

УДК 616–006.484.04

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА

© 2024 г. А. В. Ревещин^{1,*}, Г. В. Павлова^{1,2,3}, А. Н. Шкарубо^{2,4}

¹ФГБУН "Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук", Москва, Россия

²ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. академика Н. Н. Бурденко», Москва, Россия

³Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

⁴ФГБОУ ДПО РМАНПО Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

*e-mail: revishchin@mail.ru

Поступила в редакцию 18.10.2023 г.

После доработки 01.12.2023 г.

Принята к публикации 01.12.2023 г.

Восстановление зрительной функции после повреждения или полного разрушения зрительного нерва у взрослых пациентов имеет много естественных барьеров на пути нейрорегенерации. Исследования по восстановлению зрения были сосредоточены на поддержании ганглиозных клеток сетчатки (ГКС), стимулировании роста аксонов по направлению к мозгу и восстановлении их правильных синаптических связей. К сожалению, аксоны ГКС млекопитающих в обычных условиях не регенерируют после повреждения и в конечном итоге отмирают. В обзоре мы резюмируем известные в настоящее время механизмы выживания ГКС и регенерации аксонов у млекопитающих, включая специфические внутренние сигнальные пути, ключевые факторы транскрипции, репрограммирующие гены, факторы регенерации, связанные с воспалением, терапию стволовыми клетками. Мы также рассматриваем современное понимание явлений, препятствующих регенерации зрительного нерва, и возможные пути преодоления этих препятствий. Полученные в последние десятилетия важнейшие результаты исследований могут оказаться информативными для разработки методов лечения поврежденной зрительной системы.

Ключевые слова: регенерация аксонов, повреждение зрительного нерва, ганглиозные клетки сетчатки, жизнеспособность

DOI: 10.31857/S0044467724010044

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВБЧ	– верхние бугорки четверохолмия
ГКС	– ганглиозные клетки сетчатки
ЗН	– зрительный нерв
ООК	– обонятельные оболочечные клетки (olfactory ensheathing cells)
ПН	– периферический нерв
ЦНС	– центральная нервная система
ЭСК	– эмбриональная стволовая клетка
AAV	– аденоассоциированный вирус
Akt	– протеинкиназа В, играет ключевую роль в пути PI3K/Akt
Atoh7	– транскрипционный фактор, маркер ГКС
Bax	– регулятор апоптоза (ускоряет апоптоз)
Bcl-2	– внутриклеточный противоапоптотический фактор
BDNF	– нейротрофический фактор мозга
BH3-only	– белок семейства BCL-2 – эффектор митохондриального апоптоза
BMP	– костный морфогенетический белок
c-Jun	– онкогенный фактор транскрипции
c-Myc	– белок – блокатор апоптоза, опосредованного белком p53
CNTF	– цилиарный нейротрофический фактор, полипептидный гормон
DLK/LZK	– регуляторы дегенерации нейронов и роста аксонов
EGFR	– рецептор эпидермального фактора роста
FasL	– Fas-лиганд – белок семейства факторов некроза опухолей
GDNF	– нейротрофический фактор глиальной клеточной линии
GFRalpha3	– рецептор альфа-3 семейства GDNF

Jak	– янус-киназа – тирозинкиназа
LIF	– фактор ингибирования лейкозных клеток
mTOR	– серин-треониновая киназа, регулятор роста и пролиферации
NGF	– фактор роста нервов
p53	– транскрипционный фактор, супрессор злокачественных опухолей
PI3K	– фосфоинозитид-3-киназа
PirB	– парный иммуноглобулин-подобный рецептор B
PTEN	– фосфатаза и гомолог тензина – регулятор клеточного цикла
REST	– фактор подавления транскрипции
RhoA	– трансформирующий клеточный сигнальный белок
ROCK	– белок серин / треонинкиназа
SOCS3	– супрессор цитокиновой сигнализации 3
VGF	– белок – регулятор энергетического гомеостаза и синаптической пластичности

ВВЕДЕНИЕ

Потеря зрения приводит к тяжелой инвалидности, а также пагубно влияет на качество жизни. По оценкам The lancet global health commission, в 2020 г. во всем мире 43 млн человек были полностью слепы (Burton et al., 2021). В настоящее время не существует лечения потери зрения из-за атрофии зрительного нерва или потери ганглиозных клеток сетчатки, которые могут быть вызваны терминальной стадией глаукомы (Tham et al., 2014), отеком диска зрительного нерва (Ghaffarieh et al., 2012), травматической атрофией зрительного нерва (Ellenberg et al., 2009), опухолью, компрессией, инфекцией (Behbehani, 2007; Ghaffarieh and Levin, 2012; Prasad et al., 2010) и другими заболеваниями.

Восстановление зрительной функции после повреждения или полного разрушения зрительного нерва у взрослых пациентов имеет много естественных барьеров на пути нейрорегенерации. Разработка клинически эффективных методов лечения заболеваний зрительного нерва потребует взаимодополняющих решений по преодолению этих барьеров.

Ганглиозные клетки сетчатки (ГКС) являются нейронами центральной нервной системы (ЦНС) и как таковые в обычных условиях не регенерируют аксоны после повреждения зрительного нерва. У взрослых млекопитающих разрыв аксонов ГКС в зрительном нерве (ЗН) приводит к гибели многих аксотомированных нейронов и неспособности выживших клеток восстановить свои аксоны (Grafstein et al., 1982; Richardson et al., 1982). Через 1–3 дня после внутриглазничной перерезки зрительного нерва мышца количество ГКС уменьшалось примерно на 20%, и менее 10% ГКС выживают через 14 дней (Allcutt et al., 1984; Berkelaar et al., 1994; Fischer et al., 2004; Villegas-Perez et al., 1993). Стратегии, появившиеся после разработки новых методов прослежи-

вания нервных связей и иммуногистохимических методов, выявили способность к регенерации и образованию синапсов в ЦНС взрослых млекопитающих. Например, Aguayo и соавт. использовали экспериментальный подход, основанный на концепции, согласно которой регенерация в периферической нервной системе обусловлена перmissive средой, обеспечиваемой шванновскими клетками, присутствующими в нервной трубке (Aguayo et al., 1991; So et al., 1985; Vidal-Sanz et al., 1987). Аксоны ГКС отрастали до своей нормальной длины (2 см) через 4–18 недель после того, как сегменты аутологичных периферических нервов (ПН) были вставлены в сетчатку взрослых крыс (So and Aguayo, 1985). В следующих экспериментах один конец аутологичного ПН длиной 4 см помещали в оболочку ЗН, прижимая и пришивая к орбитальной культe рассеченного нерва, а второй (дистальный) конец имплантировали в передние бугорки четверохолмия (ВБЧ) (Vidal-Sanz et al., 1987). Аксоны аксотомированных ганглиозных клеток сетчатки прорастали через весь трансплантат, а некоторые из них проникали в ВБЧ, образуя терминальные ответвления на расстоянии до 500 мкм от конца трансплантата (Vidal-Sanz et al., 1987). Индуцированные светом электрические ответы в нейронах ВБЧ вблизи трансплантата указывают на то, что регенерирующие аксоны аксотомированных ганглиозных клеток сетчатки могут устанавливать функциональные связи с нейронами ВБЧ взрослых млекопитающих (Keirstead et al., 1989; Keirstead et al., 1985). Если дистальный конец трансплантата ПН имплантировали в оливарное претектальное ядро, в глазу может возникнуть зрачковый рефлекс, что указывает на регенерацию обоих эфферентов сетчатки на оливарное претектальное ядро, а также проекций от цилиарного ганглия на мышцу сфинктера радужной оболочки глаза (Whiteley et al., 1998). Эксперименты *in vitro* и *in vivo* показывали, что регенерация через сам зрелый зрительный нерв очень ограничена из-за недопустимых условий субстрата в дифференциро-

ванных зрительных нервах (Richardson et al., 1982; Schwab et al., 1985). Однако оказалось, что интенсивный рост аксонов ГКС в ПН обусловлен в первую очередь трофическими факторами, которые экспрессируются в шванновских клетках ПН (Berry et al., 1996). Авторы использовали модель раздавливания зрительного нерва с последующим проследиванием роста аксонов ГКС с помощью ретроградного и антероградного аксонного транспорта. У животных, в стекловидное тело которых была введена ткань ПН, волокна ГКС пересекали очаг поражения и росли дистально. У контрольных ложно оперированных животных прорастания через очаг не наблюдали. Более того, при определенных условиях регенерированные волокна ГКС пересекают хиазму и формируют правильные соединения, избегая целей, несоответствующих их функции (Lim et al., 2016).

