

Особенности получения и дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в клетки сетчатки для моделирования наследственных заболеваний человека

Е.В. Лапшин, Ю.Г. Гершович, Е.С. Минская, А.В. Карабельский
Научно-технологический университет «Сириус», Краснодарский край, пгт Сириус, Россия

АННОТАЦИЯ

Использование технологии получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) с их последующей дифференцировкой является перспективным подходом для изучения патогенеза заболеваний и разработки способов терапии оптических нейропатий и ретинопатий — наиболее распространённых типов патологий зрительной системы, при которых происходит дегенерация ганглиозных клеток сетчатки (и как следствие — атрофия зрительного нерва) или поражаются клетки пигментного эпителия и фоторецепторы соответственно. Перспектива получения специфичных для пациента ИПСК добавила мощный альтернативный инструмент обнаружения новых вызывающих заболевания мутаций, изучения взаимосвязей между генотипом и фенотипом, проведения скрининга терапевтической токсичности и разработки персонализированной клеточной терапии оптических нейропатий и ретинопатий.

Многочисленные работы демонстрируют возможность создания из ИПСК различных типов клеток сетчатки, что обеспечивает бурное развитие направления исследований заболеваний человека, для которых отсутствуют релевантные животные модели или ограничен доступ к первичным тканям и клеткам человека.

В настоящем обзоре представлено разнообразие протоколов по получению из соматических клеток ИПСК с их последующей дифференцировкой с акцентом на наблюдаемые биологические эффекты получаемых клеточных культур, в том числе и органоидов, а также обсуждаются перспективы использования таких моделей. Статья может быть полезна исследователям, изучающим патогенез различных наследственных форм слепоты, и разработчикам подходов к терапии этих заболеваний, нуждающимся в получении релевантной клеточной модели.

Ключевые слова: оптические нейропатии; ретинопатии; ИПСК; ганглиозные клетки сетчатки; фоторецепторы; пигментный эпителий сетчатки; дифференцировка.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Лапшин Е.В., Гершович Ю.Г., Минская Е.С., Карабельский А.В. Особенности получения и дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в клетки сетчатки для моделирования наследственных заболеваний человека // Гены и клетки. 2024. Т. 19, № 2. С. XX–XX. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc622899>

Рукопись получена: 01.11.2023 **Рукопись одобрена:** 23.03.2024 **Опубликована:** 26.05.2024

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International

© Эко-Вектор, 2024

Features of generation and differentiation of induced pluripotent stem cells into retinal cells for modeling human hereditary diseases

Evgeniy V. Lapshin, Yulia G. Gershovich, Ekaterina S. Minskaya, Alexander V. Karabelsky
Sirius University of Science and Technology, Krasnodar region, Sirius, Russia

ABSTRACT

The utilization of technology for the generation of induced pluripotent stem cells (iPSCs) and their subsequent differentiation is a promising approach for the study of disease pathogenesis and development of methods for treating optical neuropathies and retinopathy, which are the most common types of visual

pathologies, in which retinal ganglion cells degenerate (consequently, optic nerve atrophy) or pigment epithelial cells and photoreceptors are affected, respectively. The prospect of patient-specific iPSCs has become a powerful alternative tool for discovering novel disease-causing mutations, studying genotype–phenotype relationships, screening therapeutic toxicity, and developing personalized cell therapy for optical neuropathies and retinopathies.

Numerous studies have demonstrated the possibility of creating different types of retinal cells from iPSCs, which provides a rapid development of the research area of human diseases for which no relevant animal models are available or access to primary human tissues and cells is limited.

This review presents various protocols for generating iPSCs from somatic cells and their subsequent differentiation, with an emphasis on the observed biological effects of the resulting cell cultures, including organoids, and discusses the prospects of using such models. The article may be useful to researchers studying the pathogenesis of various hereditary forms of blindness and developers of approaches for the treatment of these diseases who need a relevant cellular model.

Keywords: optic neuropathies; retinopathy; iPSCs; retinal ganglion cells; photoreceptors; retinal pigment epithelium; differentiation.

TO CITE THIS ARTICLE:

Lapshin EV, Gershovich YuG, Minskaya ES, Karabelsky AV. Features of generation and differentiation of induced pluripotent stem cells into retinal cells for modeling human hereditary diseases. *Genes & cells*. 2024;19(2):XX–XX. DOI: <https://doi.org/10.17816/gc622899>

Received: 01.11.2023 **Accepted:** 23.03.2024 **Published:** 26.05.2024

Article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License

© Eco-Vector, 2024

ВВЕДЕНИЕ

В 2007 году К. Такахаши и С. Яманака [1] произвели революцию в области моделирования заболеваний благодаря преобразованию терминально-дифференцированных клеток мыши в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), подобные эмбриональным стволовым клеткам, за счёт экспрессии четырёх транскрипционных факторов: OCT4, SOX2, KLF4 и С-МУС. Многочисленные работы продемонстрировали возможность создания ИПСК человека из соматических клеток [1–4], что обеспечило бурное развитие направления исследований заболеваний человека, для которых отсутствуют релевантные животные модели или ограничен доступ к первичным тканям и клеткам человека.

На протяжении многих десятилетий для понимания патогенеза и принципов лечения заболеваний сетчатки использовали иммортализованные клеточные линии сетчатки, гистологию человеческих глаз, животные модели, клинические наблюдения и генетические исследования. Получение специфичных для пациента ИПСК добавило мощный альтернативный инструмент обнаружения новых вызывающих заболевания мутаций, изучения взаимосвязей между генотипом и фенотипом, проведения скрининга терапевтической токсичности и разработки персонализированной клеточной терапии оптических нейропатий и ретинопатий — наиболее распространённых типов патологий зрительной системы, при которых происходит дегенерация ганглиозных клеток сетчатки и, как следствие, — атрофия зрительного нерва или поражаются клетки пигментного эпителия сетчатки и фоторецепторы соответственно.

Получение ИПСК открывает путь к направлению, где клетки, дифференцированные из ИПСК, потенциально могут быть использованы для заместительной терапии дистрофии сетчатки. Для достижения этих целей разработаны и успешно применяются множество различных протоколов по получению из соматических клеток ИПСК с их последующей дифференцировкой. Данный обзор рассматривает разнообразные протоколы дифференцировки ИПСК, полученных из клеток здоровых и больных доноров, в клетки сетчатки с акцентом на индукторы для дифференцировки, длительность дифференцировки, наблюдаемые биологические эффекты получаемых клеточных культур (в том числе органоидов) и перспективы использования таких моделей. Статья может быть полезна исследователям, изучающим патогенез различных наследственных форм слепоты, и разработчикам подходов к терапии этих заболеваний, нуждающимся в получении релевантной клеточной модели.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ГАНГЛИОЗНЫЕ КЛЕТКИ СЕТЧАТКИ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НЕЙРОПАТИЙ

Ганглиозные клетки сетчатки, полученные из ИПСК путём направленной дифференцировки, могут быть полезным инструментом для изучения механизмов работы зрительного нерва и патогенеза заболеваний, скрининга лекарств, клеточной терапии.

В последние несколько лет в многочисленных работах сообщается об успешной дифференцировке ИПСК в ганглиозные клетки сетчатки [5–11]. В табл. 1 ([6–23]) собраны данные о характеристике добавок, применяемых для дифференцировки ИПСК в клетки сетчатки, а на рис. 1 показаны этапы дифференцировки в различные клетки сетчатки. Следует отметить, что огромное внимание уделяется всесторонней характеристике клеток для подтверждения подлинности и качества полученных из ИПСК ганглиозных клеток. Ряд ассоциированных с ганглиозными клетками маркёров может быть использован для их анализа: например BRN3A, BRN3B, ATOH7, TUBB3, NFM, ISLET1 и THY1 [8, 12, 20]. Однако важно отметить, что некоторые из этих маркёров не обязательно специфичны для сетчатки. Например, TUBB3 — паннейронный маркёр [24], а три члена семейства BRN3 (BRN3A, BRN3B и BRN3C) также экспрессируются во множестве слуховых и соматосенсорных нейронов [25]. Это подчёркивает важность использования панели связанных с ганглиозными клетками маркёров в сочетании с морфологическим анализом и функциональными тестами для всесторонней характеристики клеток, получаемых из ИПСК. Так, было показано, что ИПСК могут дифференцироваться в ганглиозные клетки с длинными выступающими аксонами, способными к аксональному транспорту митохондрий и успешному выполнению своей физиологической функции [8, 10, 11, 26]. По мере увеличения количества исследований вполне вероятно, что возможность генерировать функциональные ганглиозные клетки из ИПСК станет более стандартизированной процедурой. Следует также отметить, что ИПСК и производные от них ганглиозные клетки могут быть получены от соматических клеток пациентов с различными нейропатиями, при этом протокол получения не отличается от такового для здоровых клеток. Клетки могут быть далее использованы в качестве модели заболевания для апробации терапевтических подходов, а также для изучения фенотипических и функциональных особенностей клеток, связанных с проявлением болезни. Исследования, в которых на модели клеток, полученных от пациентов с наследственной оптической нейропатией Лебера (Leber hereditary optic neuropathy — LHON), изучали дифференцировку и фенотип клеток, суммированы в табл. 2 ([13–16, 21, 27, 28]).

