

e-ISSN: 2345-0592 Online issue Indexed in <i>Index Copernicus</i>	Medical Sciences Official website: www.medicisciences.com	
--	--	---

Optogenetics in advanced retinal degeneration: a systematic literature review

Kazimieras Kaušyla¹, Vilma Jūratė Balčiūnienė²

¹Lithuanian University of Health Sciences, Academy of Medicine, Faculty of Medicine, Kaunas, Lithuania

²Hospital of the Lithuanian University of Health Sciences Kaunas Clinics, Department of Ophthalmology, Kaunas, Lithuania

Abstract

Introduction. In advanced retinal degenerations, photoreceptors undergo irreversible loss, making conventional vision restoration strategies ineffective. Optogenetic therapy offers partial restoration of visual function by activating surviving retinal ganglion or bipolar cells, using adeno-associated viral vectors to deliver genes encoding light-sensitive proteins called opsins.

Aim. To systematically review optogenetic therapy, therapeutic targets, opsins, gene delivery strategies, preclinical and clinical outcomes, and safety and technological limitations in advanced retinal degeneration.

Methods. A systematic literature review was conducted in the PubMed database following PRISMA guidelines and the PICOS framework. Preclinical and clinical studies published between 2016 and 2025 assessing functional visual outcomes, electrophysiological measures, and safety of optogenetic strategies were included. 78 articles were included in the final analysis.

Results. Preclinical studies shows that opsin expression in retinal ganglion or ON bipolar cells restores light responsiveness and improves contrast sensitivity and motion detection in animal models. ON bipolar cell targeting preserves more physiological retinal signal processing. Clinical trials report modest but clinically meaningful functional improvements, mainly in object localization, motion perception, and mobility tasks, with limited gains in standard visual acuity. Adverse events are predominantly inflammatory and related to vector dose, delivery route, and capsid properties.

Conclusions. Optogenetic therapy represents a promising approach for advanced retinal degeneration; however, clinical translation remains limited by safety concerns, a narrow therapeutic window, and technological constraints.

Keywords: optogenetics; retinal degeneration; vision restoration; gene therapy; adeno-associated virus vectors.

Optogenetika pažengusios tinklainės degeneracijos atvejais: sisteminė literatūros apžvalga

Kazimieras Kaušyla¹, Vilma Jūratė Balčiūnienė²

¹Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, Medicinos fakultetas, Kaunas, Lietuva

²Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Kauno klinikos, Oftalmologijos klinika, Kaunas, Lietuva

Santrauka

Įvadas. Pažengusių tinklainės degeneracijų metu fotoreceptoriai negrįžtamai sunyksta, todėl daugelis regėjimo atkūrimo strategijų tampa neveiksmingos. Optogenetinė terapija siūlo alternatyvų dalinės regėjimo funkcijos atkūrimo būdą, funkciškai aktyvinant išlikusias tinklainės ganglines ar bipolines ląsteles. Tai atliekama naudojami adeno-asocijuotų virusų vektorius, kuriais perduodami šviesai jautrius baltymus koduojantys genai, leidžiantys išlikusioms tinklainės ląstelėms ekspresuoti šviesai jautrius baltymus ir įgyti jautrumą šviesai.

Tikslas. Sistemingai apžvelgti optogenetinės terapijos principus, taikinius, naudojamus opsinus, genų pristatymo strategijas, ikiklinikinių ir klinikinių tyrimų rezultatus, saugumą ir technologinius apribojimus pažengusios tinklainės degeneracijos atvejais.

Metodai. Naudojant „PubMed“ duomenų bazę, pagal PRISMA gaires, taikant PICOS duomenų atrankos modelį atlikta sisteminė literatūros apžvalga. Įtraukti 2016–2025 m. publikuoti ikiklinikiniai ir klinikiniai tyrimai bei sisteminės apžvalgos, vertinančios optogenetinių strategijų veiksmingumą, regėjimo ir elektrofiziologinius rodiklius bei saugumą. Į galutinę analizę buvo įtraukti 78 straipsniai.