Таким образом, ранние эксперименты показали, что ГКС обладают внутренней способностью регенерировать аксоны, если внешняя среда благоприятна (So and Aguayo, 1985), однако для восстановления зрительной функции пациентов до значимого уровня необходимо решить многие проблемы. Разрабатываемые методы должны обеспечить наличие функционально значимого количества ГКС, жизнеспособных в достаточной мере для регенерации разорванных аксонов. Необходимо также найти способы интенсифицировать процесс регенерации аксонов у достаточно большого количества ГКС. В связи с этим предстоит нейтрализовать факторы, тормозящие регенерацию волокон в ЦНС (Silver et al., 2015). Не менее важной задачей является обеспечение ретинопической упорядоченности повторного подключения к соответствующим целям во время регенерации. В настоящем, далеко не полном обзоре изложены основные результаты исследований по этим вопросам, которые дают надежду на значительное продвижение в решении проблемы восстановления зрения.

ПОДДЕРЖАНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ АКСОТОМИРОВАННЫХ ГКС

Большая часть изложенных здесь знаний относительно дегенерации и регенерации ГКС и их аксонов получены с помощью экспериментальных моделей, основанных на повреждении ЗН у грызунов, но часть информации получена на других моделях, например травмы спинного мозга. Чаще всего повреждение ЗН включает контролируемое раздавливание позади глазного яблока. Почти все аксоны при этом разрываются, а оболочка ЗН и сосудистая сеть, снабжающая ЗН, не повреждаются (Li et al.,

1999). Комплексный критический обзор моделей и методов *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*, которые использовались для расширения знаний о регенерации аксонов в ретинофугальной системе у грызунов и рыбок *данио* соответственно, дан в работе Bollaerts с соавт. (Bollaerts et al., 2018).

Механизм апоптоза в ГКС может быть связан с прямым разрушением целостности мембраны после механического повреждения аксонов, отсутствием трофических факторов, вызванным прерыванием аксонального транспорта, потерей питательной поддержки после ишемии. Многие гены участвуют в регуляции апоптоза и выживании ГКС после повреждения ЗН, включая *Bcl-2/Bax*, *DLK/LZK*, *c-Jun*, *p53*, *каспазы* и *FasL*. Белки, кодируемые этими генами, образуют сложную сеть переключателей, которые определяют выживание клеток и/или апоптоз. Семейство генов *Bcl-2* включает антиапоптотические гены (*Bcl-2*, *Bcl-xl*), проапоптотические гены (*Bax*) и гены *BH3-only* (Maes et al., 2017). В сетчатке баланс между *Bax* и *Bcl-2* обеспечивает выживание ГКС после травмы. Сверхэкспрессия *Bcl-2* или делеция гена *Bax* укрепляют жизнеспособность ГКС после повреждения зрительного нерва (Bonfanti et al., 1996; Donahue et al., 2020). Эти результаты показывают, что гибель ГКС можно замедлить и таким образом продлить терапевтическое окно для эффективного вмешательства.

Нейротрофические факторы хорошо известны своей ролью в предотвращении апоптоза и поддержке жизнеспособности нейронов (Cui, 2006). Гибель ГКС после повреждения аксона частично может происходить из-за снижения ретроградного транспорта нейротрофических факторов (Harrington et al., 2013). Есть надежда, что обработка сетчатки нейротрофическими факторами позволит повысить жизнеспособность ГКС после повреждения ЗН. Действительно, интравитреальное введение экзогенных NGF и BDNF задерживает острую гибель ГКС после повреждения зрительного нерва у грызунов (Benowitz et al., 2010). Однако после введения BDNF или CNTF не наблюдалось улучшения в регенерации аксонов в трансплантате периферического нерва, по сравнению с контролем (Mansour-Robaey et al., 1994; Weibel et al., 1995).

Интравитреальная инъекция GDNF может значительно ослаблять дегенерацию ГКС дозозависимым образом. Более того, комбинированное лечение GDNF и BDNF показало лучшую защиту, чем использование каждого фактора по отдельности (Lindqvist et al., 2004; Yan et al., 1999).

Интравитреальная инъекция нервных стволовых клеток, трансфицированных вирусными векторами GDNF или CNTF после повреждения зрительного нерва, увеличивала количество выживших ГКС, но только при совместном введении GDNF и CNTF (Flachsbarth et al., 2018).

Кроме перечисленных выше, благотворное влияние на жизнеспособность ГКС после повреждения ЗН при интравитреальном введении оказывали:

1. Пептид VGF (индуцируемый фактором роста нервов полипептид AQEE-30) (Takeuchi et al., 2018).
2. Фактор, ингибирующий лейкоз (LIF) (Yang et al., 2018).
3. Геннотерапевтическая конструкция на основе аденоассоциированного вируса (AAV) AAV2 *TrkB-2A-mBDNF*, увеличивающая экспрессию не только BDNF, но и его рецептора TrkB, что позволяет избежать подавления рецептора, которое наблюдается при лечении только AAV2 BDNF (Osborne et al., 2018).
4. Донор H₂S морфолин-4-ий-метоксифенилморфолинофосфинодитиоата GYY4137 (Liu et al., 2017).
5. Пептид BMP4 (Thompson et al., 2019).
6. Липоксины LXA4 и LXB4 – небольшие липидные медиаторы, выявленные и выделенные из среды, кондиционированной культурой астроцитов сетчатки (Livne-Bar et al., 2017).
7. TAK-242 (ингибитор Toll-подобного рецептора 4) (Nakano et al., 2017).

Идет ряд клинических испытаний для проверки эффективности устойчивых нейротрофических факторов в предотвращении потери ГКС при глаукоме, неартериальной передней ишемической невропатии зрительного нерва и травматической оптической невропатии (Gokoffski et al., 2020).

Ингибирование экспрессии *каспазы-2* с помощью химически модифицированной короткой интерферирующей рибонуклеиновой кислоты (миР-НК) при интравитреальном введении значительно повышало выживаемость ГКС в течение по меньшей мере 30 дней (Ahmed et al., 2011).

Системное и интравитреальное введение давно используемого в клинике противосудорожного пре-

парата вальпроата снижает апоптоз ганглиозных клеток сетчатки у крыс после повреждения зрительного нерва (Pan et al., 2023; Zhang et al., 2023).

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ АКСОНОВ ГКС

Само по себе выживание ГКС не означает обеспечения восстановления зрения при потере нейронных связей. Следовательно, содействие регенерации аксонов ЗН имеет решающее значение для восстановления нейронных связей с мозгом для передачи зрительного сигнала. Однако в отличие от ПНС поврежденные аксоны в ЗН лишены способности к спонтанной регенерации. Выявление способствующих регенерации факторов и лежащих в их основе молекулярных механизмов поможет открытию новых стратегий лечения и восстановления зрения. Понимание того, когда клинически применять стратегию регенерации аксонов, требует понимания прогрессирования дегенерации после повреждений аксонов ГКС.