Так, в работе 2022 года D. Ji и соавт. получали линию ИПСК из соматических клеток пациента с нейропатией Лебера, несущую мутацию m.3635G>A в гене *MT-ND1*, что было подтверждено ПЦР-анализом, а также оценивали потенциал дифференцировки ИПСК *in vitro* по наличию трёх зародышевых листков (эктодермального, мезодермального и энтодермального) после трансплантации [29]. В работе [27] полученные из ИПСК пациентов ганглиозные клетки изучали с точки зрения аксонального транспорта митохондрий. Обнаружено изменение ретроградного, но не стационарного транспорта и увеличение количества апоптотических клеток. Аномальная морфология ганглиозных клеток и нарушение функций отмечены для ганглиозных клеток, полученных из ИПСК пациентов [28]. У ганглиозных клеток также нарушалась биологическая активность и изменялся профиль экспрессии генов по сравнению с нормальными клетками [13]. Кроме того, в работе [14] показано, что у ганглиозных клеток наблюдается повышенный уровень апоптоза, связанный с гиперэкспрессией циркулирующей РНК. В ещё одном исследовании, посвящённом получению ганглиозных клеток из ИПСК пациентов с LHON, показано снижение уровня экспрессии генов, связанных с глутаматергической синаптической передачей сигналов [21]. Повышение уровня апоптоза в ганглиозных клетках сетчатки пациентов с LHON было успешно нивелировано с помощью гибридной технологии «лечения» клеток, которая заключается в замене мутированных митохондрий клеток здоровыми митохондриями от донорских кератиноцитов [15]. Нарушения в пути деградации митохондрий также обнаружены в ганглиозных клетках, полученных из ИПСК от соматических клеток пациента с LHON [16].

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ФОТОРЕЦЕПТОРЫ И ПИГМЕНТНЫЙ ЭПИТЕЛИЙ СЕТЧАТКИ В СОСТАВЕ ОРГАНОИДОВ СЕТЧАТКИ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ НЕЙРОПАТИЙ

Простейший способ получения соматической клетки из плюрипотентной стволовой клетки обычно называется спонтанной дифференцировкой. Плюрипотентные стволовые клетки выходят из плюрипотентности по пути развития одного из трёх зародышевых листков: эктодермы, энтодермы или мезодермы [30]. Спонтанная дифференцировка подразумевает адгезивное или суспензионное культивирование и опирается на врождённую спецификацию клеточной судьбы [31]. Этот путь неэффективен, длителен, сильно варьирует между линиями для получения одного конкретного типа клеток (в исследовательских целях) и заключается в иссечении пигментированных участков из гетерогенных культур. Знания, полученные в результате эмбриологических исследований сигнальных путей развития, позволили учёным разработать более сфокусированные, направленные протоколы дифференцировки ИПСК в клетки пигментного эпителия сетчатки и фоторецепторы.

Направленная или управляемая дифференциация использует среды, содержащие факторы роста или небольшие молекулы, такие как основной фактор роста фибробластов (BFGF), антагонист костного морфогенетического белка (BMP) *Noggin*, *Wnt*, антагонист *Dickkopf-1* (DKK1), никотинамид, казеинкиназу, ингибитор I 7, ингибитор ALK4 SB-431542 и ингибитор Rho-ассоциированной киназы Y-27632 для модуляции специфических сигнальных путей, имитации эндогенной коммуникации и управления решением о клеточной судьбе ИПСК [17–19]. Эмбриональные стволовые клетки [17, 23, 32] или ИПСК [33–35] успешно дифференцируются в клетки сетчатки, которые применимы в контексте регенеративной терапии (см. рис. 1) [36]. Производные ИПСК, включая клетки пигментного эпителия сетчатки, могут быть относительно незрелыми [12], однако они демонстрируют характеристики, подтверждающие их ценность в качестве модели патофизиологии взрослого человека. В частности, показано, что клетки пигментного эпителия сетчатки, полученные из ИПСК, экспрессируют специфичные для них маркёры, такие как *VSX2*, *CRX*, *RCVRN*, *MATH5*, *MITF* [37, 38], и функционально активны, как нативные зрелые клетки пигментного эпителия сетчатки и фоторецепторы [39–41]. Поэтому велико число работ, направленных на заместительную терапию дифференцированными из ИПСК клетками фоторецепторов и пигментного эпителия сетчатки. Так, например, M. Mandai и соавт. в 2017 году использовали трансплантацию клеток пигментного эпителия сетчатки, дифференцированных из ИПСК, для лечения неоваскулярной возрастной макулодистрофии и подтвердили эффективность такого подхода [42]. Важно отметить, что пигментный эпителий сетчатки, полученный из ИПСК, сохраняет сложные генетические сигнатуры и варианты, связанные с патогенезом, что делает его ценным инструментом в моделировании заболеваний. Результаты работ по дифференцировке ИПСК пациентов с ретинопатиями в органоиды сетчатки суммированы в табл. 3 ([43–48]).

Помимо развития и оптимизации методологии получения клеток для целей регенеративной медицины необходимо также учитывать особенности самой процедуры трансплантации и важность снижения рисков послеоперационных осложнений. Ряд исследований направлен на повышение безопасности манипуляций с сетчаткой, например смещение инъекционного пузыря в сторону от места укола [49] или герметизацию места введения с помощью аутологичной плазмы, обогащённой тромбоцитами [50]. В то же время совершенствование хирургических методов позволяет варьировать степень повреждения сетчатки и таким образом моделировать проявления наследственных заболеваний *in vivo* [51].

Многие дистрофии сетчатки поражают несколько типов клеток, поэтому необходимо глубокое понимание механизмов межклеточных взаимодействий при патогенезе, которые не могут быть воспроизведены в гомогенной двумерной культуре, полученной из ИПСК. Например, клетки пигментного эпителия сетчатки выполняют не только барьерную функцию и являются источником факторов роста, но также обеспечивают жизнедеятельность фоторецепторов за счёт фагоцитоза дисков и участвуют в зрительном цикле [51]. Поэтому ведутся разработки по оптимизации методологий создания трёхмерных моделей сетчатки *in vitro*, которые называются органоидами сетчатки. Органоиды сетчатки, ламинарной (послойной) структуры, позволяют повысить уровень сложности клеточных культуральных моделей [52, 53]. Эти самоорганизующиеся сетчатки можно использовать для исследования взаимодействий между различными слоями клеток, причём для некоторых из них даже была показана реакция на свет [20, 37]. Преимуществом такого подхода

является способность развивать нейронную сетчатку пациента *in vitro* для изучения взаимодействия между различными типами клеток сетчатки.

В частности, при заболеваниях сетчатки, при которых дегенерация её пигментного эпителия приводит к гибели фоторецепторов, нарушению пространственной организации и временной передачи сигналов между двумя типами клеток, органоиды могут помочь в понимании механизмов болезни. Существующие протоколы получения органоидов сетчатки воспроизводят ткань, содержащую клетки пигментного эпителия сетчатки и фоторецепторы с рудиментарными внешними сегментами, которые рассматриваются как потенциальный источник для трансплантации клеток. Органоиды являются мощным инструментом для моделирования заболеваний сетчатки и имитации патологической физиологии, наблюдаемой у пациентов, которые страдают этими заболеваниями.

Несмотря на значительный прогресс, остается ещё много проблем, связанных с использованием органоидов сетчатки [54]: прежде всего различия между партиями; методы для получения клеток, пригодных для трансплантации, из органоидов сетчатки [54, 55]; безопасность и длительное выживание трансплантированных клеток или тканей *in vivo* [55]; и, наконец, эффективность формирования нейронной цепи у хозяина. К примеру, методы индукции органоидов сетчатки могут быть разделены на три категории. Первая категория адаптирует процесс 2D к 3D, но без прохождения стадии эмбриоидных тел [56, 57]. Согласно этому протоколу, ИПСК культивируют до 70% конfluenceности в специфической среде в чашках для культивирования до формирования самообразующихся нейроэпителиоподобных структур, которые появляются примерно через 4 нед. Два других характерных протокола задействуют эмбриональные стволовые клетки, диссоциацию и дорастание до эмбриоидных тел с последующим формированием нейроэпителиоидных структур [18, 58]. Хотя технология получения органоидов сетчатки сделала большой скачок вперёд за последние годы, остаётся ещё много проблем, связанных с использованием органоидов, таких как высокая гетерогенность между клеточными линиями и результатами экспериментов, длительное время культивирования, прогрессирующая дегенерация внутренних слоёв клеток и чистота клеток-мишеней.