Rezultatai. Ikiklinikiniai tyrimai parodė, kad opsinų ekspresija ganglinėse ar ON bipolinėse ląstelėse leidžia atkurti šviesos signalų generavimą, pagerinti jautrumą kontrastui ir judesio suvokimą gyvūnų modeliuose. ON bipolinių ląstelių taikymas užtikrina fiziologiškesnį signalų kodavimą. Klinikiniai tyrimai parodė nedidelius, bet kliniškai reikšmingus funkcinės regos pagerėjimus, ypač objektų lokalizavimo, judesio ir mobilumo užduotyse, dažnai be ryškaus regėjimo aštrumo padidėjimo. Dažniausi nepageidaujami reiškiniai yra uždegiminio pobūdžio ir yra susiję su vektoriaus doze, kapsidės savybėmis bei genų pristatymo būdu.

Išvados. Optogenetinė terapija yra perspektyvi, tačiau jos efektyvumą riboja siauras terapinis langas, saugumo aspektai ir technologiniai iššūkiai, dėl to būtini tolesni klinikiniai tyrimai, padėsiantys tiksliau aprašyti veiksmingumą, saugumą ir pacientų atrankos kriterijus.

Raktažodžiai: optogenetika; tinklainės degeneracija; regos atkūrimas; genų terapija; adeno-asocijuotų virusų vektoriai.

1. Įvadas

Pažengusių tinklainės degeneracijų (pvz., sergant pigmentiniu retinitu, pažengusia su amžiumi susijusios geltonosios dėmės degeneracijos atrofine forma ar kitomis tinklainės distrofijomis) metu fotoreceptoriai negrįžtamai sunyksta, todėl į jų atkūrimą nukreipti gydymo metodai tampa neveiksmingi, o regėjimo praradimas dažnai laikomas negrįžtamu. Tai skatina ieškoti alternatyvių terapinių strategijų, galinčių apeiti pažeistus fotoreceptorius ir atkurti regos funkciją kituose tinklainės lygmenyse. Viena perspektyviausių tokių strategijų yra optogenetika – metodas, kai naudojant adeno-asocijuoto viruso (AAV) vektorius tinklainės ganglinėse arba bipolinėse ląstelėse indukuojama šviesai jautrių baltymų (opsinų) ekspresija, leidžianti šioms ląstelėms perimti šviesos signalų jutimo funkciją nepriklausomai nuo pirminės ligos etiologijos [1,2]. AAV pagrindu sukurta optogenetinė terapija siejama su pagerėjusiu funkcinio regos signalų apdorojimu, daliniu regėjimo funkcijos atsikūrimu ir ilgalaikiu veiksmingumu, dažniausiai esant minimaliai imuninei reakcijai, pasireiškiančiai lengvu priekiniu uveitu, nedideliu vitritu ar laikinu akispūdžio padidėjimu [3,4]. Vis dėlto, AAV pagrindu sukurtų genų terapijų sisteminės analizės rodo, kad sunkių nepageidaujamų reiškinių dažnis gali siekti apie 8 %, pabrėžiant būtinybę kritiškai vertinti šių technologijų saugumą, vektorių dozavimo strategijas ir klinikinius apribojimus [5,6]. Atsižvelgiant į spartų optogenetikos vystymąsi ir didėjantį klinikinį susidomėjimą, šiame straipsnyje sistemiškai apžvelgiami optogenetinės terapijos principai, pagrindiniai terapiniai taikiniai, naudojami opsinai, genų pristatymo strategijos, ikiklinikinių ir klinikinių tyrimų rezultatai bei esminiai klinikiniai ir technologiniai iššūkiai pažengusių tinklainės degeneracijų gydyme.

