansal M, Joffrois C, Blaize K, Labernede G, Goulet R* (2022) In vivo optogenetic stimulation of the primate retina activates the visual cortex after long-term transduction. *Mol Ther Meth Clin Dev* 24: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2021.11.009>
77. *Winkler PA, Occelli LM, Petersen-Jones SM* (2020) Large Animal Models of Inherited Retinal Degenerations: A Review. *Cells* 9 (4): 882 <https://doi.org/10.3390/cells9040882>
78. *Ganjawala TH, Lu Q, Fenner MD, Abrams GW, Pan ZH* (2019) Improved CoChR Variants Restore Visual Acuity and Contrast Sensitivity in a Mouse Model of Blindness under Ambient Light Conditions. *Mol Ther* 27 (6) 1195–1205. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2019.04.002>

Optoprosthetics of Retinal Bipolar Cells

A. Yu. Rotov^a and M. L. Firsov^{a,#}

^a *Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, Saint-Petersburg, Russia*

[#] *e-mail: Michael.Firsov@gmail.com*

Although the experience of optogenetic retinal prosthetics in animal models dates back more than 16 years, the first results obtained on humans have only appeared in the last year. Over this period, the main challenges of prosthetics became clear and the approaches to their solution were proposed. In this review, we aim to present the achievements in the field of optogenetic prosthetics of bipolar cells, focusing mainly on relatively recent publications. The review addresses the advantages and disadvantages of bipolar cell prosthetics as compared to the alternative target, retinal ganglion cells, and provides a comparative analysis of the effectiveness of ionotropic light-sensitive proteins, channelrhodopsins, or metabotropic receptors, rhodopsins, as prosthetic tools.

Keywords: retina, optogenetics, channelrhodopsin, rhodopsin, prosthetics, bipolar cells, neurodegenerative diseases