Отдельного внимания заслуживает дифференцировка ИПСК из соматических клеток пациентов с ретинопатиями в органоиды сетчатки для изучения и моделирования заболеваний (см. табл. 3). Такие органоиды с пониженным уровнем экспрессии генов *AIP1* и *PDE6* были получены из ИПСК пациентов с амаврозом Лебера, несмотря на то, что органоиды демонстрировали нормальную citoархитектуру [43]. При анализе органоидов сетчатки, полученных из ИПСК с нокаутом по гену *AIP1*, наблюдали проявление фенотипа врождённого амавроза Лебера 4-го типа (LCA4), в том числе увеличение уровня продукции циклического гуанозинмонофосфата, что делает эти органоиды подходящей моделью для изучения заболевания [44]. Ещё в одном исследовании показано, что органоиды сетчатки, полученные от клеток пациентов с амаврозом Лебера, имеют неопределяемые количества гена *AIP1*, а также гена *PDE6* по сравнению с контрольными культурами [45]. Клетки сетчатки, полученные из ИПСК пациента с макулярной телеангиэктазией, демонстрировали нарушение митохондриальной функции [46]. Аномальные клетки пигментного эпителия образовывались из ИПСК пациента с пигментным ретинитом [47]. А в другом исследовании моделирование пигментного ретинита с помощью полученных из ИПСК ретиноидных органоидов показало массивную гибель клеток после их формирования [48].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Велико число людей, теряющих зрение из-за поражения клеток сетчатки глаза, при котором обычные методы лечения дегенерации сетчатки неэффективны. Поэтому моделирование *in vitro* подобных заболеваний с использованием клеток, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток сетчатки, может послужить инструментом для более глубокого понимания патологических процессов, лежащих в основе их гибели. Возможность отслеживания молекулярных изменений в реальном времени при использовании подобных моделей *in vitro* позволяет тестировать новые терапевтические подходы и разрабатывать персонализированные методы лечения. Удобство такого подхода к изучению заболеваний опосредовано высокой эффективностью перепрограммирования существующими методами, в том числе с использованием эписомальных векторов и мРНК, сохраняющих целостность клеточного генома. Помимо этого, неинвазивное получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток из взрослых соматических клеток ликвидирует многие религиозные и этические вопросы, связанные с

эмбриональными стволовыми клетками. Важно отметить, что индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, как и эмбриональные стволовые клетки, представляют собой почти неограниченный источник клеточного материала, полученного от пациентов, из-за присущей им способности к самообновлению, и сохраняют при этом способность генерировать клетки из трёх зародышевых листков.

Успешное моделирование дегенерации сетчатки зависит от понимания взаимосвязи между клиническим фенотипом заболевания и молекулярными и клеточными особенностями специфических генетических вариантов в клетках сетчатки, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Необходимо также учитывать особенности межклеточного взаимодействия клеток сетчатки при патогенезе, потенциальным инструментом чего служат органоиды. Ламинарная структура органоидов сетчатки повышает сложность модели, превращая её в мощный инструмент для имитации патологической физиологии, наблюдаемой у пациентов. Однако, несмотря на значительный прогресс, технология имеет недостатки, связанные с различиями между генерациями, длительностью выживания трансплантированных клеток *in vivo*, изменениями в экспрессии генов. Поэтому требуется дальнейшее совершенствование методик дифференцировки и отбора клонов индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, позволяющих получать идентичные между партиями дифференцированные органоиды или отдельные клеточные линии, что позволит с точностью определять патофизиологию наследственных заболеваний сетчатки и тестировать методы лечения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Публикация настоящей работы поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-10-2021-093; Проект GTH-RND-2112).

Конфликт интересов. Статья подготовлена в рамках диссертационной работы Е.В. Лапшина.

Вклад авторов. Е.В. Лапшин — поиск литературных источников и написание текста; Ю.Г. Гершович — поиск литературных источников и написание текста; Е.С. Минская — редактирование статьи; А.В. Карабельский — редактирование статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The publication of this work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-10-2021-093; Project GTH-RND-2112).

Competing interests. The article was prepared as part of the dissertation work of E.V. Lapshin.

Authors' contribution. E.V. Lapshin — literature search and manuscript writing; Yu.G. Gershovich — literature search and manuscript writing; E.S. Minskaya — manuscript editing; A.V. Karabelsky — manuscript editing. All authors confirm that their authorship meets the international ICMJE criteria (all authors made a significant contribution to the development of the concept, conduct of the study and preparation of the article, read and approved the final version before publication).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors // *Cell*. 2007. Vol. 131, N 5. P. 861–872. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.019
2. Maherali N., Sridharan R., Xie W., et al. Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution // *Cell Stem Cell*. 2007. Vol. 1, N 1. P. 55–70. doi: 10.1016/j.stem.2007.05.014
3. Park I.H., Zhao R., West J.A., et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors // *Nature*. 2008. Vol. 451, N 7175. P. 141–146. doi: 10.1038/nature06534
4. Lowry W.E., Richter L., Yachechko R., et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblasts // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008. Vol. 105, N 8. P. 2883–2888. doi: 10.1073/pnas.0711983105
5. Gill K.P., Hewitt A.W., Davidson K.C., et al. Methods of retinal ganglion cell differentiation from pluripotent stem cells // *Transl Vis Sci Technol*. 2014. Vol. 3, N 4. P. 7. doi: 10.1167/tvst.3.3.7

6. Chen M., Chen Q., Sun X., et al. Generation of retinal ganglion-like cells from reprogrammed mouse fibroblasts // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010. Vol. 51, N 11. P. 5970–5978. doi: 10.1167/iovs.09-4504
7. Meng F., Wang X., Gu P., et al. Induction of retinal ganglion-like cells from fibroblasts by adenoviral gene delivery // *Neuroscience*. 2013. Vol. 250. P. 381–393. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.07.001
8. Ohlemacher S.K., Sridhar A., Xiao Y., et al. Stepwise differentiation of retinal ganglion cells from human pluripotent stem cells enables analysis of glaucomatous neurodegeneration // *Stem Cells*. 2016. Vol. 34, N 6. P. 1553–1562. doi: 10.1002/stem.2356
9. Parameswaran S., Balasubramanian S., Babai N., et al. Induced pluripotent stem cells generate both retinal ganglion cells and photoreceptors: therapeutic implications in degenerative changes in glaucoma and age-related macular degeneration // *Stem Cells*. 2010. Vol. 28, N 4. P. 695–703. doi: 10.1002/stem.320
10. Sluch V.M., Davis C.H., Ranganathan V., et al. Differentiation of human ESCs to retinal ganglion cells using a CRISPR engineered reporter cell line // *Sci Rep*. 2015. Vol. 5. P. 16595. doi: 10.1038/srep16595
11. Tanaka T., Yokoi T., Tamalu F., et al. Generation of retinal ganglion cells with functional axons from human induced pluripotent stem cells // *Sci Rep*. 2015. Vol. 5. P. 8344. doi: 10.1038/srep08344
12. Xie B.B., Zhang X.M., Hashimoto T., et al. Differentiation of retinal ganglion cells and photoreceptor precursors from mouse induced pluripotent stem cells carrying an Atoh7/Math5 lineage reporter // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, N 11. e112175. doi: 10.1371/journal.pone.0112175
13. Wu Y.R., Wang A.G., Chen Y.T., et al. Bioactivity and gene expression profiles of hiPSC-generated retinal ganglion cells in MT-ND4 mutated Leber's hereditary optic neuropathy // *Exp Cell Res*. 2018. Vol. 363, N 2. P. 299–309. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.01.020
14. Yang Y.P., Chang Y.L., Lai Y.H., et al. Retinal circular RNA hsa_circ_0087207 expression promotes apoptotic cell death in induced pluripotent stem cell-derived Leber's hereditary optic neuropathy-like models // *Biomedicine*. 2022. Vol. 10, N 4. P. 788. doi: 10.3390/biomedicine10040788
15. Wong R.C.B., Lim S.Y., Hung S.S.C., et al. Mitochondrial replacement in an iPSC model of Leber's hereditary optic neuropathy // *Aging (Albany NY)*. 2017. Vol. 9, N 4. P. 1341–1350. doi: 10.18632/aging.101231
16. Das A., Bell C.M., Berlinicke C.A., et al. Programmed switch in the mitochondrial degradation pathways during human retinal ganglion cell differentiation from stem cells is critical for RGC survival // *Redox Biol*. 2020. Vol. 34. P. 101465. doi: 10.1016/j.redox.2020.101465
17. Buchholz D.E., Pennington B.O., Croze R.H., et al. Rapid and efficient directed differentiation of human pluripotent stem cells into retinal pigmented epithelium // *Stem Cells Transl Med*. 2013. Vol. 2, N 5. P. 384–393. doi: 10.5966/sctm.2012-0163
18. Reichman S., Terray A., Slembrouck A., et al. From confluent human iPSCs to self-forming neural retina and retinal pigmented epithelium // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014. Vol. 111, N 23. P. 8518–8523. doi: 10.1073/pnas.1324212111
19. Kuwahara A., Ozone C., Nakano T., et al. Generation of a ciliary margin-like stem cell niche from self-organizing human retinal tissue // *Nat Commun*. 2015. Vol. 6. P. 6286. doi: 10.1038/ncomms7286
20. Meyer J.S., Howden S.E., Wallace K.A., et al. Optic vesicle-like structures derived from human pluripotent stem cells facilitate a customized approach to retinal disease treatment // *Stem Cells*. 2011. Vol. 29, N 8. P. 1206–1218. doi: 10.1002/stem.674
21. Yang Y.P., Nguyen P.N.N., Lin T.C., et al. Glutamate stimulation dysregulates AMPA receptor-induced signal transduction pathway in Leber's inherited optic neuropathy patient-specific hiPSC-derived retinal ganglion cells // *Cells*. 2019. Vol. 8, N 6. P. 625. doi: 10.3390/cells8060625
22. Idelson M., Alper R., Obolensky A., et al. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional retinal pigment epithelium cells // *Cell Stem Cell*. 2009. Vol. 5, N 4. P. 396–408. doi: 10.1016/j.stem.2009.07.002
23. Osakada F., Jin Z.B., Hiramami Y., et al. In vitro differentiation of retinal cells from human pluripotent stem cells by small-molecule induction // *J Cell Sci*. 2009. Vol. 122, Pt 17. P. 3169–3179. doi: 10.1242/jcs.050393
24. Szabo N.E., Zhao T., Zhou X., Alvarez-Bolado G. The role of Sonic hedgehog of neural origin in thalamic differentiation in the mouse // *J Neurosci*. 2009. Vol. 29, N 8. P. 2453–2466. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4524-08.2009
25. Badea T.C., Williams J., Smallwood P., et al. Combinatorial expression of Brn3 transcription factors in somatosensory neurons: genetic and morphologic analysis // *J Neurosci*. 2012. Vol. 32, N 3. P. 995–1007. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4755-11.2012

