

<https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-70-81>

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ИНДУЦИРОВАННЫЕ МОДЕЛИ ЖИВОТНЫХ С ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ СЕТЧАТКИ

С.С. Байгильдин^{1, 2, *}, Л.А. Мусина³, З.Р. Хисматуллина²

¹ ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»
450106, Российская Федерация, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94

² ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»
450076, Российская Федерация, Уфа, ул. Заки Валиди, 32

³ ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России
420075, Россия, Уфа, ул. Зорге, 67/1

Дегенерации сетчатки представляют собой обширную и гетерогенную группу заболеваний (дистрофий) сетчатки, которые приводят к прогрессирующей потере зрения. Одновременно с развитием новых методов экспериментальной терапии (генной и клеточной терапии, регенеративной офтальмохирургии) возрастает потребность в экспериментальных моделях. В обзоре рассматриваются различные животные модели дегенеративных заболеваний сетчатки глаза человека. Индуцированные и генетические экспериментальные модели имеют свои преимущества и недостатки, освещаемые в обзоре. Адекватный выбор экспериментальной модели может способствовать патогенетическому подходу лечения заболеваний сетчатки.

Ключевые слова: моделирование дегенерации сетчатки, экспериментальные животные, генетические модели, индуцированные модели, пигментный ретинит, возрастная макулярная дегенерация

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Байгильдин С.С., Мусина Л.А., Хисматуллина З.Р. Генетические и индуцированные модели животных с дегенерацией сетчатки. *Биомедицина*. 2021;17(1):70–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-70-81>

Поступила 30.03.2020

Принята после доработки 14.12.2020

Опубликована 10.03.2021

EXPERIMENTAL ANIMAL MODELS OF RETINAL DEGENERATION

Samat S. Baygildin^{1, 2, *}, Lyalya A. Musina³, Zuhra R. Khismatullina²

¹ Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology
450106, Russian Federation, Ufa, Kuvykina Street, 94

² Bashkir State University
450076, Russian Federation, Ufa, Zaki Validi Street, 32

³ Russian Eye and Plastic Surgery Centre of the Ministry of Health care of Russia
420075, Russian Federation, Ufa, Zorge Street, 67/1

Retinal degenerations comprise a large heterogeneous class of diseases (dystrophies) of retina leading to a progressive vision loss. The emergence of new experimental therapies (gene and cell therapy, regenerative ophthalmic surgery) generates a demand for new experimental models. The review tackles various animal models of human retinal degenerative diseases. Pros and contras of induced and genetic experimental models are highlighted. An adequate experimental model choice may condition a pathogenetic approach to retinal disease therapy.

Keywords: retinal degeneration modelling, experimental animals, genetic models, induced models, retinitis pigmentosa, age-related macular degeneration

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Baygildin S.S., Musina L.A., Khismatullina Z.R. Experimental Animal Models of Retinal Degeneration. *Journal Biomed.* 2021;17(1):70–81. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-1-70-81>

Submitted 30.03.2020

Revised 14.12.2020

Published 10.03.2021

Введение

Дегенерации сетчатки представляют собой обширную и гетерогенную группу дистрофических и деструктивных заболеваний сетчатки, которые приводят к прогрессирующей потере зрения [12, 13]. Наследственные дегенеративные заболевания сетчатки в основном моногенные [12]. Согласно базе данных RetNet [24], на сегодняшний день выяснено, что в развитие этих заболеваний вовлечен 271 ген. Помимо моногенных заболеваний, таких как врожденный амавроз Лебера, болезнь Штаргардта и пигментный ретинит (ПР), дегенерации сетчатки охватывают многофакторные заболевания, такие как возрастная макулярная дегенерация (ВМД) [44]. В настоящее время не существует стопроцентно эффективного лечения дегенеративных заболеваний сетчатки, однако развитие генной и клеточной терапии, а также регенеративной офтальмохирургии дает надежду на решение этой проблемы [3, 29, 43, 44]. Одновременно с развитием новых методов экспериментальной и клинической терапии возрастает потребность в животных моделях [29].

Существует большое количество животных моделей офтальмологических патологий человека. Хотя глаза приматов наиболее схожи по строению с глазами человека, использование этих животных затруднительно в силу этических и материальных причин. Объектами экспериментальной офтальмологии часто выбирают крыс (невысокая стоимость, васкуляризация сетчатки схожа с человеческой), кроликов (размеры глазного яблока удобны для хирургического вмешательства), кошек и собак (схожесть структуры слоев сетчатки с человеческой), свиней

(схожесть сетчатки с человеческой по размеру, структуре и распределению фоторецепторов) [13, 29]. Однако мышинные модели имеют огромное количество генетических вариаций и мутаций, что делает их удобными объектами для исследования наследственных ретинопатий [13, 29]. Маленький размер глаза мыши строго ограничивает некоторые подходы, особенно когда требуются хирургические процедуры [10, 29]. У грызунов отмечается раннее появление многих дегенеративных заболеваний сетчатки, что предполагает использование крайне маленького глаза мышонка [29]. Также относительно простая доставка нейротрофических факторов при интравитреальных инъекциях может быть неэффективной из-за маленьких размеров глаз. Объем же глаза крысы в 6–12 раз (в зависимости от возраста) превышает объем глаза мыши, поэтому больший размер глаза крысы более удобен для исследования [29]. Появление эндонуклеазных методов и технологий редактирования генома позволило получать крупных генетически модифицированных животных — кроликов. Более ранний метод получения таких животных — классический трансгенез — был низкоэффективным [4].

Патологические процессы в сетчатке человека могут быть воссозданы как с помощью генетических, так и индуцированных экспериментальных моделей. Индуцированные модели, полученные в результате химического, физического и биологического воздействия, обладают приближенностью морфологических изменений сетчатки к дегенеративно-дистрофическим заболеваниям сетчатки человека и могут также моделировать вторичные

дистрофии, связанные с циркуляторными расстройствами в системе центральной артерии и центральной вены сетчатки [5].