Сразу после травмы ЗН кальций (Ca²⁺) попадает в место повреждения через потенциал-зависимые кальциевые каналы (George et al., 1995). Удаление этого внеклеточного Ca²⁺ хелатором задерживает дегенерацию аксонов (George et al., 1995). Повышенное содержание Ca²⁺ активирует кальпаины, цистеиновые протеазы, с последующей аксональной дегенерацией путем деградации цитоскелета (Goll et al., 2003). В спинном мозге процесс фрагментации аксонов можно полностью блокировать ингибиторами кальпаина (Kerschensteiner et al., 2005). Вскоре после травмы в проксимальном (ближайшем к глазу) и дистальном сегментах аксонов начинаются дегенеративные процессы. Дистальные сегменты аксонов фрагментируются в результате процесса, называемого валлеровской дегенерацией, при котором цитоскелет дегенерирует, аксон набухает и фрагментируется, миелин распадается на эллиптические структуры (Veitrowski et al., 2010). Проксимальный сегмент аксона образует эллиптическую ретракционную луковичу, которая постепенно увеличивается, и аксон отмирает, сокращаясь по направлению к коме (Blanquie et al., 2018). В первый день после травмы сигналы молекулярного повреждения передаются от места повреждения аксона в тело ГКС (Shin et al., 2012). В сетчатке начинается воспалительная реакция, которая может влиять на неврологический исход как положительно, так и отрицательно (Kreutzberg, 1996). Чтобы активировать прорепаративные каскады, воспалительная реакция должна быть достаточно сильной, но ниже порога, при котором активируются образование рубца и апоптоз. Известно, что внутриглазное

воспаление, вызванное либо инъекцией зимозана в глаз, либо в результате повреждения хрусталика, бывает достаточно для того, чтобы интенсифицировать регенерацию аксонов ГКС и прорастание через поврежденный участок ЗН (Leon et al., 2000; Yin et al., 2003). Влияние внутриглазного воспаления на регенерацию ЗН опосредуется онкомодулином, который накапливается в сетчатке до заметных уровней через 12–24 ч после индукции воспалительной реакции (Kurimoto et al., 2010; Yin et al., 2009; Yin et al., 2006). Yin с соавт. показали, что интравитреальная инъекция онкомодулина и аналога циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) усиливала регенерацию зрительного нерва в 5–7 раз больше, чем цАМФ без онкомодулина (Yin et al., 2009; Yin et al., 2006).

Данные Мюллера с соавт. (Muller et al., 2007) показывают, что CNTF, выделяемый из астроцитов после повреждения ЗН, также участвует в нейротрофическом и стимулирующем рост аксонов эффекте повреждения хрусталика или инъекции зимозана. Эти результаты могут привести к разработке терапевтического принципа, способствующего регенерации аксонов в ЦНС в целом (Muller et al., 2007).

Регенеративные способности ГКС различаются для разных стадий развития. В опытах *in vitro* ГКС эксплантата эмбриональной сетчатки обильно прорастали в эксплантат тектума, в отличие от ГКС постнатальной сетчатки (Chen et al., 1995). Следовательно, после рождения происходит переключение клеточных программ, имеющих отношение к регенерации аксонов. Достижения молекулярной биологии в методах генного манипулирования позволили выявить несколько важных путей реализации внутренней регенеративной способности ГКС, заблокированных у взрослых животных. К ним относится отрицательный регулятор сигнального пути рапамицина (mTOR) – PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome). Сигнальный путь PTEN/PI3K/Akt/mTOR участвует в регуляции апоптоза, роста аксонов и пролиферации клеток и метаболизма (Mendoza et al., 2011). Делеция *PTEN* в ГКС взрослых млекопитающих методом условного нокаута с помощью вирусной конструкции *in vivo* способствует интенсивной регенерации аксонов после повреждения ЗН (Park et al., 2008). Другим примером может служить сигнальный путь *янус-киназа / активатор транскрипции*, участвующий в передаче сигнала 3 / супрессор передачи сигнала цитокина 3 – JAK/STAT3/SOCS3 (Krebs et al., 2001; Smith et al., 2009). SOCS3 активируется постнатально и подавляет способность

ГКС активировать путь Jak/STAT (Park et al., 2009; Qin et al., 2013; Smith et al., 2009). Удаление супрессора SOCS3 во взрослых ганглиозных клетках сетчатки (ГКС) способствует усиленной регенерации поврежденных аксонов зрительного нерва (Smith et al., 2009).

Многие молекулы, ингибирующие рост, облегчают свое действие за счет изменения сигнального пути RhoA/ROCK, который является важным регулятором актинового цитоскелета. Активация этого пути приводит к быстрому коллапсу конуса роста и ингибированию регенерации аксонов (Abbhi et al., 2020). Ингибирование RhoA/ROCK может быть потенциальной терапевтической стратегией, способствующей регенерации ЗН (Abbhi and Piplani, 2020; Cen et al., 2017; Zhang et al., 2020). Tan с соавт. продемонстрировали, что эритропоэтин и ингибитор ROCK Y-27632 значительно улучшают выживаемость ГКС и регенерацию аксонов *in vivo*, и эффекты этих агентов аддитивны (Tan et al., 2012).

Таким образом, модуляция негативных регуляторов передачи сигналов может быть эффективной стратегией стимулирования регенерации аксонов после повреждения ЗН.

Недавние исследования подтвердили показанную ранее эффективность модуляции факторов транскрипции для усиления регенерации аксонов ЦНС и ЗН в частности (Moore et al., 2011). Так, Cheng с соавт. идентифицировали фактор транскрипции RE1-Silencing (REST), также известный как Neuron-Restrictive Silencer Factor (NRSF), как прогнозируемый вышестоящий супрессор про-регенеративной генной программы (Cheng et al., 2022). Взрослые мыши, несущие специфичные для ГКС делеции *REST* или экспрессирующие доминантно-негативный мутантный *REST*, демонстрируют улучшенную регенерацию ЗН после его разрушения. Это сопровождается активацией генов, связанных с регенерацией, в ГКС (Cheng et al., 2022).

Исследование протеома ГКС в норме и после перерезки ЗН выявило сеть молекулярных путей, которые изменены в поврежденных ГКС. В частности, было показано, что транскрипционный фактор *c-Мус*, который считается ключевым регулятором анаболического метаболизма, подавляется при повреждении ЗН. Принудительная оверэкспрессия *c-тус* в ГКС до или после травмы способствует значительному повышению жизнеспособности ГКС и регенерации аксонов после повреждения ЗН (Belin et al., 2015).

Как указано выше, некоторые нейротрофические факторы демонстрируют положительное влияние на жизнеспособность ГКС после разрушения ЗН, однако далеко не все из них активируют регенерацию аксонов ЗН. Артемин, специфический лиганд рецептора альфа-3 семейства GDNF (GFRalpha3), оказывает нейротрофическое действие на аксотомированные ГКС *in vivo* и *in vitro* посредством активации внеклеточных сигнальных путей киназы и фосфоинозитид-3-киназы-Akt. Артемин также оказывает существенное влияние на регенерацию аксонов в ГКС как *in vivo*, так и *in vitro*, тогда как другие члены семейства GDNF (Нейртурин, GDNF) этого не делают (Omodaka et al., 2014).

Интравитреальное и капельное (на поверхность глаза) введение рекомбинантного человеческого NGF может противодействовать эффектам разрушения ЗН у взрослых крыс. Было показано, что оба метода введения уменьшают потерю ГКС и стимулируют возобновление роста аксонов после раздавливания ЗН (Mesentier-Louro et al., 2019).

Повышенная экспрессия адапторной молекулы протрудина, которая обычно обнаруживается на низких уровнях в нерегенерирующих нейронах, обеспечивает регенерацию центральной нервной системы как *in vitro* в первичной культуре кортикальных нейронов, так и *in vivo* в поврежденном ЗН взрослого животного (Petrova et al., 2020).

Увеличение активности ГКС за счет зрительной стимуляции может способствовать регенерации аксонов после повреждения ЗН (Li et al., 2016; Lim et al., 2016). Если при этом зрительная стимуляция сочетается с экспрессией положительного регулятора передачи сигналов mTOR, полученной с помощью вирусного вектора, аксоны ГКС регенерируют на больших расстояниях, проходят через хиазму, иннервируют мозг и даже частично восстанавливают зрительную функцию (Lim et al., 2016).