26. Riazifar H., Jia Y., Chen J., et al. Chemically induced specification of retinal ganglion cells from human embryonic and induced pluripotent stem cells // *Stem Cells Transl Med.* 2014. Vol. 3, N 4. P. 424–432. doi: 10.5966/sctm.2013-0147
27. Yang T.C., Yarmishyn A.A., Yang Y.P., et al. Mitochondrial transport mediates survival of retinal ganglion cells in affected LHON patients // *Hum Mol Genet.* 2020. Vol. 29, N 9. P. 1454–1464. doi: 10.1093/hmg/ddaa063
28. Nie Z., Wang C., Chen J., et al. Abnormal morphology and function in retinal ganglion cells derived from patients-specific iPSCs generated from individuals with Leber's hereditary optic neuropathy // *Hum Mol Genet.* 2023. Vol. 32, N 2. P. 231–243. doi: 10.1093/hmg/ddac190
29. Ji D., Su X., Hu C., et al. Generation of an induced pluripotent stem cell line from a patient with leber's hereditary optic neuropathy carrying a homoplasmic m.3635G > A mutation in the mitochondrial ND1 gene // *Stem Cell Res.* 2022. Vol. 63. P. 102858. doi: 10.1016/j.scr.2022.102858
30. Teo A.K., Arnold S.J., Trotter M.W., et al. Pluripotency factors regulate definitive endoderm specification through eomesodermin // *Genes Dev.* 2011. Vol. 25, N 3. P. 238–250. doi: 10.1101/gad.607311
31. International Stem Cell Initiative. Assessment of established techniques to determine developmental and malignant potential of human pluripotent stem cells // *Nat Commun.* 2018. Vol. 9, N 1. P. 1925. doi: 10.1038/s41467-018-04011-3
32. Lidgerwood G.E., Lim S.Y., Crombie D.E., et al. Defined medium conditions for the induction and expansion of human pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium // *Stem Cell Rev Rep.* 2016. Vol. 12, N 2. P. 179–188. doi: 10.1007/s12015-015-9636-2
33. D'Antonio-Chronowska A., D'Antonio M., Frazer K.A. In vitro differentiation of human iPSC-derived retinal pigment epithelium cells (iPSC-RPE) // *Bio Protoc.* 2019. Vol. 9, N 24. P. e3469. doi: 10.21769/BioProtoc.3469
34. Hazim R.A., Karumbayaram S., Jiang M., et al. Differentiation of RPE cells from integration-free iPSC cells and their cell biological characterization // *Stem Cell Res Ther.* 2017. Vol. 8, N 1. P. 217. Corrected and republished from: *Stem Cell Res Ther.* 2019. Vol. 10, N 1. P. 52. doi: 10.1186/s13287-017-0652-9
35. Sharma R., Khristov V., Rising A., et al. Clinical-grade stem cell-derived retinal pigment epithelium patch rescues retinal degeneration in rodents and pigs // *Sci Transl Med.* 2019. Vol. 11, N 475. P. eaat5580. Corrected and republished from: *Sci Transl Med.* 2019. Vol. 11, N 478. doi: 10.1126/scitranslmed.aat5580
36. Ржанова, Л.А., Кузнецова А.В., Александрова, М.А. Репрограммирование дифференцированного ретинального пигментного эпителия млекопитающих и человека: современные достижения и перспективы // *Онтогенез.* 2020. Т. 51, № 4. С. 254–274. EDN: RXSBOK doi: 10.31857/S0475145020040060
37. Hallam D., Hilgen G., Dorgau B., et al. Human-induced pluripotent stem cells generate light responsive retinal organoids with variable and nutrient-dependent efficiency // *Stem Cells.* 2018. Vol. 36, N 10. P. 1535–1551. doi: 10.1002/stem.2883
38. Hau K.L., Lane A., Guarascio R., Cheetham M.E. Eye on a dish models to evaluate splicing modulation // *Methods Mol Biol.* 2022. Vol. 2434. P. 245–255. doi: 10.1007/978-1-0716-2010-6_16
39. Christensen D.R.G., Brown F.E., Cree A.J., et al. Sorsby fundus dystrophy — a review of pathology and disease mechanisms // *Exp Eye Res.* 2017. Vol. 165. P. 35–46. doi: 10.1016/j.exer.2017.08.014
40. Hongisto H., Dewing J.M., Christensen D.R., et al. In vitro stem cell modelling demonstrates a proof-of-concept for excess functional mutant TIMP3 as the cause of Sorsby fundus dystrophy // *J Pathol.* 2020. Vol. 252, N 2. P. 138–150. doi: 10.1002/path.5506
41. Galloway C.A., Dalvi S., Hung S.S.C., et al. Drusen in patient derived hiPSC-RPE models of macular dystrophies // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017. Vol. 114, N 39. P. E8214–E8223. doi: 10.1073/pnas.1710430114
42. Mandai M., Watanabe A., Kurimoto Y., et al. Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration // *N Engl J Med.* 2017. Vol. 376, N 11. P. 1038–1046. doi: 10.1056/NEJMoa1608368
43. Lukovic D., Artero Castro A., Kaya K.D., et al. Retinal organoids derived from hiPSCs of an AIPL1-LCA patient maintain cytoarchitecture despite reduced levels of mutant AIPL1 // *Sci Rep.* 2020. Vol. 10, N 1. P. 5426. doi: 10.1038/s41598-020-62047-2
44. Perdigo P.R.L., Ollington B., Sai H., et al. Retinal organoids from an AIPL1 CRISPR/Cas9 knockout cell line successfully recapitulate the molecular features of LCA4 disease // *Int J Mol Sci.* 2023. Vol. 24, N 6. P. 5912. doi: 10.3390/ijms24065912

45. Leung A., Sacristan-Reviriego A., Perdigo P.R.L., et al. Investigation of PTC124-mediated translational readthrough in a retinal organoid model of AIPL1-associated Leber congenital amaurosis // *Stem Cell Reports*. 2022. Vol. 17, N 10. P. 2187–2202. doi: 10.1016/j.stemcr.2022.08.005
46. Eade K.T., Ansell B.R.E., Giles S., et al. iPSC-derived retinal pigmented epithelial cells from patients with macular telangiectasia show decreased mitochondrial function // *J Clin Invest*. 2023. Vol. 133, N 9. P. e163771. doi: 10.1172/JCI163771
47. Liang Y., Tan F., Sun X., et al. Aberrant retinal pigment epithelial cells derived from induced pluripotent stem cells of a retinitis pigmentosa patient with the PRPF6 mutation // *Int J Mol Sci*. 2022. Vol. 23, N 16. P. 9049. doi: 10.3390/ijms23169049
48. Lane A., Jovanovic K., Shortall C., et al. Modeling and rescue of RP2 retinitis pigmentosa using iPSC-derived retinal organoids // *Stem Cell Reports*. 2020. Vol. 15, N 1. P. 67–79. doi: 10.1016/j.stemcr.2020.05.007
49. Шеремет Н.Л., Микаелян А.А., Андреев А.Ю., и др. Возможности экспериментального моделирования повреждающего воздействия на пигментный эпителий сетчатки // *Вестник офтальмологии*. 2021, Т. 137, № 1. С. 5–12. EDN: GARRBX doi: 10.17116/oftalma20211370115
50. Нероева Н.В., Нероев В.В., Катаргина Л.А., и др. Заместительная трансплантация стволовыми клетками при атрофии ретинального пигментного эпителия в эксперименте. // *Вестник офтальмологии*. 2022, Т. 138, № 3. С. 7–15. EDN: DESQXT doi: 10.17116/oftalma20221380317
51. Харитонов А.Е., Сурдина А.В., Лебедева О.С., и др. Возможности использования плюрипотентных стволовых клеток для восстановления поврежденного пигментного эпителия сетчатки глаза // *Acta Naturae*. 2018. Т. 10, № 3. С. 31–41. EDN: SKFHIN doi: 10.32607/20758251-2018-10-3-30-39
52. Nakano T., Ando S., Takata N., et al. Self-formation of optic cups and storable stratified neural retina from human ESCs // *Cell Stem Cell*. 2012. Vol. 10, N 6. P. 771–785. doi: 10.1016/j.stem.2012.05.009
53. Mellough C.B., Collin J., Queen R., et al. Systematic comparison of retinal organoid differentiation from human pluripotent stem cells reveals stage specific, cell line, and methodological differences // *Stem Cell Transl. Med*. 2019. Vol. 8, N 7. P. 694–706. doi: 10.1002/sctm.18-0267
54. Zhong X., Gutierrez C., Xue T., et al. Generation of three-dimensional retinal tissue with functional photoreceptors from human iPSCs // *Nat Commun*. 2014. Vol. 5. P. 4047. doi: 10.1038/ncomms5047
55. Wahlin K.J., Maruotti J.A., Sripathi S.R., et al. Photoreceptor outer segment-like structures in long-term 3D retinas from human pluripotent stem cells // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7, N 1. P. 766. doi: 10.1038/s41598-017-00774-9
56. Zhang Z., Xu Z., Yuan F., et al. Retinal organoid technology: where are we now? // *Int J Mol Sci*. 2021. Vol. 22, N 19. P. 10244. doi: 10.3390/ijms221910244
57. Singh M.S., Park S.S., Albini T.A., et al. Retinal stem cell transplantation: balancing safety and potential // *Prog Retin Eye Res*. 2020. Vol. 75. P. 100779. doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.100779
58. Reichman S., Slembrouck A., Gagliardi G., et al. Generation of storable retinal organoids and retinal pigmented epithelium from adherent human iPS cells in xeno-free and feeder-free conditions // *Stem Cells*. 2017. Vol. 35, N 5. P. 1176–1188. doi: 10.1002/stem.2586