Генетические модели общей дегенерации сетчатки

Пигментный ретинит (ПР)

ПР — это гетерогенная группа дегенеративных болезней сетчатки с полиморфным наследственным происхождением, вызывающих прогрессирующую потерю функции сетчатки [14]. Различные формы наследственного ПР поражают до 1:3500 людей во всем мире [29]. Генетические модели дегенерации сетчатки бывают естественного (спонтанного) происхождения и трансгенные. Естественные модели для ПР обычно ограничены аутосомно-рецессивными формами. Животные модели для других, более редких форм ПР, могут быть получены только посредством генетической модификации [13]. В настоящее время идентифицировано около 65-ти генов, ассоциированных с ПР [24]. В одном только гене родопсина было идентифицировано более 150-ти различных мутаций, причем P23H является одной из наиболее распространенных мутаций родопсина [29]. Сейчас известно, что мутация P23H вызывает нарушенный фолдинг (сворачивание полипептидной цепи в определенную пространственную структуру) родопсина и удержание его в эндоплазматической сети [15, 29]. В некоторых исследованиях также указывается на такой механизм ПР, при котором клеточный стресс вызывает воспалительный ответ и последующее ремоделирование сетчатки, а также апоптоз [14]. Аналогичные механизмы были обнаружены и в других формах дегенерации сетчатки, развивающихся при глаукоме, диабетической ретинопатии и ВМД [14].

Трансгенные крысы P23H были созданы для воспроизведения человеческого ПР [29]. Несмотря на первоначальное проявление нормальной функции колбо-

чек, у этих крыс развивается прогрессирующая дисфункция палочек [15]. Потеря фоторецепторов сопровождается дегенерацией внутренней сетчатки [14]. Линии P23H-1, P23H-2, P23H-3 различаются по скорости дегенерации сетчатки (умеренная, медленная, очень медленная), тогда как скорость дегенерации сетчатки других трансгенных крыс S334ter различается от очень медленной до крайне быстрой [29]. У крыс S334ter обнаруживается нарушение транспорта родопсина.

Экспериментальные крысы RSC — классическая модель рецессивно унаследованной дегенерации сетчатки, в которой пигментный эпителий сетчатки (ПЭС) не фагоцитирует отработанные наружные сегменты, и впоследствии клетки фоторецепторов погибают [15]. У крыс RSC, с делецией в гене *MERTK*, отсутствует рецептор *MERTK*, опосредующий фагоцитоз наружных сегментов [15]. Токсичное накопление отработанных сегментов приводит к апоптозу фоторецепторных клеток и массовой гибели клеток в наружном ядерном слое сетчатки крыс RCS. В отличие от крыс P23H, в этой модели из-за дисфункции ПЭС дегенерация начинается одновременно в колбочковых и палочковых фоторецепторах, а скорость дегенерации медленнее, чем у крыс P23H [15].

Генетически детерминированной дистрофией ПЭС глаза на фоне функциональной недостаточности дофаминергической системы мозга характеризуются и крысы линии WAG/Rij, известные также как экспериментальная модель абсансной эпилепсии [6, 40]. Установлено, что в сетчатке крыс линии WAG/Rij патологические изменения начинаются ближе к 20-м сут после рождения [1].

Другой моделью ПР являются собаки породы английский мастифф с мутацией Thr4Arg в гене родопсина. Как и у людей с мутацией в гене родопсина, у этих собак обнаруживаются замедленное время вос-

становления функции палочковых фоторецепторов после воздействия света и характерная картина дегенерации сетчатки [8]. Также была разработана кроличья модель ауtosомно-доминантного ПР с мутацией Pro347Leu в гене родопсина, у которой гибель фоторецепторов (ФР) была более выраженной в центральной части сетчатки [8, 9]. У трансгенных свиней с аналогичной мутацией в гене родопсина наблюдается ранняя и тяжелая потеря палочек, с более поздней дегенерацией колбочек, что также наблюдается у пациентов с ПР [8].

Абиссинские кошки используются в качестве модели ауtosомно-рецессивной дегенерации сетчатки. У них наблюдается нормальное зрение при рождении, в 5–8 мес. обнаруживаются первые морфологические изменения в отдельных палочковых фоторецепторах. По мере прогрессирования заболевания вовлекаются и колбочковые ФР. На конечной стадии, обычно в возрасте от 3-х до 5-ти лет, наблюдаются полная дегенерация ФР и слепота. Ответственную за дегенерацию сетчатки у этих кошек мутацию в гене *CEP290* связывают и с другими заболеваниями: синдромом Жубера и врожденным амврозом Лебера у людей, а также дегенерацией сетчатки у мышей rd16 [8]. У бенгальских кошек также была обнаружена дегенерация сетчатки, однако, в отличие от абиссинских кошек, изменения были более выражены в центральной части сетчатки [39].

Врожденный амвроз Лебера

Врожденный амвроз Лебера — один из самых клинически тяжелых дегенераций сетчатки. Данное заболевание может вызвать полную слепоту уже в детстве. Одной из причин развития амвроза Лебера может быть мутация в гене *RPE65*. Естественной животной моделью является собака *RPE65^{-/-}*, страдающая от ранних тяжелых нарушений зрения. Зрительная активность в этой животной модели была восстановлена заменой гена с помощью

рекомбинантного адено-ассоциированного вируса (AAV) [7]. Улучшение зрения также наблюдалось у части пациентов с амврозом Лебера при генной терапии с использованием вектора рекомбинантного адено-ассоциированного вируса [32], хотя также показано [11] ухудшение зрения после достижения некоего пика улучшения.