ПРОТИВОДЕЙСТВИЕ ИНГИБИТОРАМ РОСТА АКСОНОВ В ЗРИТЕЛЬНОМ НЕРВЕ

В ответ на повреждение ЗН покоящиеся астроциты в сетчатке и зрительном нерве активируются, демонстрируют гипертрофию, активируют пролиферацию, экспрессируют промежуточные филаменты (GFAP) и образуют глиальный рубец (Dezawa et al., 1999). Глиальные рубцы создают механический барьер для роста аксонов ГКС. Менее активное образование глиального рубца у животных с нокаутом по митохондриальной *аргиназе-2* коррелировало с интенсификацией регенерации аксонов ГКС, по срав-

нению с нормальными животными, как *in vitro*, так и *in vivo* (Xu et al., 2018). Ингибирующие молекулы, связанные с миелином и глиальным рубцом, ограничивают регенерацию аксонов взрослой ЦНС. На моделях глиального рубца *in vitro* и после повреждения ЗН (ОНС) у взрослых мышей было показано, что арилсульфатаза В снижает ингибирующее действие содержащихся в глиальном рубце гликозаминогликанов и активирует регенерацию аксонов ГКС (Pearson et al., 2018).

После повреждений ЗН в астроцитах происходит активация рецептора эпидермального фактора роста EGFR, способствуя образованию глиального рубца (Liu et al., 2006). Интересно, что ингибирование EGFR предотвращает активацию астроцитов (Liu et al., 2006). Введение в область разрушения ЗН геля, насыщенного ингибиторами киназной функции рецептора эпидермального фактора роста EGFR, позволяет ослабить действие миелиновых ингибиторов регенерации аксонов ГКС (Koprivica et al., 2005). В этих экспериментах использовали селективные ингибиторы тирозинкиназной активности EGFR PD168393, AG1478, и Erlotinib (Tarceva). Последний препарат используется в клинике для лечения немелкоклеточного рака легких и рака поджелудочной железы. Этот препарат имеет потенциал применения и в лечении нейродегенеративных заболеваний (Koprivica et al., 2005; Liu et al., 2006).

Ли с соавт. исследовали влияние микроРНК-21 (miR-21) и ее антагомира (синтетическая молекула, комплементарная miR-21, способная ее инактивировать) на регенерацию аксонов ЗН и зрительные вызванные потенциалы на крысиной модели повреждения ЗН. miR-21 является регулируемым EGFR антиапоптотическим фактором. Инактивация miR-21 посредством интравитреальной инъекции антагомира miR-21 приводила к ослаблению чрезмерной активации астроцитов и ослаблению образования глиальных рубцов, тем самым способствуя регенерации аксонов и облегчая нарушение зрительных вызванных потенциалов в модели повреждения ЗН (Li et al., 2018).

В отличие от периферической нервной системы, где миелинизацию обеспечивают шванновские клетки, в ЦНС миелинизирующими глиальными клетками являются олигодендроциты, которые оказывают ингибирующее действие на регенерацию аксонов. Миелин, происходящий из олигодендроцитов, является одним из основных супрессоров роста аксонов в ЦНС. Ингибирующие эффекты миелина связаны с множеством молекул, включая

изоформы ретикулон-подобного белка Nogo, миелин-ассоциированного гликопротеина, олигодендроцитарно-миелинового гликопротеина и семафорина (Goldberg et al., 2004; Schwab, 2004; Yiu et al., 2006). Хотя эти последние три молекулы структурно не связаны между собой, все они связываются с двумя общими рецепторами, так называемым Nogo-рецептором (NgR) и PirB (Filbin, 2003; Yiu and He, 2006). NgR имеет три различные изоформы, и генетическая делеция всех трех достаточна, чтобы обеспечить весьма умеренный уровень регенерации зрительного нерва (Zheng et al., 2005). Этот эффект может усиливаться внутриглазным воспалением (Dickendesher et al., 2012).

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ЗН

Для решения задачи восстановления зрительной функции при разрушении зрительного нерва необходимы комбинированные подходы, сочетающие воздействия, ограничивающие гибель ГКС и обеспечивающие благоприятную среду роста для регенерирующих аксонов (Benowitz et al., 2017; Plant et al., 2011). Было показано, что клеточная терапия с трансплантацией мезенхимальных стволовых клеток может быть эффективна в этом отношении (Chen et al., 2013; Mesentier-Louro et al., 2014; Yang et al., 2014; Zaverucha-do-Valle et al., 2014). В отношении комплексного терапевтического воздействия представляют особый интерес обонятельные обочечные клетки (olfactory ensheathing cells, ООК) (Shkarubo et al., 2020; Yang et al., 2015; Шкарубо et al., 2023). ООК располагаются в обонятельной слизистой оболочке по ходу волокон обонятельного нерва к обонятельной луковице, обеспечивая постоянное обновление волокон обонятельных нервов на протяжении всей жизни (Mackay-Sim et al., 2011). ООК секретируют различные виды нейротрофических факторов (Lipson et al., 2003; Woodhall et al., 2001). Вместе со шванновскими клетками ООК создают трехмерную матрицу, которая обеспечивает благоприятную среду для успешной регенерации аксонов в центральной нервной системе взрослых млекопитающих (Boyd et al., 2005). Результаты исследований указывают на потенциальную результативность клеточной терапии посредством трансплантации ООК либо отдельно, либо в сочетании с нейротрофическим фактором или другими типами клеток при повреждении ЗН (Leaver et al., 2006; Liu et al., 2010).

Терапевтическое окно для применения средств, повышающих жизнеспособность и интенсивность регенерации аксонов ГКС, ограничено коротким

промежутком времени, пока ГКС все еще живы. Это сильно затрудняет применение аутологичных ООК, так как выращивание их *in vitro* занимает много времени. Применение гетерологичной трансплантации заранее выращенных ООК может вызвать проблему иммунного отторжения. Для решения этой проблемы была показана перспективность применения ауто трансплантации обонятельного эпителия, который возможно получить у пациента с помощью назальной эндоскопии. Этот материал можно применять на острых стадиях повреждения ЦНС (Lu et al., 2001) и ЗН в частности (Gong et al., 2018).

С точки зрения терапии острой фазы повреждения ЗН было бы очень полезно в случае задержки в начале лечения иметь возможность пополнить контингент клеток, потенциально для этого пригодных. В тканях и органах человека и животных содержатся стволовые клетки, способные к длительной пролиферации и многонаправленной дифференцировке. Сетчатка млекопитающих, по данным Тропепе с соавт., может содержать популяцию стволовых клеток на периферии (Тропепе et al., 2000), однако пока нет доказательств того, что они могут заменить погибшие ГКС. По этой причине постоянно предпринимаются попытки разработать методические подходы к применению заместительной клеточной терапии для замещения погибших ГКС. В рамках этих работ исследуются плюрипотентные клетки, включая эмбриональные стволовые клетки и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, на предмет их дифференцировки в различные клетки сетчатки. С этой целью Cho с соавт. разработали модель, в которой ГКС генетически удаляются у взрослых мышей с последующей дегенерацией зрительного нерва с последующей трансплантацией донорских прогениторных клеток из эмбриональной сетчатки, меченных трансгенным зеленым флуоресцентным белком, которые максимально экспрессируют Atoh7, необходимый для идентификации ГКС (Cho et al., 2012). Было показано, что донорские клетки способны дифференцироваться в ГКС, интегрироваться в слой нервных волокон реципиентной сетчатки и экспрессировать гены, связанные с дифференцировкой ГКС (Cho et al., 2012).

Для заместительной терапии могут быть использованы также эмбриональные стволовые клетки (ЭСК). Chao с соавт. дифференцировали ЭСК человека в нейроны сетчатки с использованием специальной методики и культивировали в течение 60–70 дней, после чего вводили их в глаз беличьих обезьян. Аксоны некоторых трансплантированных клеток располагались в слое нервных волокон реципиент-

ной сетчатки и посылали аксоны к зрительному диску, а затем проецировались в мозг (Chao et al., 2017).