REFERENCES

1. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861–872. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.019
2. Maherali N, Sridharan R, Xie W, et al. Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell*. 2007;1(1):55–70. doi: 10.1016/j.stem.2007.05.014
3. Park IH, Zhao R, West JA, et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature*. 2008;451(7175):141–146. doi: 10.1038/nature06534
4. Lowry WE, Richter L, Yachechko R, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(8):2883–2888. doi: 10.1073/pnas.0711983105
5. Gill KP, Hewitt AW, Davidson KC, et al. Methods of retinal ganglion cell differentiation from pluripotent stem cells. *Transl Vis Sci Technol*. 2014;3(4):7. doi: 10.1167/tvst.3.3.7
6. Chen M, Chen Q, Sun X, et al. Generation of retinal ganglion-like cells from reprogrammed mouse fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(11):5970–5978. doi: 10.1167/iovs.09-4504
7. Meng F, Wang X, Gu P, et al. Induction of retinal ganglion-like cells from fibroblasts by adenoviral gene delivery. *Neuroscience*. 2013;250:381–393. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.07.001

8. Ohlemacher SK, Sridhar A, Xiao Y, et al. Stepwise differentiation of retinal ganglion cells from human pluripotent stem cells enables analysis of glaucomatous neurodegeneration. *Stem Cells*. 2016;34(6):1553–1562. doi: 10.1002/stem.2356
9. Parameswaran S, Balasubramanian S, Babai N, et al. Induced pluripotent stem cells generate both retinal ganglion cells and photoreceptors: therapeutic implications in degenerative changes in glaucoma and age-related macular degeneration. *Stem Cells*. 2010;28(4):695–703. doi: 10.1002/stem.320
10. Sluch VM, Davis CH, Ranganathan V, et al. Differentiation of human ESCs to retinal ganglion cells using a CRISPR engineered reporter cell line. *Sci Rep*. 2015;5:16595. doi: 10.1038/srep16595
11. Tanaka T, Yokoi T, Tamalu F, et al. Generation of retinal ganglion cells with functional axons from human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep*. 2015;5:8344. doi: 10.1038/srep08344
12. Xie BB, Zhang XM, Hashimoto T, et al. Differentiation of retinal ganglion cells and photoreceptor precursors from mouse induced pluripotent stem cells carrying an Atoh7/Math5 lineage reporter. *PLoS One*. 2014;9(11):e112175. doi: 10.1371/journal.pone.0112175
13. Wu YR, Wang AG, Chen YT, et al. Bioactivity and gene expression profiles of hiPSC-generated retinal ganglion cells in MT-ND4 mutated Leber's hereditary optic neuropathy. *Exp Cell Res*. 2018;363(2):299–309. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.01.020
14. Yang YP, Chang YL, Lai YH, et al. Retinal circular RNA hsa_circ_0087207 expression promotes apoptotic cell death in induced pluripotent stem cell-derived Leber's hereditary optic neuropathy-like models. *Biomedicines*. 2022;10(4):788. doi: 10.3390/biomedicines10040788
15. Wong RCB, Lim SY, Hung SSC, et al. Mitochondrial replacement in an iPSC model of Leber's hereditary optic neuropathy. *Aging (Albany NY)*. 2017;9(4):1341–1350. doi: 10.18632/aging.101231
16. Das A, Bell CM, Berlinicke CA, et al. Programmed switch in the mitochondrial degradation pathways during human retinal ganglion cell differentiation from stem cells is critical for RGC survival. *Redox Biol*. 2020;34:101465. doi: 10.1016/j.redox.2020.101465
17. Buchholz DE, Pennington BO, Croze RH, et al. Rapid and efficient directed differentiation of human pluripotent stem cells into retinal pigmented epithelium. *Stem Cells Transl Med*. 2013;2(5):384–393. doi: 10.5966/sctm.2012-0163
18. Reichman S, Terray A, Slembrouck A, et al. From confluent human iPS cells to self-forming neural retina and retinal pigmented epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(23):8518–8523. doi: 10.1073/pnas.1324212111
19. Kuwahara A, Ozone C, Nakano T, et al. Generation of a ciliary margin-like stem cell niche from self-organizing human retinal tissue. *Nat Commun*. 2015;6:6286. doi: 10.1038/ncomms7286
20. Meyer JS, Howden SE, Wallace KA, et al. Optic vesicle-like structures derived from human pluripotent stem cells facilitate a customized approach to retinal disease treatment. *Stem Cells*. 2011;29(8):1206–1218. doi: 10.1002/stem.674
21. Yang YP, Nguyen PNN, Lin TC, et al. Glutamate stimulation dysregulates AMPA receptors-induced signal transduction pathway in Leber's inherited optic neuropathy patient-specific hiPSC-derived retinal ganglion cells. *Cells*. 2019;8(6):625. doi: 10.3390/cells8060625
22. Idelson M, Alper R, Obolensky A, et al. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional retinal pigment epithelium cells. *Cell Stem Cell*. 2009;5(4):396–408. doi: 10.1016/j.stem.2009.07.002
23. Osakada F, Jin ZB, Hiram Y, et al. In vitro differentiation of retinal cells from human pluripotent stem cells by small-molecule induction. *J Cell Sci*. 2009;122(Pt 17):3169–3179. doi: 10.1242/jcs.050393
24. Szabó NE, Zhao T, Zhou X, Alvarez-Bolado G. The role of Sonic hedgehog of neural origin in thalamic differentiation in the mouse. *J Neurosci*. 2009;29(8):2453–2466. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4524-08.2009
25. Badea TC, Williams J, Smallwood P, et al. Combinatorial expression of Brn3 transcription factors in somatosensory neurons: genetic and morphologic analysis. *J Neurosci*. 2012;32(3):995–1007. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4755-11.2012
26. Riazifar H, Jia Y, Chen J, et al. Chemically induced specification of retinal ganglion cells from human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Transl Med*. 2014;3(4):424–432. doi: 10.5966/sctm.2013-0147
27. Yang TC, Yarmishyn AA, Yang YP, et al. Mitochondrial transport mediates survival of retinal ganglion cells in affected LHON patients. *Hum Mol Genet*. 2020;29(9):1454–1464. doi: 10.1093/hmg/ddaa063