2. Metodika

Sisteminė literatūros apžvalga atlikta naudojant „PubMed“ duomenų bazę. Į analizę įtraukti straipsniai, publikuoti anglų kalba 2016–2025 metais, nagrinėjantys optogenetinę terapiją, tinklainės degeneraciją ir regos funkcijos atkūrimą. paieškos metu naudoti raktiniai žodžiai ir jų deriniai: optogenetinė terapija, tinklainės degeneracija, regos atkūrimas, opsinai, adeno-asocijuotų virusų vektoriai. Straipsnių atranka vykdyta vadovaujantis PRISMA gairėmis, taikant PICOS (angl. Population, Intervention, Comparison, Outcomes, Study Design) duomenų atrankos modelį:

- populiacija – pažengusios tinklainės degeneracijos modeliai (gyvūnai ir žmonės);
- intervencija – optogenetinė terapija naudojant virusinius vektorius;
- palyginimas – skirtingi taikiniai, opsinai ar genų pristatymo strategijos;
- išeitys – funkcinės regos pagerėjimai, elektrofiziologiniai rodikliai, saugumas bei nepageidaujami reiškiniai;
- tyrimo struktūra – ikiklinikiniai, klinikiniai, stebėjimo tyrimai ir sisteminės apžvalgos.

Įtraukimo kriterijai

- ikiklinikiniai tyrimai su gyvūnų modeliais;
- klinikiniai tyrimai bei sisteminės apžvalgos;
- tyrimai, kuriuose vertintas funkcinės regos atkūrimas, elektrofiziologiniai atsakai ar elgsenos rodikliai atspindintys regos pagerėjimą;
- tyrimai, analizuojantys opsinų savybes, taikinių parinkimą, aav vektorius, genų pristatymo strategijas ar saugumą;
- publikacijos, išleistos 2016–2025 m.;
- straipsniai anglų kalba.

Atmetimo kriterijai

- Publikacijos, nesusijusios su tinklainės optogenetine terapija;
- Straipsniai, kuriuose nevertinti terapijos funkciniai ar biologiniai aspektai;
- Pavienių atvejų aprašymai, nepateikiantys biologinio pagrindimo ar klinikinio įvertinimo.

Paieškos metu identifikuoti 242 bibliografiniai įrašai. Pirminės atrankos metu atmestos 103 publikacijos, neatitinkančios kalbos, publikavimo laikotarpio ar temos kriterijų. Įvertinus pavadinimus ir santraukas, atmesti dar 44 straipsniai, neatitinkantys tyrimo tikslo. Likusios publikacijos buvo vertintos pilno teksto analizės metu, taikant įtraukimo ir atmetimo kriterijus, atmesta dar 17 publikacijų. Į galutinę sisteminę literatūros apžvalgą įtraukti 78 straipsniai.

3. Rezultatai

3.1. Optogenetinės terapijos principai pažengusios tinklainės degeneracijos atvejais

Optogenetinė terapija yra metodas, skirtas atkurti šviesos sukeltų signalų generavimą pažengusios tinklainės degeneracijos atvejais, kai fotoreceptoriniai yra negrįžtamai pažeisti, indukuojant šviesai jautrių opsinų ekspresiją išlikusiose tinklainės ganglinėse arba bipolinėse ląstelėse [7,8]. Tinklainės ganglinės

ląstelės yra dažniausiai pasirenkamas optogenetinės terapijos taikiny, nes jos yra lengvai pasiekiamos taikant intravitrealinę injekciją. Vis dėlto, ganglinių ląstelių aktyvinimas lemia supaprastintą regos signalų perdavimą, kadangi apeinami vidiniai tinklainės neuroniniai tinklai, atsakingi už kontrasto, judesio ir erdvinės informacijos apdorojimą. Kitas optogenetinės terapijos taikiny yra bipolinės ląstelės, kurios fiziologiškai yra arčiau fotoreceptorių ir leidžia geriau išsaugoti natūralų tinklainės signalų apdorojimą. Tačiau šiuo metu šis metodas pasižymi didesniais technologiniais iššūkiais, įskaitant sudėtingesnę genų pristatymo būdą, dažnai reikalaujantį subretinalinės injekcijos, bei būtinybę tikslingai parinkti vektorius ir ląstelėms specifiskus promotorius (DNR reguliacinė seka, nulemianti, kuriose ląstelėse ir kaip stipriai bus aktyvus perneštas genas) (*1 lentelė*) [9–11]. Skirtingai nuo tradicinių genų terapijos metodų ar kamieninių ląstelių terapijos, optogenetika siekia ne atkurti pažeistų fotoreceptorių struktūrą, bet funkcinio požiūriu perprogramuoja tinklainės ląsteles, taip suteikiant joms šviesos jutimo funkciją. Kadangi optogenetinė terapija nepriklauso nuo konkrečios genetinės mutacijos, ji gali būti taikoma įvairioms pažengusių tinklainės degeneracijų formoms [12].