Многочисленные исследования по применению клеточной терапии для лечения оптической нейропатии в качестве источников клеточного материала использовали стволовые клетки сетчатки плода человека, аллогенные трупные клетки человека, нервные стволовые клетки гиппокампа взрослого человека, стволовые клетки ЦНС человека, цилиарные пигментированные эпителиальные клетки, лимбальные стволовые клетки, клетки-предшественники сетчатки, плюрипотентные стволовые клетки человека (включая ЭСК), индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и мезенхимальные стволовые клетки. Основные результаты этих исследований изложены в обстоятельном обзоре Коко-Мартен с соавт. (Coco-Martin et al., 2021).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема регенерации зрительного нерва является частью более крупной проблемы регенерации проводящих путей в центральной нервной системе. Это удобная модель для исследования и испытания методов преодоления препятствий на пути лечения многих патологических явлений в ЦНС. За последние два десятилетия получено так много полезной информации, что восстановление зрительного нерва вышло из разряда нерешаемых проблем и превратилось в реалистичную цель на ближайшие 5–10 лет. На животных моделях показана возможность восстановления поврежденных связей между глазом и мозгом. Выявлены пути решения основных проблем – продления выживания ГКС и интенсификации регенерации их аксонов. Эти пути – генная терапия, терапия нейротрофическими факторами, трансплантация клеток и хирургические приемы протезирования – клинически осуществимы. Конечно, многие из перечисленных выше проблем остаются нерешенными. Количество регенерирующих аксонов, достигающих правильных мишеней в мозге, еще слишком мало для восстановления зрения до клинически значимого уровня. Тем не менее дальнейшее движение по намеченным направлениям исследований и разработка новых направлений с использованием комбинаций терапевтических методов и новых материалов позволят разработать методы, которые в будущем улучшат жизнь пациентов с нарушениями зрения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России, грант № 075–15–2021–1343.

ЛИТЕРАТУРА

- Шкарубо А. Н., Николенко В. Н., Огуцова А. А., Якупова З. Ф., Сотников В. В., Седько В. А., Чернов И. В., Шкарубо М. А., Шишкина Л. В., Синельников М. Е., Величко А. Я. (2023). Способ пластики зрительного нерва (Российская Федерация), Патент № 2802384: pp. 1.
- Abbi V., Piplani P. Rho-kinase (ROCK) Inhibitors – A Neuroprotective Therapeutic Paradigm with a Focus on Ocular Utility. *Curr Med Chem.* 2020. 27 (14): 2222–2256.
- Aguayo A. J., Rasminsky M., Bray G. M., Carbonetto S., McKerracher L., Villegas-Perez M. P., Vidal-Sanz M., Carter D. A. (1991). Degenerative and regenerative responses of injured neurons in the central nervous system of adult mammals. In *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1991. 331 (1261): 337–343.
- Ahmed Z., Kalinski H., Berry M., Almasieh M., Ashush H., Slager N., Brafman A., Spivak I., Prasad N., Mett I., Shalom E., Alpert E., Di Polo A., Feinstein E., Logan A. Ocular neuroprotection by siRNA targeting caspase-2. *Cell Death Dis.* 2011. 2 (6): e173.
- Allcutt D., Berry M., Sievers J. A quantitative comparison of the reactions of retinal ganglion cells to optic nerve crush in neonatal and adult mice. *Brain Res.* 1984. 318 (2): 219–230.
- Behbehani R. Clinical approach to optic neuropathies. *Clin Ophthalmol.* 2007. 1 (3): 233–246.
- Beirowski B., Nogradi A., Babetto E., Garcia-alias G., Coleman M. P. Mechanisms of axonal spheroid formation in central nervous system Wallerian degeneration. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2010. 69 (5): 455–472.
- Belin S., Nawabi H., Wang C., Tang S., Latremoliere A., Warren P., Schorle H., Uncu C., Woolf C. J., He Z., Steen J. A. Injury-induced decline of intrinsic regenerative ability revealed by quantitative proteomics. *Neuron.* 2015. 86 (4): 1000–1014.
- Benowitz L. I., He Z., Goldberg J. L. Reaching the brain: Advances in optic nerve regeneration. *Exp Neurol.* 2017. 287 (Pt 3): 365–373.
- Benowitz L. I., Yin Y. Optic nerve regeneration. *Arch Ophthalmol.* 2010. 128 (8): 1059–1064.
- Berkelaar M., Clarke D. B., Wang Y. C., Bray G. M., Aguayo A. J. Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats. *J Neurosci.* 1994. 14 (7): 4368–4374.
- Berry M., Carlile J., Hunter A. Peripheral nerve explants grafted into the vitreous body of the eye promote the regeneration of retinal ganglion cell axons severed in the optic nerve. *J Neurocytol.* 1996. 25 (2): 147–170.
- Blanquie O., Bradke F. Cytoskeleton dynamics in axon regeneration. *Curr Opin Neurobiol.* 2018. 51: 60–69.
- Bollaerts I., Veys L., Geeraerts E., Andries L., De Groef L., Buyens T., Salinas-Navarro M., Moons L., Van Hove I. Complementary research models and methods to study axonal regeneration in the vertebrate retinofugal system. *Brain Struct Funct.* 2018. 223 (2): 545–567.
- Bonfanti L., Strettoi E., Chierzi S., Cenni M. C., Liu X. H., Martinou J. C., Maffei L., Rabacchi S. A. Protection of retinal ganglion cells from natural and axotomy-in-