Гиперфункция S-колбочек

У мутантных мышей rd7, не имеющих транскрипционного фактора Nr2e3, обнаруживают ретинопатию, вызванную мутацией в том же гене, как и при синдроме Гольдманна—Фавра (тяжелый случай гиперфункции S-колбочек, при котором усиливается функция S-колбочек) [22]. Одномесячные гомозиготные мутантные мыши rd7 имеют белые пятна по всей сетчатке, исчезающие с возрастом. В наружном ядерном слое сетчатки обнаруживаются розетки. Эти розетки сглаживаются на 5-м мес. и исчезают на 16-м мес. Сглаживание розеток согласуется с исчезновением пятен сетчатки. Наблюдается также прогрессирующая дегенерация сетчатки. Иммуногистохимически показано увеличение количества колбочковых клеток [22].

Липофусциноз нейронов

В этой группе наследственных болезней наблюдается накопление autofлюоресцирующего вещества, липофусциноподобного цероида в лизосомах. Часто первые заметные признаки болезни — это потеря зрения. Группа болезней ассоциирована с мутациями в 13-ти различных генах. Были разработаны несколько мышинных моделей липофусциноза нейронов. Например, у мышей с мутацией в *CLN5* обнаруживается тяжелая ретинопатия с ранней гибелью фоторецепторных клеток, накоплением autofлюоресцирующего вещества и сильным воспалением [30].

Синдром Барде—Бидля

У мышей, лишенных экспрессии генов *BBS2*, обнаружено нормальное развитие сетчатки с последующим апоптозом ФР,

клеток сетчатки с цилией [36]. Эти признаки повторяют главные особенности проявления синдрома у людей. Гибели фоторецепторных клеток предшествует неправильная локализация родопсина, что свидетельствует о дефекте его транспорта [36].

Генетические модели дегенерации центральной части сетчатки

Возрастная макулярная дегенерация

Возрастная макулярная дегенерация является полигенным заболеванием, причина которой — множество наследственных и средовых факторов [41]. Отличительным признаком ранней ВМД является наличие отложений между ПЭС и хориоидеей, называемых друзами. Прогрессирование заболевания характеризуется атрофическими изменениями ПЭС и вышележащих ФР и/или хориоидальной неоваскуляризацией в макуле [19]. Данное заболевание поражает до 25% людей, достигших 75-ти лет [29].

Имеются некоторые ограничения в использовании грызунов в качестве экспериментальной модели ВМД. У них нет ни макулы, ни фовеа, а также отложения образуются над ПЭС, а не под ним. И эти отложения имеют другой состав. Друзы с таким же составом и расположением как у человека обнаруживаются у приматов [19]. Однако развитие таких слоистых отложений было выявлено под ПЭС трансгенных мышей, у которых избыточно экспрессировался *apoB100* [18]. Эти мыши содержались на жирной диете и подвергались нефототоксичному воздействию аргонового лазера.

У мышей *SOD1^{-/-}* с недостаточностью Cu, Zn-супероксид дисмутазы были обнаружены возрастные изменения сетчатки, подобные основным признакам человеческой ВМД, в т.ч. друзы, утолщения мембраны Бруха и неоваскуляризация сосудистой оболочки глаза. Количество друз увеличи-

валось с возрастом. В ПЭС обнаруживали признаки окислительного повреждения [19].

У преждевременно стареющих крыс OXYS развивается ретинопатия, с точки зрения клинических проявлений и морфологических характеристик соответствующая сухой атрофической форме ВМД [27]. Также у 10–20% этих крыс развивается неоваскуляризация. Ретинопатия проявляется в виде постепенного уменьшения толщины слоя ПЭС, слоя ФР, нарушения хориоидальной микроциркуляции, накопления амилоида и липофусцина в ПЭС. Накопление амилоида β — обнаруженное в мозге и определяющее особенность болезни Альцгеймера — также может определяться в сетчатке и при ВМД. Длительное лечение митохондриально-направленным антиоксидантом SkQ1 ежедневно в возрасте от 1,5 до 22-х мес. подавляло развитие ВМД-подобной патологии у крыс OXYS путем снижения уровня амилоида β и подавления активности *mTOR* в сетчатке [35]. Болезнь Альцгеймера также сопровождается накоплением белка Tau, в норме связывающего микротрубочки и способствующего стабильности цитоскелета нейронов. Мутация *Tau P301L* является причиной агрегации белков Tau, что приводит к потере нейронов в мозге [23]. У трансгенных мышей *Tau P301L* по сравнению с контрольными мышами было обнаружено значительное уменьшение толщины внутреннего ядерного слоя сетчатки. Эффект был более выраженным в периферической области и усиливался с возрастом. Кроме того, ганглиозные клетки сетчатки (ГКС) мышей *Tau P301L* увеличивались в размерах с возрастом, а ГКС контрольных мышей — уменьшались [23].

Болезнь Штаргардта

Мыши, несущие нулевую мутацию в *ABCA4*, служат моделью аутосомно-рецессивного типа дистрофии Штаргардта

STGD1, хотя и имеют существенные ограничения в виде отсутствия у мышей макулы (первичная область, поражаемая при STGD1), более позднего начала и более медленной скорости дегенерации сетчатки, чем у пациентов [45]. У мышей с нокаутированным геном *ABCA4* и у пациентов с болезнью Штаргардта STGD1 потеря функции *ABCA4* вызывает накопление липофусцина в пигментном эпителии сетчатки и дегенерацию ФР, что приводит к слепоте. Белок *ABCA4* является флиппазой в ФР, опосредующей удаление ретинальдегида, токсичного продукта фототрансдукции [45]. Недавно были обнаружены собаки с нефункциональным белком *ABCA4* [33]. Обнаружение гомозиготной мутации с потерей функции *ABCA4* у собак может способствовать развитию модели крупного животного для болезни Штаргардта у человека.