28. Nie Z, Wang C, Chen J, et al. Abnormal morphology and function in retinal ganglion cells derived from patients-specific iPSCs generated from individuals with Leber's hereditary optic neuropathy. *Hum Mol Genet.* 2023;32(2):231–243. doi: 10.1093/hmg/ddac190
29. Ji D, Su X, Hu C, et al. Generation of an induced pluripotent stem cell line from a patient with leber's hereditary optic neuropathy carrying a homoplasmic m.3635G > A mutation in the mitochondrial ND1 gene. *Stem Cell Res.* 2022;63:102858. doi: 10.1016/j.scr.2022.102858
30. Teo AK, Arnold SJ, Trotter MW, et al. Pluripotency factors regulate definitive endoderm specification through eomesodermin. *Genes Dev.* 2011;25(3):238–250. doi: 10.1101/gad.607311
31. International Stem Cell Initiative. Assessment of established techniques to determine developmental and malignant potential of human pluripotent stem cells. *Nat Commun.* 2018;9(1):1925. doi: 10.1038/s41467-018-04011-3
32. Lidgerwood GE, Lim SY, Crombie DE, et al. Defined medium conditions for the induction and expansion of human pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium. *Stem Cell Rev Rep.* 2016;12(2):179–188. doi: 10.1007/s12015-015-9636-2
33. D'Antonio-Chronowska A, D'Antonio M, Frazer KA. *In vitro* differentiation of human iPSC-derived retinal pigment epithelium cells (iPSC-RPE). *Bio Protoc.* 2019;9(24):e3469. doi: 10.21769/BioProtoc.3469
34. Hazim RA, Karumbayaram S, Jiang M, et al. Differentiation of RPE cells from integration-free iPSC cells and their cell biological characterization. *Stem Cell Res Ther.* 2017;8(1):217. Corrected and republished from: *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):52. doi: 10.1186/s13287-017-0652-9
35. Sharma R, Khristov V, Rising A, et al. Clinical-grade stem cell-derived retinal pigment epithelium patch rescues retinal degeneration in rodents and pigs. *Sci Transl Med.* 2019;11(475):eaat5580. Corrected and republished from: *Sci Transl Med.* 2019;11(478). doi: 10.1126/scitranslmed.aat5580
36. Rzhanova L, Kuznetsova A, Aleksandrova M. Reprogramming of differentiated mammalian and human retinal pigment epithelium: current achievements and prospects. *Russian Journal of Developmental Biology.* 2020;51(4):212–230. EDN: RXSBOK doi: 10.31857/S0475145020040060
37. Hallam D, Hilgen G, Dorgau B, et al. Human-induced pluripotent stem cells generate light responsive retinal organoids with variable and nutrient-dependent efficiency. *Stem Cells.* 2018;36(10):1535–1551. doi: 10.1002/stem.2883
38. Hau KL, Lane A, Guarascio R, Cheetham ME. Eye on a dish models to evaluate splicing modulation. *Methods Mol Biol.* 2022;2434:245–255. doi: 10.1007/978-1-0716-2010-6_16
39. Christensen DRG, Brown FE, Cree AJ, et al. Sorsby fundus dystrophy — a review of pathology and disease mechanisms. *Exp Eye Res.* 2017;165:35–46. doi: 10.1016/j.exer.2017.08.014
40. Hongisto H, Dewing JM, Christensen DR, et al. In vitro stem cell modelling demonstrates a proof-of-concept for excess functional mutant TIMP3 as the cause of Sorsby fundus dystrophy. *J Pathol.* 2020;252(2):138–150. doi: 10.1002/path.5506
41. Galloway CA, Dalvi S, Hung SSC, et al. Drusen in patient-derived hiPSC-RPE models of macular dystrophies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114(39):E8214–E8223. doi: 10.1073/pnas.1710430114
42. Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, et al. Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration. *N Engl J Med.* 2017;376(11):1038–1046. doi: 10.1056/NEJMoa1608368
43. Lukovic D, Artero Castro A, Kaya KD, et al. Retinal organoids derived from hiPSCs of an AIPL1-LCA patient maintain cytoarchitecture despite reduced levels of mutant AIPL1. *Sci Rep.* 2020;10(1):5426. doi: 10.1038/s41598-020-62047-2
44. Perdigão PRL, Ollington B, Sai H, et al. Retinal organoids from an AIPL1 CRISPR/Cas9 knockout cell line successfully recapitulate the molecular features of LCA4 disease. *Int J Mol Sci.* 2023;24(6):5912. doi: 10.3390/ijms24065912
45. Leung A, Sacristan-Reviriego A, Perdigão PRL, et al. Investigation of PTC124-mediated translational readthrough in a retinal organoid model of AIPL1-associated Leber congenital amaurosis. *Stem Cell Reports.* 2022;17(10):2187–2202. doi: 10.1016/j.stemcr.2022.08.005
46. Eade KT, Ansell BRE, Giles S, et al. iPSC-derived retinal pigmented epithelial cells from patients with macular telangiectasia show decreased mitochondrial function. *J Clin Invest.* 2023;133(9):e163771. doi: 10.1172/JCI163771
47. Liang Y, Tan F, Sun X, et al. Aberrant retinal pigment epithelial cells derived from induced pluripotent stem cells of a retinitis pigmentosa patient with the PRPF6 mutation. *Int J Mol Sci.* 2022;23(16):9049. doi: 10.3390/ijms23169049
48. Lane A, Jovanovic K, Shortall C, et al. Modeling and rescue of RP2 retinitis pigmentosa using iPSC-derived retinal organoids. *Stem Cell Reports.* 2020;15(1):67–79. doi: 10.1016/j.stemcr.2020.05.007

49. Sheremet NL, Mikaelyan AA, Andreev AYU, et al. Possibilities of an experimental damaging effect on the retinal pigment epithelium. *Russian Annals of Ophthalmology*. 2021;137(1):5–12. EDN: GARRBX doi: 10.17116/oftalma20211370115
50. Neroeva NV, Neroev VV, Katargina LA, et al. Experimental stem cell replacement transplantation in retinal pigment epithelium atrophy. *Russian Annals of Ophthalmology*. EDN: DESQXT 2022;138(3):7–15. doi: 10.17116/oftalma20221380317
51. Kharitonov AE, Surdina AV, Lebedeva OS, et al. Possibilities for using pluripotent stem cells for restoring damaged eye retinal pigment epithelium. *Acta Naturae*. 2018;10(3):30–39. EDN: YLQJET doi: 10.32607/20758251-2018-10-3-30-39
52. Nakano T, Ando S, Takata N, et al. Self-formation of optic cups and storable stratified neural retina from human ESCs. *Cell Stem Cell*. 2012;10(6):771–785. doi: 10.1016/j.stem.2012.05.009
53. Mellough CB, Collin J, Queen R, et al. Systematic comparison of retinal organoid differentiation from human pluripotent stem cells reveals stage specific, cell line, and methodological differences. *Stem Cells Transl Med*. 2019;8(7):694–706. doi: 10.1002/sctm.18-0267
54. Zhong X, Gutierrez C, Xue T, et al. Generation of three-dimensional retinal tissue with functional photoreceptors from human iPSCs. *Nat Commun*. 2014;5:4047. doi: 10.1038/ncomms5047
55. Wahlin KJ, Maruotti JA, Sripathi SR, et al. Photoreceptor outer segment-like structures in long-term 3D retinas from human pluripotent stem cells. *Sci Rep*. 2017;7(1):766. doi: 10.1038/s41598-017-00774-9
56. Zhang Z, Xu Z, Yuan F, et al. Retinal organoid technology: where are we now? *Int J Mol Sci*. 2021;22(19):10244. doi: 10.3390/ijms221910244
57. Singh MS, Park SS, Albin TA, et al. Retinal stem cell transplantation: balancing safety and potential. *Prog Retin Eye Res*. 2020;75:100779. doi: 10.1016/j.preteyeres.2019.100779
58. Reichman S, Slembrouck A, Gagliardi G, et al. Generation of storable retinal organoids and retinal pigmented epithelium from adherent human iPS cells in xeno-free and feeder-free conditions. *Stem Cells*. 2017;35(5):1176–1188. doi: 10.1002/stem.2586

ОБ АВТОРАХ**AUTHORS' INFO**

<p>*Лапшин Евгений Витальевич; адрес: Россия, 354340, Краснодарский край, пгт Сириус, Олимпийский пр-т, д. 1; ORCID: 0000-0003-4404-2758; e-mail: lapshin.ev@talantiuspeh.ru</p>	<p>Evgeniy V. Lapshin; address: bldg 1 Olimpiyskiy avenue, 354340 Krasnodar region, Sirius, Russia; ORCID: 0000-0003-4404-2758; e-mail: lapshin.ev@talantiuspeh.ru</p>
<p>Гершович Юлия Геннадьевна, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-6740-438X; e-mail: jg.gershovich@gmail.com</p>	<p>Yulia G. Gershovich, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-6740-438X e-mail: jg.gershovich@gmail.com</p>
<p>Минская Екатерина Сергеевна, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-1137-373X; eLibrary SPIN: 9750-6964; e-mail: minskaya.es@talantiuspeh.ru</p>	<p>Ekaterina S. Minskaya, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-1137-373X; eLibrary SPIN: 9750-6964; e-mail: minskaya.es@talantiuspeh.ru</p>
<p>Карабельский Александр Владимирович, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-6391-5182; eLibrary SPIN: 6898-8414;</p>	<p>Alexander V. Karabelsky, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-6391-5182; eLibrary SPIN: 6898-8414; e-mail: karabelskiy.av@siriusuniversity.ru</p>