- duced cell death in neonatal transgenic mice overexpressing bcl-2. *J Neurosci*. 1996. 16 (13): 4186–4194.
- Boyd J. G., Doucette R., Kawaja M. D. Defining the role of olfactory ensheathing cells in facilitating axon remyelination following damage to the spinal cord. *Faseb J*. 2005. 19 (7): 694–703.
- Burton M. J., Ramke J., Marques A. P., Bourne R. R. A., Congdon N., Jones I., Ah Tong B. A. M., Arunga S., Bachani D., Bascaran C., Bastawrous A., Blanchet K., Braithwaite T., Buchan J. C., Cairns J., Cama A., Chagunda M., Chuluunkhuu C., Cooper A., Crofts-Lawrence J., Dean W. H., Denniston A. K., Ehrlich J. R., Emerson P. M., Evans J. R., Frick K. D., Friedman D. S., Furtado J. M., Gichangi M. M., Gichuhi S., Gilbert S. S., Gurung R., Habtamu E., Holland P., Jonas J. B., Keane P. A., Keay L., Khanna R. C., Khaw P. T., Kuper H., Kyari F., Lansingh V. C., Mactaggart I., Mafwiri M. M., Mathenge W., McCormick I., Morjaria P., Mowatt L., Muirhead D., Murthy G. V. S., Mwangi N., Patel D. B., Peto T., Qureshi B. M., Salomao S. R., Sarah V., Shilio B. R., Solomon A. W., Swenor B. K., Taylor H. R., Wang N., Webson A., West S. K., Wong T. Y., Wormald R., Yasmin S., Yusufu M., Silva J. C., Resnikoff S., Ravilla T., Gilbert C. E., Foster A., Faal H. B. The Lancet Global Health Commission on Global Eye Health: vision beyond 2020. *Lancet Glob Health*. 2021. 9 (4): e489–e551.
- Cen L. P., Liang J. J., Chen J. H., Harvey A. R., Ng T. K., Zhang M., Pang C. P., Cui Q., Fan Y. M. AAV-mediated transfer of RhoA shRNA and CNTF promotes retinal ganglion cell survival and axon regeneration. *Neuroscience*. 2017. 343: 472–482.
- Chao J. R., Lamba D. A., Klesert T. R., Torre A., Hoshino A., Taylor R. J., Jayabalu A., Engel A. L., Khuu T. H., Wang R. K., Neitz M., Neitz J., Reh T. A. Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Retinal Cells into the Subretinal Space of a Non-Human Primate. *Transl Vis Sci Technol*. 2017. 6 (3): 4.
- Chen D. F., Jhaveri S., Schneider G. E. Intrinsic changes in developing retinal neurons result in regenerative failure of their axons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995. 92 (16): 7287–7291.
- Chen M., Xiang Z., Cai J. The anti-apoptotic and neuroprotective effects of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells (hUCB-MSCs) on acute optic nerve injury is transient. *Brain Res*. 2013. 1532: 63–75.
- Cheng Y., Yin Y., Zhang A., Bernstein A. M., Kawaguchi R., Gao K., Potter K., Gilbert H. Y., Ao Y., Ou J., Fricano-Kugler C. J., Goldberg J. L., He Z., Woolf C. J., Sofroniew M. V., Benowitz L. I., Geschwind D. H. Transcription factor network analysis identifies REST/NRSF as an intrinsic regulator of CNS regeneration in mice. *Nat Commun*. 2022. 13 (1): 4418.
- Cho J. H., Mao C. A., Klein W. H. Adult mice transplanted with embryonic retinal progenitor cells: new approach for repairing damaged optic nerves. *Mol Vis*. 2012. 18: 2658–2672.
- Coco-Martin R. M., Pastor-Idoate S., Pastor J. C. Cell Replacement Therapy for Retinal and Optic Nerve Diseases: Cell Sources, Clinical Trials and Challenges. *Pharmaceutics*. 2021. 13 (6): 865.
- Cui Q. Actions of neurotrophic factors and their signaling pathways in neuronal survival and axonal regeneration. *Mol Neurobiol*. 2006. 33 (2): 155–179.
- Dezawa M., Kawana K., Negishi H., Adachi-Usami E. Glial cells in degenerating and regenerating optic nerve of the adult rat. *Brain Res Bull*. 1999. 48 (6): 573–579.
- Dickendesher T. L., Baldwin K. T., Mironova Y. A., Koriyama Y., Raiker S. J., Askew K. L., Wood A., Geoffroy C. G., Zheng B., Liepmann C. D., Katagiri Y., Benowitz L. I., Geller H. M., Giger R. J. NgR1 and NgR3 are receptors for chondroitin sulfate proteoglycans. *Nat Neurosci*. 2012. 15 (5): 703–712.
- Donahue R. J., Maes M. E., Grosser J. A., and Nickells R. W. BAX-Depleted Retinal Ganglion Cells Survive and Become Quiescent Following Optic Nerve Damage. *Mol Neurobiol*. 2020. 57 (2): 1070–1084.
- Ellenberg D., Shi J., Jain S., Chang J. H., Ripps H., Brady S., Melhem E. R., Lakkis F., Adamis A., Chen D. F., Ellis-Behnke R., Langer R. S., Strittmatter S. M., Azar D. T. Impediments to eye transplantation: ocular viability following optic-nerve transection or enucleation. *Br J Ophthalmol*. 2009. 93 (9): 1134–1140.
- Filbin M. T. Myelin-associated inhibitors of axonal regeneration in the adult mammalian CNS. *Nat Rev Neurosci*. 2003. 4(9): 703–713.
- Fischer D., Petkova V., Thanos S., Benowitz L. I. Switching mature retinal ganglion cells to a robust growth state in vivo: gene expression and synergy with RhoA inactivation. *J Neurosci*. 2004. 24 (40): 8726–8740.
- Flachsbarth K., Jankowiak W., Kruszewski K., Helbing S., Bartsch S., Bartsch U. Pronounced synergistic neuroprotective effect of GDNF and CNTF on axotomized retinal ganglion cells in the adult mouse. *Exp Eye Res*. 2018. 176: 258–265.
- George E. B., Glass J. D., Griffin J. W. Axotomy-induced axonal degeneration is mediated by calcium influx through ion-specific channels. *J Neurosci*. 1995. 15 (10): 6445–6452.
- Ghaffarieh A., Levin L. A. Optic nerve disease and axon pathophysiology. *Int Rev Neurobiol*. 2012. 105: 1–17.
- Gokoffski K. K., Peng M., Alas B., Lam P. Neuro-protection and neuro-regeneration of the optic nerve: recent advances and future directions. *Curr Opin Neurol*. 2020. 33 (1): 93–105.
- Goldberg J. L., Vargas M. E., Wang J. T., Mandemakers W., Oster S. F., Sretavan D. W., Barres B. A. An oligodendrocyte lineage-specific semaphorin, Sema5A, inhibits axon growth by retinal ganglion cells. *J Neurosci*. 2004. 24 (21): 4989–4999.
- Goll D. E., Thompson V. F., Li H., Wei W., Cong J. The calpain system. *Physiol Rev*. 2003. 83 (3): 731–801.
- Gong S., Jin H., Zhang D., Zou W., Wang C., Li Z., Chen R., Dong Y., Hou L. The Therapeutic Effects after Transplantation of Whole-Layer Olfactory Mucosa in Rats with Optic Nerve Injury. *Biomed Res Int*. 2018. 2018: 6069756.
- Grafstein B., Ingoglia N. A. Intracranial transection of the optic nerve in adult mice: preliminary observations. *Exp Neurol*. 1982. 76 (2): 318–330.