Lentelė 1. Optogenetinės terapijos taikiniai ir jų ypatumai [9-11]

	Ganglinės ląstelės	Bipolinės ląstelės
Genų pristatymas	Efektyvus taikant intravitrealinę injekciją ¹	Ribotas taikant intravitrealinę injekciją; dažniau reikalinga subretinalinė injekcija ²
Regos signalo kodavimas	Supaprastintas	Artimesnis fiziologiniam
Klinikinė translacija	Greitesnė	Šiuo metu ribota
Technologiniai iššūkiai	Reikalingas didelis šviesos intensyvumas	Sudėtingas vektorių ir promotorių parinkimas
Pritaikomumas	Ankstyvieji klinikiniai tyrimai	Daugiausia ikiklinikiniai tyrimai

¹Intravitrealinė injekcija – tai vaisto ar genų terapijos suleidimas į stiklakūnio ertmę; ²Subretinalinė injekcija – tai vaisto ar genų terapijos suleidimas į subretinalinę erdvę, t. y. tarp fotoreceptorių ir tinklainės pigmentinio epitelio.

3.2. Naudojami opsinai ir jų funkcinės savybės

Optogenetinėse strategijose ne pats opsino baltymas, o jį koduojantis genas perduodamas į tiksles tinklainės ląsteles, dažniausiai naudojant AAV vektorius. Po transdukcijos ląstelės pačios

sintetina opsinus. Ekspresuojamų opsinų savybės lemia reikalingą šviesos intensyvumą, aktyvacijos bangos ilgio spektrą, laikinę skiriamąją gebą bei galimą klinikinį pritaikomumą (2 lentelė) [13-26].

Lentelė 2. Optogenetinėje terapijoje naudojamų opsinų palyginimas pažengusios tinklainės degeneracijos atvejais [13–26]

Opsinas	Aktyvacijos bangos ilgis	Šviesos intensyvumo poreikis	Funkcinės savybės ir privalumai	Pritaikomumas
ChR2 (katijonų kanalas)	Mėlyna (<550 nm)	Aukštas, dažnai viršija saugias ribas	Greita aktyvacija, gerai ištirtas, tačiau didelė fototoksiškumo rizika	Ribotas klinikinis taikymas
ReaChR (katijonų kanalas)	Žalios–oranžinės šviesos diapazono	Žemas, saugus akiai	Pakankama laikinė raiška (~50 Hz ¹), mažesnė fototoksiškumo rizika, efektyvus regos signalų atkūrimas	Perspektyvus primatams ir žmonėms
Chrimson / ChrimsonR (katijonų kanalas)	Raudona (λ _{max} ~585–605 nm)	Žemas	Geras audinių pasiekiamumas; sudėtinga fotodinaminė būseną gali riboti jautrumą	Klinikiniai tyrimai su žmonėmis
ChRmine (katijonų kanalas)	Platus, bet jautriausias raudonos šviesos diapazonui	Labai žemas	Labai didelis jautrumas šviesai, leidžiantis aktyvaciją net esant aplinkos apšvietimui	Ikiklinikiniai tyrimai
ChRmine-T119A (inžinerinis katijonų kanalas)	Raudonos šviesos diapazono	Labai žemas	Geresnis atsako greitis (iki 50–80 Hz), geresnis judesio ir mirgėjimo suvokimas	Ikiklinikiniai tyrimai
Halorodopsinas eNpHR (chlorido siurblys)	Geltonos šviesos diapazono	Vidutinis	Slopinantis poveikis, lėtesnis atsako greitis, labiau tinkamas neuronų aktyvumo moduliacijai	Ribotas regos atkūrimui
Žinduolių opsinai (GPCR)	Priklauso nuo tipo	Labai žemas	Fiziologiškesnis signalas, tačiau lėtas atsako greitis	Ribotas regos atkūrimui