e-mail: karabelskiy.av@siriusuniversity.ru

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

РИСУНКИ

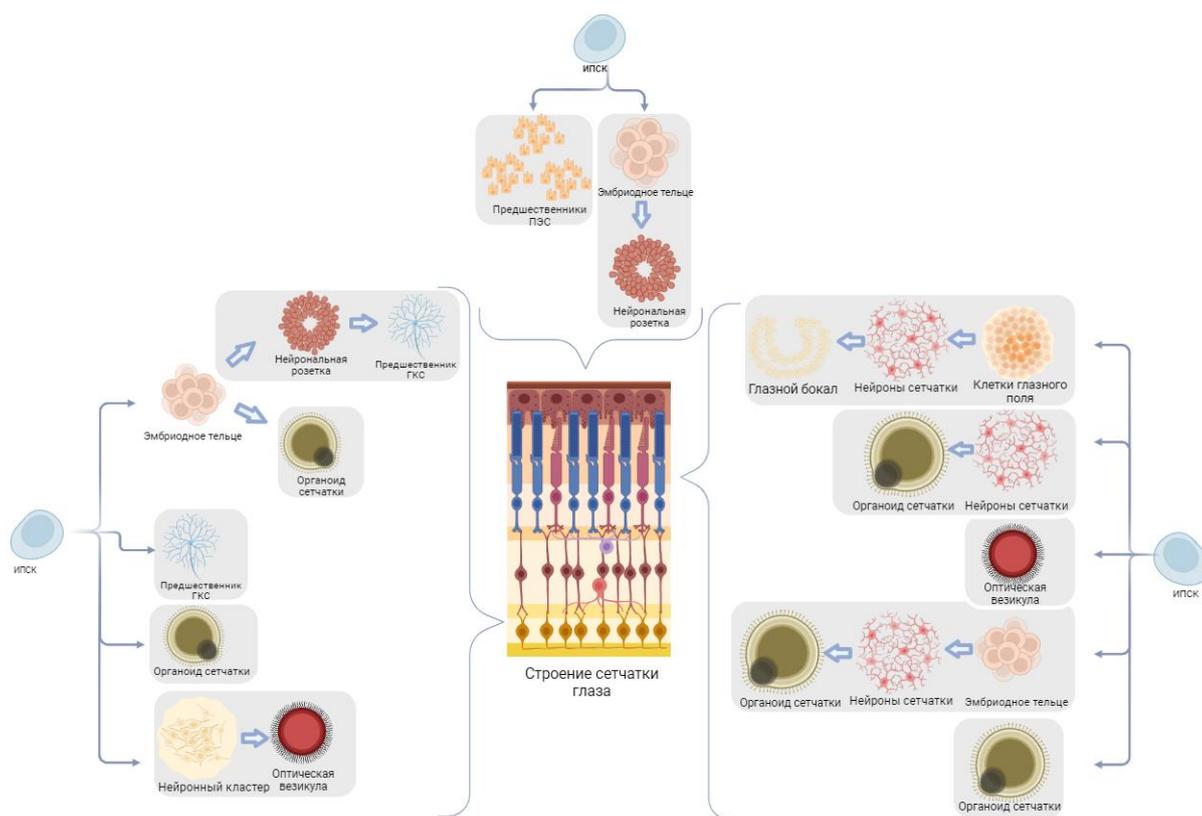


Рис. 1. Поэтапные морфологические изменения в культуре клеток при дифференцировке в клетки сетчатки. ИПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, ПЭС — пигментный эпителий сетчатки, ГКС — ганглиозные клетки сетчатки.

Fig. 1. Schematic presentation of stepwise morphologic changes in cell culture during differentiation into retinal cells. ИПСК — induced pluripotent stem cells, ПЭС — retinal pigment epithelium, ГКС — retinal ganglion cells.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Приложение 1

Таблица 1. Характеристика добавок, применяемых для дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в клетки сетчатки

Table 1. Characteristics of supplements used for differentiation of induced pluripotent stem cells into retinal cells

Добавка	Описание добавок	Концентрация	Литература
B27	Химически-определённая смесь антиоксидантных ферментов, витаминов, белков и жирных кислот для поддержки выживания в культуре	1x	[9, 10, 12–17]
N2	Химически-определённая добавка для роста и экспрессии нейробластом, а также постмитотических нейронов в первичных культурах как периферической, так и центральной нервной системы. Содержит рекомбинантный человеческий инсулин, чтобы имитировать роль инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1) в стимулировании дифференцировки в сторону линии сетчатки	1x	[7–12, 14–19]
Noggin	Белок, способный подавлять активацию белков семейства BMP (костные морфогенные белки), которые могут стимулировать дифференцировку клеток в определённые типы. Путём управления активацией белков BMP способствует формированию различных клеточных линий, например нейрональных клеток из стволовых клеток, или предотвращению их дифференцировки в другие типы клеток	1–10–50–100 нг/мл	[6, 11, 13, 15, 17]
Дорсоморфин	Небольшая органическая молекула, которая используется как ингибитор сигнальных путей, связанных с белками BMP и AMPK. Незначительно ингибирует структурно-родственные киназы, такие как ZAPK, SYK, PKC θ , PKA или JAK3. Подавляет остеогенную дифференцировку остеобластов из мезенхимальных клеток человека	100-400 нг/мл	[16, 20]
DKK1	Антагонист Dickkopf-1. Является белком, ингибирующим сигнальный путь Wnt — один из основных сигнальных путей, который контролирует множество биологических процессов, включая развитие клеток, дифференцировку и регенерацию тканей. Связываясь с LRP5/6 (low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6), снижает стабильность фактора транскрипции β -катенина и приводит к снижению активации сигнального пути Wnt. Это может привести к началу процесса дифференциации из стволовых клеток в нейроны, миоциты или клетки эпителия в зависимости от используемых протоколов	1–10–100 нг/мл	[6, 17, 20]
XAV939	Ингибирует поли-АДФ-рибозилтрансферазу (TNKS1), что приводит к стабилизации белка Axin. Увеличение концентрации Axin приводит к усилению разрушения бета-катенина и, как следствие, — к снижению активации сигнального пути Wnt	100 нг/мл	[20]
IGF-1	Фактор роста, подобный инсулину-1. Способствует увеличению числа клеток, активируя сигнальные пути, такие как PI3K/Akt и MAPK/ERK. Эти пути сигнализации могут содействовать не только пролиферации, но и началу процессов дифференциации клеток. Необходим для эмбрионального развития и вырабатывается главным образом в печени в ответ на гормон роста гепатоцитов	5–10 нг/мл	[15, 17]
EGF	Эпидермальный фактор роста, активирует сигнальные пути PI3K, ERK1/2, JAK/STAT, способствует митогенному ответу	20 нг/мл	[20]
BFGF	BFGF — основной фактор роста фибробластов. Способствует пролиферации различных типов клеток и может также ускорять или стимулировать их дифференцировку. Это происходит за счёт активации сигнальных путей, таких как MAPK/ERK и PI3K/Akt, которые контролируют множество биологических функций клеток	5–10–20 нг/мл	[6, 15, 17, 21]
FGF2	Фактор роста фибробластов 2. Функционально схож с IGF	10–20 нг/мл	[9, 18, 20]
FGF-8	Представляет собой гепарин-связывающий фактор роста, принадлежащий семейству FGF. Белки этого семейства играют центральную роль в ходе пренатального развития, постнатального роста и регенерации различных тканей, способствуя клеточной пролиферации и дифференцировке	25 нг/мл	[10]
FGF-A	Представляет собой негликозилированный гепарин-связывающий фактор роста, который экспрессируется в головном мозге, почках, сетчатке, гладкомышечных клетках, костном матриксе, остеобластах, астроцитах и эндотелиальных клетках. FGF-кислотный обладает способностью передавать сигналы через рецепторы FGF	50 нг/мл	[10]
Никотинамид (NIC)	Амидное производное витамина В3, предшественник NAD ⁺ и ингибитор поли(АДФ-рибозы)-полимеразы (PARP). PARP — участник в синтезе поли(АДФ-рибозы), АДФ-рибозилирования и репарации ДНК	10 мМ	[16, 17]
3-	Ингибитор поли(АДФ-рибозы)-полимеразы (PARP)	5 мМ	[17]

аминобензами

Д				
Активин А	Цитокин, который относится к семейству трансформирующих факторов роста бета (TGF-β). Передаёт сигнал через белки SMAD2/3, регулируя различные функции, включая пролиферацию клеток, дифференцировку, заживление ран, апоптоз и метаболизм	20–100– 180 нг/мл	[17, 20, 22]	
TGF-β1	Связывается с рецепторами серин-треониновой киназы типа I и II и активирует передачу сигнала через белки SMAD2/3	2,5 нг/мл	[22]	
BMP4	Является членом семейства TGF-β. Связывается с рецепторами серин-треониновой киназы типа I и II, что приводит к фосфорилированию белков SMAD1/5/8	55 нг/мл	[19]	
Lefty A	Лиганды TGF-бета, которые действуют как антагонисты передачи сигналов Nodal	100 нг/мл	[6]	
BDNF	Фактор нейротрофического соматического клеточного роста, поддерживает выживание, стимуляцию роста и дифференцировку нейронов и синапсов. Связывается со своим высокоаффинным рецептором TrkB (тирозинкиназа B) и активирует каскады сигнальной трансдукции (IRS1/2, PI3K, Akt), имеющие решающее значение для продукции CREB и CBP, которые кодируют белки, участвующие в выживании β-клеток. BDNF и IGF-1 имеют сходные нижестоящие механизмы передачи сигналов, включающие как p-CAMK, так и MAPK	50–100 нг/мл	[8, 21]	
PEDF	Фактор пигментного эпителия, гликопротеин, обладает нейротрофическими свойствами, подавляет пролиферацию эндотелиальных клеток, неоваскуляризацию сетчатки. Связан с сигнальными путями MAPK, FAS/FASL. Подавляет VEGFR	100 нг/мл	[8]	
IWR-1e	Ингибирует сигнальный путь Wnt, а также Wnt-индуцированное накопление β-катенина, что приводит к протеосомной деградации этого белка	3 мкМ	[11]	
CHIR99021	Производное аминопиримидина. Ингибитор киназы гликогенсинтазы 3 (GSK3). Активатор Wnt. Проявляет активность в отношении большой группы киназ, включая CDK2 и другие серин/треониновые киназы, такие как MAPK и PKB	3 мМ	[11]	
SAG	Хлорбензотиофен содержащее соединение, которое действует как активатор рецептора SMO — компонента сигнального пути Hedgehog	100 нМ	[11]	
SU5402	Ингибитор VEGFR-2, FGFR-1, PDGFRB	10 мкМ	[17]	
VIP	Активатор аденилатциклазы гипофиза (PACAP), представляет собой нейропептид, экспрессирующийся на ранних стадиях развития, которые влияют на пролиферацию предшественников нейронов и дифференцировку нейронов. Повышает концентрацию циклического АМФ и внутриклеточного кальция	1 мМ	[17]	
SB-431542	Ингибитор пути TGF-β/Activin/NODAL	5–50 мкМ	[12, 22, 23]	
Y-27632	Ингибитор Rho-ассоциированной протеинкиназы (ROCK), конкурирует с АТФ за связывание с каталитическим сайтом этого фермента	10–20 мкМ	[11, 19, 23]	
β-меркаптоэтанол	Тиолсодержащая молекула, используется в качестве антиоксидантной добавки. Может ингибировать активность NF-κB	0,1 мМ	[11, 23]	
CKI-7	Ингибитор казеинкиназы 1 (CK1). Ингибирует также SGK, S6K1 и MSK1	5 мкМ	[12, 23]	
DAPT	Является ингибитором комплекса γ-секретазы, что ведёт к ингибированию сигнального пути Notch. Другие мишени γ-секретазы — E-кадгерин и ErbB4	10 мкМ	[12, 21, 18]	