- Harrington A. W., Ginty D. D.* Long-distance retrograde neurotrophic factor signalling in neurons. *Nat Rev Neurosci.* 2013. 14 (3): 177–187.
- Keirstead S. A., Rasminsky M., Fukuda Y., Carter D. A., Aguayo A. J., Vidal-Sanz M.* Electrophysiological responses in hamster superior colliculus evoked by regenerating retinal axons. *Science.* 1989. 246 (4927): 255–257.
- Keirstead S. A., Vidal-Sanz M., Rasminsky M., Aguayo A. J., Levesque M., So K. F.* Responses to light of retinal neurons regenerating axons into peripheral nerve grafts in the rat. *Brain Res.* 1985. 359 (1–2): 402–406.
- Kerschensteiner M., Schwab M. E., Lichtman J. W., Misgeld T.* In vivo imaging of axonal degeneration and regeneration in the injured spinal cord. *Nat Med.* 2005. 11 (5): 572–577.
- Koprivica V., Cho K. S., Park J. B., Yiu G., Atwal J., Gore B., Kim J. A., Lin E., Tessier-Lavigne M., Chen D. F., He Z.* EGFR activation mediates inhibition of axon regeneration by myelin and chondroitin sulfate proteoglycans. *Science.* 2005. 310 (5745): 106–110.
- Krebs D. L., Hilton D. J.* SOCS proteins: negative regulators of cytokine signaling. *Stem Cells.* 2001. 19 (5): 378–387.
- Kreutzberg G. W.* Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci.* 1996. 19 (8): 312–318.
- Kurimoto T., Yin Y., Omura K., Gilbert H. Y., Kim D., Cen L. P., Moko L., Kugler S., Benowitz L. I.* Long-distance axon regeneration in the mature optic nerve: contributions of oncomodulin, cAMP, and pten gene deletion. *J Neurosci.* 2010. 30 (46): 15654–15663.
- Leaver S. G., Harvey A. R., Plant G. W.* Adult olfactory ensheathing glia promote the long-distance growth of adult retinal ganglion cell neurites in vitro. *Glia.* 2006. 53 (5): 467–476.
- Leon S., Yin Y., Nguyen J., Irwin N., Benowitz L. I.* Lens injury stimulates axon regeneration in the mature rat optic nerve. *J Neurosci.* 2000. 20 (12): 4615–4626.
- Li H. J., Pan Y. B., Sun Z. L., Sun Y. Y., Yang X. T., Feng D. F.* Inhibition of miR-21 ameliorates excessive astrocyte activation and promotes axon regeneration following optic nerve crush. *Neuropharmacology.* 2018. 137: 33–49.
- Li S., Yang C., Zhang L., Gao X., Wang X., Liu W., Wang Y., Jiang S., Wong Y. H., Zhang Y., Liu K.* Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the melanopsin/GPCR signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016. 113 (7): 1937–1942.
- Li Y., Schlamp C. L., Nickells R. W.* Experimental induction of retinal ganglion cell death in adult mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999. 40 (5): 1004–1008.
- Lim J. H., Stafford B. K., Nguyen P. L., Lien B. V., Wang C., Zukor K., He Z., Huberman A. D.* Neural activity promotes long-distance, target-specific regeneration of adult retinal axons. *Nat Neurosci.* 2016. 19 (8): 1073–1084.
- Lindqvist N., Peinado-Ramonn P., Vidal-Sanz M., Hallbook F.* GDNF, Ret, GFR α 1 and 2 in the adult rat retino-tectal system after optic nerve transection. *Exp Neurol.* 2004. 187 (2): 487–499.
- Lipson A. C., Widenfalk J., Lindqvist E., Ebendal T., Olson L.* Neurotrophic properties of olfactory ensheathing glia. *Exp Neurol.* 2003. 180 (2): 167–171.
- Liu B., Chen H., Johns T. G., Neufeld A. H.* Epidermal growth factor receptor activation: an upstream signal for transition of quiescent astrocytes into reactive astrocytes after neural injury. *J Neurosci.* 2006. 26 (28): 7532–7540.
- Liu H., Anders F., Thanos S., Mann C., Liu A., Grus F. H., Pfeiffer N., and Prokosch-Willing V.* Hydrogen Sulfide Protects Retinal Ganglion Cells Against Glaucomatous Injury In Vitro and In Vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017. 58 (12): 5129–5141.
- Liu Y., Gong Z., Liu L., Sun H.* Combined effect of olfactory ensheathing cell (OEC) transplantation and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) intravitreal injection on optic nerve injury in rats. *Mol Vis.* 2010. 16 (2903–2910).
- Livne-Bar I., Wei J., Liu H. H., Alqawlaq S., Won G. J., Tuccitto A., Gronert K., Flanagan J. G., Sivak J. M.* Astrocyte-derived lipoxins A4 and B4 promote neuroprotection from acute and chronic injury. *J Clin Invest.* 2017. 127 (12): 4403–4414.
- Lu J., Feron F., Ho S. M., Mackay-Sim A., Waite P. M.* Transplantation of nasal olfactory tissue promotes partial recovery in paraplegic adult rats. *Brain Res.* 2001. 889 (1–2): 344–357.
- Mackay-Sim A., St John J. A.* Olfactory ensheathing cells from the nose: clinical application in human spinal cord injuries. *Exp Neurol.* 2011. 229 (1): 174–180.
- Maes M. E., Schlamp C. L., Nickells R. W.* BAX to basics: How the BCL2 gene family controls the death of retinal ganglion cells. *Prog Retin Eye Res.* 2017. 57: 1–25.
- Mansour-Robaey S., Clarke D. B., Wang Y. C., Bray G. M., Aguayo A. J.* Effects of ocular injury and administration of brain-derived neurotrophic factor on survival and regrowth of axotomized retinal ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994. 91 (5): 1632–1636.
- Mendoza M. C., Er E. E., Blenis J.* The Ras-ERK and PI3K-mTOR pathways: cross-talk and compensation. *Trends Biochem Sci.* 2011. 36 (6): 320–328.
- Mesentier-Louro L. A., Rosso P., Carito V., Mendez-Otero R., Santiago M. F., Rama P., Lambiase A., Tirassa P.* Nerve Growth Factor Role on Retinal Ganglion Cell Survival and Axon Regrowth: Effects of Ocular Administration in Experimental Model of Optic Nerve Injury. *Mol Neurobiol.* 2019. 56 (2): 1056–1069.
- Mesentier-Louro L. A., Zaverucha-do-Valle C., da Silva-Junior A. J., Nascimento-Dos-Santos G., Gubert F., de Figueiredo A. B., Torres A. L., Paredes B. D., Teixeira C., Tovar-Moll F., Mendez-Otero R., Santiago M. F.* Distribution of mesenchymal stem cells and effects on neuronal survival and axon regeneration after optic nerve crush and cell therapy. *PLoS One.* 2014. 9 (10): e110722.
- Moore D. L., Goldberg J. L.* Multiple transcription factor families regulate axon growth and regeneration. *Dev Neurobiol.* 2011. 71 (12): 1186–1211.
- Muller A., Hauk T. G., Fischer D.* Astrocyte-derived CNTF switches mature RGCs to a regenerative state following inflammatory stimulation. *Brain.* 2007. 130 (Pt 12): 3308–3320.
- Nakano Y., Shimazawa M., Ojino K., Izawa H., Takeuchi H., Inoue Y., Tsuruma K., Hara H.* Toll-like receptor 4 in-