Аутосомно-доминантный тип болезни Штаргардта STGD3 вызывается мутацией в гене *ELOVL4*. У мышей мутантных по гену *ELOVL4* обнаруживается накопление непереваренных фагосом и липофусцина в ПЭС, за которым следовала атрофия клеток [26]. Впоследствии дегенерация ФР происходит в центральной части сетчатки, что напоминает развитие человеческой болезни Штаргардта, макулярной дистрофии или ВМД. *ELOVL4* трансгенные мыши могут быть моделью и для дистрофии Штаргардта, и для сухой формы ВМД [26].

Болезнь Беста

Для получения модели вителлиформной макулярной дистрофии Беста были созданы мыши, несущие мутацию W93C в гене *Best1* [50]. Оба варианта — *Best1*^{wt/W93C} и *Best1*^{W93C/W93C} — имели нормальные а- и b- волны на электроретинограмме, которые наблюдаются при болезни Беста. Морфологические исследования показали у мышей с 6-мес. возраста отложения, заполненные жидкостью и гранулами. С 18-мес. до 24-мес. возраста мыши *Best1*^{wt/W93C}

и *Best1*^{W93C/W93C} проявляли повышенное накопление липофусцина в пигментном эпителии сетчатки и значительное отложение нефагоцитированных наружных сегментов фоторецепторов и гранул липофусцина в субретинальном пространстве [50].

Индукцированные модели дегенерации сетчатки

Химически индуцированные модели получают путем токсического поражения сетчатки при инъекции химических соединений внутривенно, субретинально или в полость стекловидного тела глаза животных [5]. Более полувека назад было замечено ретинотоксическое действие йодата натрия и моноиодацетата натрия [38]. Так, внутривенное введение моноиодацетата натрия приводило к дегенерации клеток сетчатки и ПЭС, что проявляется и при ПР [38].

Интравитреальный способ введения йодата натрия кроликам для получения модели дегенерации сетчатки приводит только к локальному поражению сетчатки, а использование витректомии в дополнение к инъекции помогает получить диффузное поражение [9]. Йодат натрия токсичен для ПЭС и оказывает вторичное воздействие на ФР и хориокапилляры [9]. Введение в стекловидное тело N-метил-N-нитрозомочевины для получения модели ПР вызывает дозозависимый окислительный стресс, приводящий к апоптозу ФР [42]. Внутривенное введение этого вещества вызывает появление новообразований в мозге и др. побочные эффекты, которые предотвращаются при моделировании дегенерации сетчатки введением в стекловидное тело [42]. Хлорид кобальта (CoCl_2) используется *in vivo* и *in vitro* исследованиях для имитирования гипоксии. Введение в стекловидное тело этого вещества вызывает гистологические изменения в сетчатке, схожие с изменениями в сетчатке модельных мышей rd [37].

Интравитреальное введение аденозинтрифосфата (АТФ) у грызунов и кошек вызывает гибель ФР [10]. Гибель клеток и дегенерация сетчатки наблюдалась в наружной сетчатке через 30 ч и через 12 недель после односторонней инъекции АТФ. Ганглиозные клетки, по-видимому, остаются относительно интактными, хотя пролиферация радиальных клеток Мюллера (глиоз) выявляется во всей сетчатке. Эти данные указывают на то, что возможно использование интравитреальной инъекции АТФ для получения модели дегенерации наружных слоев сетчатки [10]. Субретинальное введение полиэтиленгликоля вызывало у мышей морфологические изменения и активацию генов, обнаруживаемых при сухой форме ВМД у людей [31]. Модель дегенерации сетчатки также может быть получена введением в стекловидное тело избыточного количества агонистов ионотропных глутаматных рецепторов: каиновой кислоты или N-метил-D-аспартата [37, 46]. Так, однократное введение в стекловидное тело N-метил-D-аспартата может вызвать уменьшение количества ганглиозных клеток и толщины внутреннего плексиформного слоя [46]. Обращает на себя внимание способ получения дегенерации внутренней сетчатки при введении ингибиторов протеасом, после которого наблюдается гибель ганглиозных клеток сетчатки и сохранение клеток наружной части сетчатки. Такая модель дегенерации внутренней части сетчатки может быть полезна при исследовании глаукомы или диабетической ретинопатии с характерными изменениями сетчатки [25].

Физически индуцированные модели дегенерации сетчатки получают различными способами: световым повреждением, разрушением зрительного нерва, пережатием вен сетчатки, повышением давления в камере глаза, помещением в чередующиеся гипоксические и гипероксические камеры. Одной из распространенных животных мо-

делей исследования гибели ганглиозных клеток сетчатки является разрушение зрительного нерва, вызывающее апоптоз ганглиозных клеток [37].

Светоиндуцированное повреждение сетчатки — известная *in vivo* модель дегенерации сетчатки, которая имитирует большинство основных черт человеческой ВМД и широко используется для исследования механизмов дисфункции сетчатки [37]. С использованием такой модели дегенерации сетчатки была выявлена активация апоптотических путей и дегенерация как ФР, так и клеток ПЭС при ВМД [41]. И светоиндуцированная дегенерация сетчатки, и ВМД прогрессируют, по крайней мере, на поздних стадиях из-за неадекватной нейтрализации окислителей и свободных радикалов, которая может сопровождаться воспалительным компонентом [41]. При получении светоиндуцированных моделей обычно используют либо длительное воздействие света умеренной интенсивности, либо кратковременное воздействие света высокой интенсивности. Так, например, дегенерацию у крыс вызывали воздействием белого флюоресцентного света интенсивностью 5000 люкс в течение 5 ч [41]; у мышей — зеленого флюоресцентного света интенсивностью 3500 люкс в течение 3 ч [49] и белого флюоресцентного света интенсивностью 15000 люкс в течение 2-х ч [21]; у пигментированных кроликов — белого флюоресцентного света интенсивностью 18000 люкс в течение 2-х ч [47].