Монотиоглицерол	Применяется в качестве реагента для разрыва дисульфидных связей в молекулах белка, что может иметь значение при дифференциации клеток. Это соединение может оказывать влияние на окружающую среду клеточного культурального раствора, способствуя дифференцировке клеток	450 мкМ	[19]
Ретиноевая кислота	Метаболит витамина А, связывается со своим рецептором, в свою очередь связанным с ДНК, и гетеродимеризует его, что приводит к активации транскрипции Нох генов	0,5 мМ 0,5–2,5 мкМ	[11, 19, 21]
Таурин	Серосодержащая аминокислота, осморегулятор, антиоксидант, стимулирует пролиферацию и способствует нейрогенезу	0,1–1 мМ	[10, 19]
Гепарин	Мукополисахарид с антикоагулянтными свойствами, поддерживает связывание FGF с его рецептором	2–5 мкг/мл	[8, 13, 14, 20]
IDE2	Активирует фосфорилирование SMAD2 и экспрессию NODAL, что активирует сигнальный путь TGF-β1	2 мкМ	[16]

Приложение 2

Таблица 2. Дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с нейропатиями в ганглиозные клетки сетчатки и их характеристика*

Table 2. Differentiation of neuropathy patient induced pluripotent stem cells into retinal ganglion cells and their characterisation

Заболевание, источник литературы	Добавки и особенности процесса дифференцировки	Длительность процесса дифференцировки, дней	Наблюдаемые биологические эффекты на клеточной модели заболевания
LHON (<i>MT-ND4</i>) [27]	N2, B27, DAPT	40+	Увеличение апоптоза и уровня активных форм кислорода (+). Уменьшение уровня экспрессии моторного протеина KIF5A (-). Возрастание числа ретроградных митохондрий и уменьшение числа стационарных митохондрий (+)
LHON (<i>MT-ND4, PRICKLE3</i>) [28]	1% N2, 50 мкг/мл uridine, 1 нг/мл noggin 10 мкМ/мл (Y27632). С 14-го дня: среда 2% B27, 50 мкг/мл uridine, 5 нг/мл, noggin, 10 мкМ/мл DAPT	28	Аномальная морфология ганглиозных клеток, в том числе после окрашивания на β III TUBULIN. Нарушение электрофизиологических свойств клеток (-). Пониженное содержание АТФ и возрастание уровня апоптоза (-)
LHON (<i>MT-ND4</i>) [13]	1% N2, 2 мг/мл heparin. С 16-го дня 2% B27 (без витамина А)	56	Дефектный рост нейритов (-). Снижение в 2 раза уровня экспрессии маркеров ганглиозных клеток BRN3A и MAP2 (-). Возрастание биогенеза митохондрий, увеличение содержания митохондриальной ДНК (+). Возрастание активности митохондриального комплекса I (+). Значительное снижение темпа поглощения кислорода (-). Пониженная экспрессия каталазы (-). Экспрессия 348 генов была увеличена, и 532 уменьшена
LHON (<i>MT-ND4</i>) [14]	1% N2 supplement, 2 мг/мл heparin. С 17-го дня 2% B27 (с Vitamin A)	45	Возрастание количества митохондриальной ДНК, достоверное возрастание внутриклеточных активных форм кислорода, увеличение уровня апоптоза, аномальная электрофизиология клеток (+). Изменение уровня экспрессии циркулирующих РНК, связываемое с увеличением уровня апоптоза (+).
LHON (<i>MT-ND4</i>) [21]	10 мМ BFGF. С 8-го дня 2,5 мкМ retinoic acid, 10 мкМ DAPT затем B-27, 10 мкМ DAPT, 50 нг/мл BDNF		Аномальная морфология клеток Снижение уровня экспрессии нейронального маркера TuJ1, дисфункция электрофизиологических (-) параметров, аномальные митохондрии.

LHON (<i>MT-ND1</i> , <i>MT-ND6</i>) [15]	25+ 10% KSR, 1X B27, 1 нг/мл noggin, 1 нг/мл DKK1, 5 нг/мл IGF1. С 4-го дня — 10% KSR, 1X B27, 1X N2, 10 нг/мл noggin, 10 нг/мл DKK1, 10 нг/мл IGF1, 5 нг/мл BFGF	25–32	Снижение уровня AMPA-рецепторов, нарушение глутаматэргической передачи (–) Возрастание клеточной гибели связанной с митохондриями, которое предотвращалось за счет технологии цибридного слияния с нормальными кератиноцитами (+)
Воздействие СССР [16]	5 мкМ blebbistatin, гипоксия 5% O ₂ С 2-го дня 1% N2 supplement и 2% B27 supplement Forskolin (FSK; 25 мкМ), Dorsomorphin (DSM; 1 мкМ), IDE2 (2,5 мкМ), Nicotinamide (NIC; 10 мМ)	30+	Нарушения в пути деградации митохондрий

* положительные ожидаемые эффекты обозначены «+», неожиданные/нежелательные свойства модели отмечены «–».

* positive expected effects are marked with «+», unexpected/undesirable properties of the model are marked with «-».

Приложение 3

Таблица 3. Дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с ретинопатиями в органоиды сетчатки и их характеристика*

Table 3. Differentiation of iPSCs of patients with retinopathy into retinal organoids and their characterization

Заболевание, источник литературы	Добавки и особенности процесса дифференцировки	Длительность процесса дифференцировки	Наблюдаемые биологические эффекты на клеточной модели заболевания
LCA4 [43]	1x N2 supplement, 2 мкг/мл herepin. С 14-го дня 1x B27 (Invitrogen). С 42-го дня добавка Taurine (100 мкМ), all-trans retinoic acid (1 мкМ). С 93-го дня добавка [рутениевая кислота до 0,5 мкМ 1% N2 supplement.	93 дня	Сохранение цитоархетиктуры. Уменьшенный уровень экспрессии <i>AIP1</i> и <i>PDE6</i> в органоидах (–). Изменение уровня экспрессии большого числа генов в органоидах.
ИПСК, нокаутные по гену <i>AIP1</i> LCA4 [44]	С 42-го дня 2% B27 supplement (без vitamin A), 100 мкМ taurine, 70-й день — добавка [1 мкМ retinoic acid] 84 день добавка [1% N2 и RA понижался до 0,5 мкМ] B27, N2	84+ дня	Морфология органоидов была нормальной. <i>AIP1</i> не детектировался (–). Нокаут выразился в снижении уровня экспрессии <i>PDE6α</i> и β и увеличенном уровне продукции cGMP, что свидетельствует о дисрегуляции каскада фототрансдукции
LCA4 [45]	B27, taurine B27, N2, taurine	230 дней	Нормальные органоиды сетчатки. <i>AIP1</i> и <i>PDE6</i> не детектировались (–). Повышенный уровень продукции cGMP (+)

Макулярная телеангиэктазия (MacTel) [46]	10 мМ nicotinamide, 0,1 мМ β -mercaptoethanol. С 4-й по 5-ю неделю 31 нг/мл activin A. С 6-й недели первый вариант среды	16–18 нед	Нормальный фагоцитоз. Пониженный уровень серина и глицина (–). Нарушения в пути окислительного фосфорилирования (OXPHOS). Активация путей стрессового метаболизма (+). Дисрегуляция центрального метаболизма углерода. Снижение функции митохондрий (–)
Пигментный ретинит (RP) [47]	50 мкМ β -mercaptoethanol, 10 мМ nicotinamide. С 7-го до 14-го дня добавка [100 нг/мл Activin A в течение недели]. С 14-го дня добавка [3 мкМ CHIR99021]. С 42-го дня поддерживающая среда без индукторов.	12+нед	Аномальная морфология клеток. Нарушение в структуре апикальных микроворсинок. Пониженная экспрессия специфичных генов (<i>LAMA1</i> , <i>VTN</i> , <i>CACNA1I</i> , <i>SAMK4</i> , <i>ADY2</i> , <i>DRD2</i>) (–). Снижение фагоцитоза (–).
X-сцепленный пигментный ретинит (XLRP) [48]	blebbistatin мкМ До 140-го дня добавка [0,5 мкМ retinoic acid]	180+ дней	Гибель рецепторных клеток после 150-го дня (–). Утончение внешнего слоя органоида после 180-го дня (–). После трансдукции аденоассоциированным вирусом наблюдались восстановление дегенеративного фенотипа, утолщение внешнего слоя и восстановление экспрессии родопсина (+)

* положительные ожидаемые эффекты обозначены (+), неожиданные/нежелательные свойства модели отмечены (–).

* positive expected effects are marked with (+), unexpected/undesirable properties of the model are marked with (-).