- hibitor protects against retinal ganglion cell damage induced by optic nerve crush in mice. *J Pharmacol Sci*. 2017. 133 (3): 176–183.
- Omodaka K., Kurimoto T., Nakamura O., Sato K., Yasuda M., Tanaka Y., Himori N., Yokoyama Y., Nakazawa T. Artemin augments survival and axon regeneration in axotomized retinal ganglion cells. *J Neurosci Res*. 2014. 92 (12): 1637–1646.
- Osborne A., Khatib T.Z., Songra L., Barber A.C., Hall K., Kong G.Y.X., Widdowson P.S., Martin K.R. Neuroprotection of retinal ganglion cells by a novel gene therapy construct that achieves sustained enhancement of brain-derived neurotrophic factor/tropomyosin-related kinase receptor-B signaling. *Cell Death Dis*. 2018. 9 (10): 1007.
- Pan F., Hu D., Sun L.J., Bai Q., Wang Y.S., Hou X. Valproate reduces retinal ganglion cell apoptosis in rats after optic nerve crush. *Neural Regen Res*. 2023. 18 (7): 1607–1612.
- Park K.K., Liu K., Hu Y., Smith P.D., Wang C., Cai B., Xu B., Connolly L., Kramvis I., Sahin M., He Z. Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway. *Science*. 2008. 322 (5903): 963–966.
- Pearson C.S., Mencio C.P., Barber A.C., Martin K.R., Geller H.M. Identification of a critical sulfation in chondroitin that inhibits axonal regeneration. *Elife*. 2018. 7: 37139.
- Petrova V., Pearson C.S., Ching J., Tribble J.R., Solano A.G., Yang Y., Love F.M., Watt R.J., Osborne A., Reid E., Williams P.A., Martin K.R., Geller H.M., Eva R., Fawcett J.W. Protrudin functions from the endoplasmic reticulum to support axon regeneration in the adult CNS. *Nat Commun*. 2020. 11 (1): 5614.
- Plant G.W., Harvey A.R., Leaver S.G., Lee S.V. Olfactory ensheathing glia: repairing injury to the mammalian visual system. *Exp Neurol*. 2011. 229(1): 99–108.
- Prasad S., Volpe N.J., Balcer L.J. Approach to optic neuropathies: clinical update. *Neurologist*. 2010. 16 (1): 23–34.
- Richardson P.M., Issa V.M., Shemie S. Regeneration and retrograde degeneration of axons in the rat optic nerve. *J Neurocytol*. 1982. 11 (6): 949–966.
- Schwab M.E. Nogo and axon regeneration. *Curr Opin Neurobiol*. 2004. 14 (1): 118–124.
- Schwab M.E., Thoenen H. Dissociated neurons regenerate into sciatic but not optic nerve explants in culture irrespective of neurotrophic factors. *J Neurosci*. 1985. 5 (9): 2415–2423.
- Shin J.E., Cho Y., Beirowski B., Milbrandt J., Cavalli V., DiAntonio A. Dual leucine zipper kinase is required for retrograde injury signaling and axonal regeneration. *Neuron*. 2012. 74 (6): 1015–1022.
- Shkarubo A.N., Nikolenko V.N., Velichko A.Y., Sinenkov M.Y. Cell therapy assisted autotransplantation of olfactory tract into the optic nerve: A potential treatment for optic neuropathy. *Med Hypotheses*. 2020. 143 (110104).
- Silver J., Schwab M.E., Popovich P.G. Central nervous system regenerative failure: role of oligodendrocytes, astrocytes, and microglia. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015. 7 (3): a020602.
- Smith P.D., Sun F., Park K.K., Cai B., Wang C., Kuwako K., Martinez-Carrasco I., Connolly L., He Z. SOCS3 deletion promotes optic nerve regeneration in vivo. *Neuron*. 2009. 64 (5): 617–623.
- So K.F., Aguayo A.J. Lengthy regrowth of cut axons from ganglion cells after peripheral nerve transplantation into the retina of adult rats. *Brain Res*. 1985. 328 (2): 349–354.
- Takeuchi H., Inagaki S., Morozumi W., Nakano Y., Inoue Y., Kuse Y., Mizoguchi T., Nakamura S., Funato M., Kaneko H., Hara H., Shimazawa M. VGF nerve growth factor inducible is involved in retinal ganglion cells death induced by optic nerve crush. In *Sci Rep*, 2018. pp. 16443.
- Tan H., Zhong Y., Shen X., Cheng Y., Jiao Q., Deng L. Erythropoietin promotes axonal regeneration after optic nerve crush in vivo by inhibition of RhoA/ROCK signaling pathway. *Neuropharmacology*. 2012. 63 (6): 1182–1190.
- Tham Y.C., Li X., Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014. 121(11): 2081–2090.
- Thompson A., Berry M., Logan A., Ahmed Z. Activation of the BMP4/Smad1 Pathway Promotes Retinal Ganglion Cell Survival and Axon Regeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019. 60 (5): 1748–1759.
- Tropepe V., Coles B.L., Chiasson B.J., Horsford D.J., Elia A.J., McInnes R.R., van der Kooy D. Retinal stem cells in the adult mammalian eye. *Science*. 2000. 287 (5460): 2032–2036.
- Vidal-Sanz M., Bray G.M., Villegas-Perez M.P., Thanos S., and Aguayo A.J. Axonal regeneration and synapse formation in the superior colliculus by retinal ganglion cells in the adult rat. *J Neurosci*. 1987. 7 (9): 2894–2909.
- Villegas-Perez M.P., Vidal-Sanz M., Rasminsky M., Bray G.M., Aguayo A.J. Rapid and protracted phases of retinal ganglion cell loss follow axotomy in the optic nerve of adult rats. *J Neurobiol*. 1993. 24 (1): 23–36.
- Weibel D., Kreutzberg G.W., Schwab M.E. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) prevents lesion-induced axonal die-back in young rat optic nerve. *Brain Res*. 1995. 679 (2): 249–254.
- Whiteley S.J., Sauve Y., Aviles-Trigueros M., Vidal-Sanz M., Lund R.D. Extent and duration of recovered pupillary light reflex following retinal ganglion cell axon regeneration through peripheral nerve grafts directed to the pretectum in adult rats. *Exp Neurol*. 1998. 154 (2): 560–572.
- Woodhall E., West A.K., Chuah M.I. Cultured olfactory ensheathing cells express nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, glia cell line-derived neurotrophic factor and their receptors. *Brain Res Mol Brain Res*. 2001. 88 (1–2): 203–213.
- Xu Z., Fouda A.Y., Lemtalsi T., Shosha E., Rojas M., Liu F., Patel C., Caldwell R.W., Narayanan S.P., Caldwell R.B. Retinal Neuroprotection From Optic Nerve Trauma by Deletion of Arginase 2. *Front Neurosci*. 2018. 12: 970.

- Yan Q., Wang J., Matheson C. R., Urich J. L.* Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) promotes the survival of axotomized retinal ganglion cells in adult rats: comparison to and combination with brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *J Neurobiol.* 1999. 38 (3): 382–390.
- Yang H., He B. R., Hao D. J.* Biological roles of olfactory ensheathing cells in facilitating neural regeneration: a systematic review. *Mol Neurobiol.* 2015. 51 (1): 168–179.
- Yang X. F., Huang Y. X., Lan M., Zhang T. R., Zhou J.* Protective Effects of Leukemia Inhibitory Factor on Retinal Vasculature and Cells in Streptozotocin-induced Diabetic Mice. *Chin Med J (Engl).* 2018. 131 (1): 75–81.
- Yang X. T., Bi Y. Y., Chen E. T., Feng D. F.* Overexpression of Wnt3a facilitates the proliferation and neural differentiation of neural stem cells in vitro and after transplantation into an injured rat retina. *J Neurosci Res.* 2014. 92 (2): 148–161.
- Yin Y., Cui Q., Gilbert H. Y., Yang Y., Yang Z., Berlinicke C., Li Z., Zaverucha-do-Valle C., He H., Petkova V., Zack D. J., Benowitz L. I.* Oncomodulin links inflammation to optic nerve regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009. 106 (46): 19587–19592.
- Yin Y., Cui Q., Li Y., Irwin N., Fischer D., Harvey A. R., Benowitz L. I.* Macrophage-derived factors stimulate optic nerve regeneration. *J Neurosci.* 2003. 23 (6): 2284–2293.
- Yin Y., Henzl M. T., Lorber B., Nakazawa T., Thomas T. T., Jiang F., Langer R., Benowitz L. I.* Oncomodulin is a macrophage-derived signal for axon regeneration in retinal ganglion cells. *Nat Neurosci.* 2006. 9 (6): 843–852.
- Yiu G., and He Z.* Glial inhibition of CNS axon regeneration. *Nat Rev Neurosci.* 2006. 7(8): 617–627.
- Zaverucha-do-Valle C., Mesentier-Louro L., Gubert F., Mortari N., Padilha A. B., Paredes B. D., Mencialha A., Abdelhay E., Teixeira C., Ferreira F. G., Tovar-Moll F., deSouza S. A., Guffilen B., Mendez-Otero R., Santiago M. F.* Sustained effect of bone marrow mononuclear cell therapy in axonal regeneration in a model of optic nerve crush. *Brain Res.* 2014. 1587: 54–68.
- Zhang J., Liu W., Zhang X., Lin S., Yan J., Ye J.* Sema3A inhibits axonal regeneration of retinal ganglion cells via ROCK2. *Brain Res.* 2020. 1727: 146555.
- Zhang Z. Z., Gong Y. Y., Shi Y. H., Zhang W., Qin X. H., Wu X. W.* Valproate promotes survival of retinal ganglion cells in a rat model of optic nerve crush. *Neuroscience.* 2023. 224: 282–293.
- Zheng B., Atwal J., Ho C., Case L., He X. L., Garcia K. C., Steward O., Tessier-Lavigne M.* Genetic deletion of the Nogo receptor does not reduce neurite inhibition in vitro or promote corticospinal tract regeneration in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005. 102 (4): 1205–1210.

PROBLEMS AND PROSPECTS FOR RESTORATION OF THE OPTIC NERVE

A. V. Revishchin^{a, #}, G. V. Pavlova^{a, b, c}, A. N. Shkarubo^{b, d}

^a*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

^b*N. N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Ministry of Healthcare of Russia, Moscow, Russia*

^c*I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia*

^d*Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia*

[#]*e-mail: revishchin@mail.ru*

Restoring visual function after damage or complete destruction of the optic nerve in adult patients has many natural barriers to neuroregeneration. Research to restore vision has focused on maintaining retinal ganglion cells (RGCs), stimulating axonal growth toward the brain, and restoring their proper synaptic connections. Unfortunately, mammalian RGC axons under normal conditions do not regenerate after injury and ultimately die. In this review, we summarize the currently known mechanisms of RGC survival and axonal regeneration in mammals, including specific intrinsic signaling pathways, key transcription factors, reprogramming genes, inflammation-related regeneration factors, and stem cell therapy. We also review the current understanding of the phenomena impeding optic nerve regeneration and possible ways to overcome these obstacles. The most important research results obtained in recent decades may be informative for the development of methods for treating the damaged visual system.

Keywords: axonal regeneration, optic nerve damage, retinal ganglion cells, viability