Разные породы мышей могут различаться по чувствительности к постоянному световому воздействию. Так, высокочувствительными является большинство мышей-альбиносов [28]. У пигментированных животных после длительного воздействия света не обнаруживаются какие-либо морфологические изменения, в то время как у альбиносов развивается дегенерация сетчатки. Интересным является тот факт, что воздействие света может дополнитель-

но усиливать дегенеративные процессы в сетчатке как у химически-индуцированных моделей, так и у генетических моделей [29, 40, 41, 48].

Ишемия сетчатки является распространенной причиной нарушения зрения и слепоты при различных заболеваниях сетчатки, таких как диабетическая ретинопатия и окклюзия вен сетчатки. Для создания модели ишемии анестезированную крысу оперируют и перевязывают нейлоновой нитью вокруг зрительного нерва до полного прекращения кровоснабжения сетчатки на 60 мин [34]. Также для получения модели ишемии сетчатки в камеру глаза анестезированной крысы вводят иглу, подключенную к сосуду с солевым р-ром, что позволяет повысить давление в камере глаза более чем на 110 мм рт. ст. [15]. Другие исследователи [20] вводили вместо солевого р-ра воздух и повышали давление до 150-ти мм рт. ст.

Одной из ведущих причин детской инвалидности по зрению является ретинопатия недоношенных [2]. При моделировании этой патологии используют в основном крыс, т.к. сетчатка новорожденных крысят при рождении незрелая и соответствует таковой 24–26-недельного человеческого плода [17]. Для исследования ретинопатии недоношенных была предложена следующая экспериментальная модель: новорожденных крысят помещают на 14 сут в инкубатор, в котором концентрация кислорода колеблется между 60% и 15% каждые 12 ч [2].

Заключение

Таким образом, существует множество экспериментальных моделей животных с дегенерацией сетчатки, которых можно использовать при разработке консервативных и оперативных методов лечения дегенеративных заболеваний сетчатки человека. И если раньше генетически модифицированные модели дегенерации сетчатки были ограничены в большинстве случаев мышинными моделями, то разви-

тие генной инженерии дало возможность использования более крупных и удобных моделей. Представленные модели дегенерации сетчатки имеют свои преимущества и недостатки. Преимуществом индуцированных моделей дегенерации сетчатки является возможность поражения одного глаза и сохранения другого глаза в качестве контрольного [9]. Светоиндуцированная дегенерация представляет возможность контролировать время и интенсивность воздействия для получения необходимой степени дегенерации [29]. Фоторецепторы при светоиндуцированной дегенерации погибают от апоптоза, сходного с наблюдаемым в фоторецепторах людей с ПР и ВМД, кроме того, свет является важным кофактором в развитии этих заболеваний [29, 41]. Признаки светоиндуцированных дегенеративных процессов обычно обнаруживаются в сетчатке в центральной части сетчатки, в то время как дегенерации, вызванные химическим воздействием, бывают распространены диффузно по всей сетчатке [48]. С другой стороны, химически индуцированные дегенерации сопровождаются общим ухудшением состояния животного, его интоксикацией [9, 42].

Генетические модели, в свою очередь, требуют значительных усилий для их разработки, а также могут иметь более высокую стоимость и больший период времени до полного проявления заболевания [9, 42]. Однако имеются разные генетические линии, различающиеся по скорости дегенерации. Кроме того, интенсивность проявления дегенерации сетчатки различается у разных животных [29]. Стоит также отметить то, что ряд нейропротекторных веществ, эффективных при терапии на светоиндуцированных моделях, оказались неэффективны на некоторых спонтанных и генетически модифицированных моделях [29].

Светоиндуцированные модели выделяются неинвазивностью метода получения и, таким образом, меньшей вероятностью

осложнений по сравнению с моделями, получаемыми физическим воздействием иного рода или введением химических веществ. В спонтанных и генетически модифицированных моделях обычно наблюдается длительная дегенерация небольшого числа клеток сетчатки в определенный момент времени, тогда как в индуцированных моделях возможен контроль интенсивности и срока получения дегенерации. К тому же генетические модели также подвержены влиянию условий, которые могут ускорить или замедлить скорость дегенерации, что также необходимо учитывать. Индуцированные модели не могут полностью воспроизвести пути дегенерации сетчатки, вызванные, например, мутацией в каком-то одном гене, однако позволяют выявить общие пути дегенерации или защитные механизмы клеток. Стоит также отметить, что на сегодняшний день даже генетически модифицированные модели не могут адекватно воспроизвести такие полигенные болезни, как ВМД, глаукома или диабетическая ретинопатия.

Так, выбор экспериментальной модели дегенерации сетчатки разумно обосновывать на целях исследования и механизмах дегенерации сетчатки. И если для первоначальных исследований нейропротекторных свойств препаратов предпочтительно выбирать широко используемые модели с известными сроками дегенерации, морфофункциональными особенностями, то в остальных случаях нужно учитывать также и различные механизмы дегенерации, и молекулярные процессы, стоящие за ними. На разных этапах дегенерации сетчатки могут быть вовлечены такие процессы, как апоптоз нейронов, некроптоз, неоваскуляризация, гипероксия вследствие истончения ядерных слоев, окислительный стресс, стресс эндоплазматического рети-

кулула, изменения экспрессии белков аутофагии, активация микроглии [29], глиоз клеток Мюллера и астроцитов и др. [15].

Предварительные данные об эффективности и безопасности методов, получаемых на животных моделях, неопределимы для клинических исследований [13]. Так, было установлено, что аденоассоциированный вирус является безопасным и эффективным вирусным вектором для доставки генов в сетчатку, и до сих пор это единственный вирусный вектор, который показал положительные результаты при лечении наследственных заболеваний сетчатки [44]. Использование биоматериалов Аллоплант® при ВМД для стимуляции регенерации в хориоиде и сетчатке замедляет процессы дегенерации сетчатки [3]. Отдельные успехи показывает клеточная терапия: имплантация пигментных клеток сетчатки, полученных из эмбриональных стволовых клеток человека, улучшила зрение у половины пациентов, при этом побочные эффекты почти не наблюдались [43].

Области экспериментальной терапии постепенно расширяются: нейропротекторная терапия с непосредственным применением различных факторов, способствующих выживанию; использование наночастиц, действующих как антиоксиданты, и био-разлагаемых микросфер как невирусных векторов для доставки лекарств, генов и трофических факторов; разработка зрительных протезов с использованием технологии кремниевых чипов; область оптогенетики и др. [10, 14, 29]. Внушительное количество представленных животных моделей дает возможности широкого выбора для проведения фундаментальных исследований, раскрывающих патогенетические механизмы дегенеративных заболеваний сетчатки и поиска новых лечебных мероприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Байгильдин С.С., Мусина Л.А., Хисматуллина З.Р. Строение сетчатки глаза крыс линии WAG/Rij в раннем постнатальном онтогенезе. *Морфология*. 2018;153(3):29. [Baygildin S.S., Musina L.A., Khismatullina Z.R. Stroenie setchatki glaza kryslinii WAG/Rij v rannem postnatalnom ontogeneze [The eye retinal structure of WAG/Rij rats in the early postnatal ontogenesis]. *Morphology*. 2018;153(3):29. (In Russian)].
2. Катаргина Л.А., Хорошилова-Маслова И.П., Майбогин А.М., Панова И.Г., Осипова Н.А. Патоморфологические особенности развития экспериментальной ретинопатии недоношенных. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017;(3-2):190-194. [Katargina L.A., Horoshilova-Maslova I.P., Maybogin A.M., Panova I.G., Osipova N.A. Patomorfologicheskie osobennosti razvitiya eksperimentalnoy retinopatii nedonoshennyh [Pathomorphological features of the development of experimental retinopathy of prematurity]. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnyh i fundamentalnyh issledovaniy [International J. of Applied and Basic Research]*. 2017;3-2:190-194. (In Russian)].
3. Кийко Ю.И. *Сенильная макулярная дегенерация: Регенеративная хирургия биоматериалами аллоплант*. Уфа: Здравоохранение Башкортостана. 2002:151. [Kiyko Yu.I. *Senil'naya makulyarnaya degeneratsiya Regenerativnaya hirurgiya biomaterialami alloplant*]. Ufa: Zdravookhranenie Bashkortostana Publ. 2002:151. (In Russian)].
4. Колоскова Е.М., Каркищенко В.Н., Езерский В.А., Петрова Н.В., Максименко С.В., Матвеев Е.Л. Трансгенные и нокаутные кролики в биомедицине и генотерапии. CRISPR/CAS9-технологии (обзор). *Биомедицина*. 2019;4:12-33. [Koloskova E.M., Karkischenko V.N., Yezersky V.A., Petrova N.V., Maksimenko S.V., Matveyenko E.L. Transgennyye i nokautnyye kroliki v biomeditsine i genoterapii CRISPR/Cas9 tekhnologii (obzor) [Rabbit Biomodels of Human Diseases Developed Using New Genomic Technologies]. *Journal Biomed*. 2019;15(4):12-33. (In Russian)]. DOI: 10.33647/2074-5982-15-4-12-33.
5. Милошина Л.А., Кузнецова А.В., Александрова М.А. Экспериментальные модели дегенеративно-дистрофических заболеваний сетчатки человека: индуцированные модели. *Вестник офтальмологии*. 2013;3:94-97. [Milyushina L.A., Kuznetsova A.V., Aleksandrova M.A. Eksperimentalnyye modeli degenerativno-distroficheskikh zabolevaniy setchatki cheloveka: indutsirovannyye modeli [Experimental models of human retinal degenerations: induced models]. *Ophthalmology bulletin*. 2013;3:94-97. (In Russian)].
6. Мусина Л.А., Балхиева Л.Х., Хисматуллина З.Р., Табанакова Т.М. Экспериментальная модель пигментной дегенерации сетчатки глаза. *Вестник ОГУ*. 2012;12:140-143. [Musina L.A., Balhieva L.Kh., Khismatullina Z.R., Tabanakova T.M. Eksperimentalnaya model pigmentnoy degeneratsii setchatki glaza [The experimental model of the eye retinal pigmental degeneration]. *Vestnik of the Orenburg State University*. 2012;12:140-143. (In Russian)].
7. Acland G.M., Aguirre G.D., Ray J., Zhang Q., Aleman T.S., Cideciyan A.V., et al. Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat. Genet*. 2001;28(1):92-95. DOI:10.1038/ng0501-92.
8. Agurtzane Rivas M., Vecino E. Animal models and different therapies for treatment of retinitis pigmentosa. *Histol Histopathol*. 2009;24(10):1295-1322. DOI: 10.14670/HH-24.1295.
9. Ahn S.M., Ahn J., Cha S., Yun C., Park T.K., Kim Y.J., et al. The effects of intravitreal sodium iodate injection on retinal degeneration following vitrectomy in rabbits. *Sci. Rep*. 2019;9(1):1-10. DOI: 10.1038/s41598-019-52172-y.
10. Aplin F.P., Vessey K.A., Luu C.D., Guymer R.H., Shepherd R.K., Fletcher E.L. Retinal changes in an ATP-induced model of retinal degeneration. *Front. Neuroanat*. 2016;10:46. DOI: 10.3389/fnana.2016.00046.
11. Bainbridge J.W., Mehat M.S., Sundaram V., Robbie S.J., Barker S.E., Ripamonti C., et al. Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N. Engl. J. Med*. 2015;372(20):1887-1897. DOI: 10.1056/NEJMoa1414221.
12. Bujakowska K.M., Fernandez-Godino R., Place E., Consugar M., Navarro-Gomez D., White J., et al. Copy-number variation is an important contributor to the genetic causality of inherited retinal degenerations. *Genet. Med*. 2017;19(6):643-651. DOI: 10.1038/gim.2016.158.
13. Chung C.Y., Chung C.Y. Animal Models of Retinal Degeneration. *J. Ophthalmic Res. Ocular Care*. 2017;1(1). DOI: 10.36959/936/562.
14. Cuenca N., Fernández-Sánchez L., Campello L., Maneu V., De la Villa P., et al. Cellular responses following retinal injuries and therapeutic approaches for neurodegenerative diseases. *Prog. Retin. Eye Res*. 2014;43:17-75. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2014.07.001.
15. Di Pierdomenico J., García-Ayuso D., Pinilla I., Cuenca N., Vidal-Sanz M., et al. Early events in retinal degeneration caused by rhodopsin mutation or pigment epithelium malfunction: differences and similarities. *Front. Neuroanat*. 2017;11:14. DOI: 10.3389/fnana.2017.00014.
16. Donello J.E., Padillo E.U., Webster M.L., Wheeler L.A., Gil D.W. α 2-Adrenoceptor agonists inhibit vitreal glutamate and aspartate accumulation

- and preserve retinal function after transient ischemia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2001;296(1):216–223. PubMed: 11123383.
17. Dorfman A.L., Joly S., Hardy P., Chemtob S., Lachapelle P. The effect of oxygen and light on the structure and function of the neonatal rat retina. *Doc. Ophthalmol.* 2009;118(1):37–54. DOI: 10.1007/s10633-008-9128-7.
 18. Espinosa-Heidmann D.G., Sall J., Hernandez E.P., Cousins S.W. Basal laminar deposit formation in APO B100 transgenic mice: complex interactions between dietary fat, blue light, and vitamin E. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004;45(1):260–266. DOI: 10.1167/iov.03-0910.
 19. Fletcher E.L., Jobling A.I., Greferath U., Mills S.A., Waugh M., Ho T., et al. Studying age-related macular degeneration using animal models. *Optom. Vis. Sci.* 2014;91(8):878. DOI: 10.1097/OPX.0000000000000322.
 20. Fontaine V., Mohand-Said S., Hanoteau N., Fuchs C., Pfizenmaier K., Eisel U. Neurodegenerative and neuroprotective effects of tumor necrosis factor (TNF) in retinal ischemia: opposite roles of TNF receptor 1 and TNF receptor 2. *J. Neurosci.* 2002;22(7):RC216. DOI: 20026253.
 21. Grimm C., Wenzel A., Hafezi F., Yu S., Redmond T.M., Remé C.E. Protection of Rpe65-deficient mice identifies rhodopsin as a mediator of light-induced retinal degeneration. *Nat. Genet.* 2000;25(1):63–66. DOI: 10.1038/75614.
 22. Haider N.B., Naggert J., Nishina P.M. Excess cone cell proliferation due to lack of a functional NR2E3 causes retinal dysplasia and degeneration in rd7/rd7 mice. *Hum. Mol. Genet.* 2001;10(16):1619–1626. DOI: 10.1093/hmg/10.16.1619.
 23. Ho W.L., Leung Y., Cheng S.S., Lok C.K., Ho Y.S., Baum L., et al. Investigating degeneration of the retina in young and aged tau P301L mice. *Life Sci.* 2015;124:16–23. DOI: 10.1016/j.lfs.2014.12.019.
 24. <https://sph.uth.edu/RetNet/>
 25. Kageyama M., Ota T., Sasaoka M., Katsuta O., Shinomiya K. Chemical proteasome inhibition as a novel animal model of inner retinal degeneration in rats. *PLoS One.* 2019;14(5): e0217945. DOI: 10.1371/journal.pone.0217945.
 26. Karan G., Lillo C., Yang Z., Cameron D.J., Locke K.G., Zhao Y., et al. Lipofuscin accumulation, abnormal electrophysiology, and photoreceptor degeneration in mutant ELOVL4 transgenic mice: a model for macular degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005;102(11):4164–4169. DOI: 10.1073/pnas.0407698102.
 27. Kozhevnikova O.S., Telegina D.V., Devyatkin V.A., Kolosova N.G. Involvement of the autophagic pathway in the progression of AMD-like retinopathy in senescence-accelerated OXYS rats. *Biogerontology.* 2018;19(3–4):223–235. DOI: 10.1007/s10522-018-9751-y.
 28. LaVail M.M., Gorrin G.M., Repaci M.A. Strain differences in sensitivity to light-induced photoreceptor degeneration in albino mice. *Curr. Eye Res.* 1987;6(6):825–834. DOI: 10.3109/02713688709034850.
 29. LaVail M.M., Nishikawa S., Steinberg R.H., Naash M.I., Duncan J.L., Trautmann N., et al. Phenotypic characterization of P23H and S334ter rhodopsin transgenic rat models of inherited retinal degeneration. *Exp. Eye Res.* 2018;167:56–90. DOI: 10.1016/j.exer.2017.10.023.
 30. Leinonen H., Keksa-Goldsteine V., Ragauskas S., Kohlmann P., Singh Y., et al. Retinal degeneration in a mouse model of CLN5 disease is associated with compromised autophagy. *Sci. Rep.* 2017;7:1597. DOI: 10.1038/s41598-017-01716-1.
 31. Lyzogubov V.V., Bora N.S., Bora P.S. Polyethylene Glycol (PEG) Induced Mouse Model of Dry Age Related Macular Degeneration (AMD). *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014;55(13):1181. DOI: 10.1016/j.exer.2014.07.021.
 32. Maguire A.M., Simonelli F., Pierce E.A., Pugh Jr E.N., Mingozzi F., Bennicelli J., et al. Safety and efficacy of gene transfer for Leber’s congenital amaurosis. *N. Engl. J. Med.* 2008;358(21):2240–2248. DOI: 10.1056/NEJMoa0802315.
 33. Mäkeläinen S., Gödia M., Hellsand M., Viluma A., Hahn D., Makdoui K., et al. An ABCA4 loss-of-function mutation causes a canine form of Stargardt disease. *PLoS Genet.* 2019;15(3):e1007873. DOI: 10.1371/journal.pgen.1007873.
 34. Miyake T., Nishiwaki A., Yasukawa T., Ugawa S., Shimada S., Ogura Y. Possible implications of acid-sensing ion channels in ischemia-induced retinal injury in rats. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2013;57(1):120–125. DOI: 10.1007/s10384-012-0213-9.
 35. Muraleva N.A., Kozhevnikova O.S., Fursova A.Z., Kolosova N.G. Suppression of AMD-Like Pathology by Mitochondria-Targeted Antioxidant SkQ1 Is Associated with a Decrease in the Accumulation of Amyloid β and in mTOR Activity. *Antioxidants (Basel).* 2019;8(6):177. DOI: 10.3390/antiox8060177.
 36. Nishimura D.Y., Fath M., Mullins R.F., Searby C., Andrews M., Davis R., et al. Bbs2-null mice have neurosensory deficits, a defect in social dominance, and retinopathy associated with mislocalization of rhodopsin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004;101(47):16588–16593. DOI: 10.1073/pnas.0405496101.
 37. Niwa M., Aoki H., Hirata A., Tomita H., Green P.G., Hara A. Retinal cell degeneration in animal models. *Int. J. Mol. Sci.* 2016;17(1):110. DOI: 10.3390/ijms17010110.
 38. Noell W.K. Experimentally induced toxic effects on structure and function of visual cells and pigment epithelium. *Am. J. Ophthalmol.* 1953;36(6):103–116. DOI: 10.1016/0002-9394(53)90159-7.
 39. Ofri R., Reilly C.M., Maggs D.J., Fitzgerald P.G., Shilo-Benjamini Y., Good K.L., et al. Characterization of an early-onset, autosomal recessive, progressive

- retinal degeneration in Bengal cats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2015;56(9):5299–5308. DOI: 10.1167/iops.15-16585.
40. O’steen W.K., Donnelly J.E. Chronologic analysis of variations in retinal damage in two strains of rats after short-term illumination. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1982;22(2):252–255. PMID: 7056638.
41. Rezaie T., McKercher S.R., Kosaka K., Seki M., Wheeler L., Viswanath V., et al. Protective effect of carnosic acid, a pro-electrophilic compound, in models of oxidative stress and light-induced retinal degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012;53(12):7847–7854. DOI: 10.1167/iops.12-10793.
42. Rösch S., Johnen S., Mataruga A., Müller F., Pfarrer C., Walter P. Selective photoreceptor degeneration by intravitreal injection of N-methyl-N-nitrosourea. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014;55(3):1711–1723. DOI: 10.1167/iops.13-13242.
43. Schwartz S.D., Tan G., Hosseini H., Nagiel A. Subretinal transplantation of embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium for the treatment of macular degeneration: an assessment at 4 years. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2016;57(5):ORSFc1–9. DOI: 10.1167/iops.15-18681.
44. Takahashi V.K., Takiuti J.T., Jauregui R., Tsang S.H. Gene therapy in inherited retinal degenerative diseases, a review. *Ophthalmic Genet.* 2018;39(5):560–568. DOI: 10.1080/13816810.2018.1495745.
45. Tanna P., Strauss R.W., Fujinami K., Michaelides M. Stargardt disease: clinical features, molecular genetics, animal models and therapeutic options. *Br. J. Ophthalmol.* 2017;101(1):25–30. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2016-308823.
46. Ueda K., Nakahara T., Mori A., Sakamoto K., Ishii K. Protective effects of TGF- β inhibitors in a rat model of NMDA-induced retinal degeneration. *Eur. J. Pharmacol.* 2013;699(1–3):188–193. DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.11.054.
47. Wang Y., Zhao L., Lu F., Yang X., Deng Q., Ji B., et al. Retinoprotective effects of bilberry anthocyanins via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic mechanisms in a visible light-induced retinal degeneration model in pigmented rabbits. *Molecules.* 2015;20(12):22395–22410. DOI: 10.3390/molecules201219785.
48. Yamashita H., Hoenerhoff M.J., Peddada S.D., Sills R.C., Pandiri A.R. Chemical exacerbation of light-induced retinal degeneration in F344/n rats in National Toxicology Program rodent bioassays. *Toxicol Pathol.* 2016;44(6):892–903. DOI: 10.1177/0192623316650050.
49. Zhang C., Lei B., Lam T.T., Yang F., Sinha D., Tso M.O. Neuroprotection of photoreceptors by minocycline in light-induced retinal degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004;45(8):2753–2759. DOI: 10.1167/iops.03-1344.
50. Zhang Y., Stanton J.B., Wu J., Yu K., Hartzell H.C., Peachey N.S., et al. A.D. Suppression of Ca²⁺ signaling in a mouse model of Best disease. *Hum. Mol. Genet.* 2010;19(6):1108–1118. DOI: 10.1093/hmg/ddp583.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Байгильдин Самат Сагадатович*, ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека»; ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»;
e-mail: baigildin.samat@yandex.ru

Мусина Ляля Ахияровна, д.б.н., ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Минздрава России;
e-mail: morphoplant@mail.ru

Хисматуллина Зухра Рашидовна, д.б.н., проф., ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»;
e-mail: hismatullinazr@mail.ru

Samat S. Baygildin*, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Bashkir State University;
e-mail: baigildin.samat@yandex.ru

Lyalya A. Musina, Dr. Sci. (Biol.), Russian Eye and Plastic Surgery Center of the Ministry of Health care of Russia;
e-mail: morphoplant@mail.ru

Zukhra R. Khismatullina, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Bashkir State University;
e-mail: hismatullinazr@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author