¹Hz – hercai

Klinikiniu požiūriu opsinų parinkimą riboja reikalingas šviesos intensyvumas ir aktyvacijos bangos ilgis. Ankstyvosios kartos kanalrodopsinai dažnai reikalavo didelio apšvietimo intensyvumo, todėl jų klinikinis pritaikymas buvo ribotas ir neretai reikėjo naudoti specialius šviesą sustiprinančius ar vaizdo signalą konvertuojančius akinius, kad būtų pasiektas pakankamas tinklainės stimuliacijos lygis [13,14]. Siekiant užtikrinti saugesnį poveikį akies audiniams, vėlesni tyrimai buvo nukreipti į ilgesnių bangų ilgių šviesai jautrių opsinų kūrimą, geresnę šviesos skvarbą, didesnę jautrumą ir greitesnę atsako kinetiką, leidžiančią sumažinti reikalingą

apšvietimo intensyvumą ir pagerinti dinaminių regos signalų, tokių kaip judesio ar mirgėjimo, atkūrimą [12,15-21]. Šios savybės yra ypač svarbios siekiant praktiškai naudingos regos funkcijos realiomis aplinkos sąlygomis. Be regos signalus aktyvinančių opsinų, optogenetinėse strategijose naudojami ir slopinantys opsinai, leidžiantys reguliuoti neuronų aktyvumą ir mažinti patologiškus tinklainės hiperaktyvumą. Aktyvinančių ir slopinančių opsinų derinimas sudaro prielaidas tikslesniam signalų formavimui ir fiziologiškesniam tinklainės atsakui [22–26].

3.3. AAV vektoriai bei genų pristatymo į tinklainę efektyvumą veikiantys veiksniai

Optogenetinėje terapijoje genų pristatymo efektyvumą lemia keli tarpusavyje susiję veiksniai, įskaitant AAV serotipą, kapsidės savybes, promotoriaus

parinkimą ir genų pristatymo būdą. Dėl palankaus saugumo, ilgalaikės transgeno ekspresijos ir galimybės selektyviai transdukuoti genus į skirtingas tinklainės ląsteles AAV išlieka plačiausiai naudojami vektoriai (3 lentelė) [3,27-44].

Lentelė 3. AAV vektoriai ir jų savybės [3,27-44]

AAV serotipas / variantas	Pagrindinis ląstelių taikiny	Transdukcijos ypatumai ir klinikinės pastabos
AAV ¹²	RGC ⁷	Vidutinė transdukcija į RGC ⁷ ; gerai ištirtas ir plačiai naudotas ikiklinikiniuose ir klinikiniuose tyrimuose
AAV ^{12.7m8}	RGC ⁷	Didesnis transdukuojamų ląstelių plotas ir tankis nei AAV ¹² ; aukšta opsino ekspresija; geras saugumo profilis primatuose optimaliomis dozėmis (5×10^{10} – 5×10^{11} vg/akiai)
AAV ^{12.NN} (scAAV)	RGC ⁷	Greitesnė ekspresijos pradžia; nuo dozės priklausoma transdukcija į RGC ⁷
AAV ^{12.GL}	Vidiniai tinklainės sluoksniai, Müllerio ląstelės	Platesnis vidinių sluoksnių transdukcijos spektras, galimas papildomas gliolinių ląstelių įtraukimas
AAV ^{12/5}	Fotoreceptoriai	Didelis tropizmas fotoreceptoriams; efektyvumas priklauso nuo tiriamojo organizmo rūšies
AAV ^{12/4}	Fotoreceptoriai	Panašus tropizmas kaip AAV ^{12/5}
AAV ^{12/8}	ONL ⁸ /RPE ⁹	Stipri fotoreceptorių ir RPE ² transdukcija; efektyvumas skiriasi tarp gyvūnų modelių ir žmogaus
AAV ^{12/9}	ONL ⁸ /RPE ⁹	Plati išorinių tinklainės sluoksnių transdukcija;
Inžineriniai kapsidžių variantai (7m8, QuadYF+TV, MAX) ²	Vidiniai ir išoriniai tinklainės sluoksniai	Gera skvarba per vidinę ribinę membraną; patvirtintas veiksmingumas žmogaus tinklainės eksplantatuose
AAV ¹ su HS ³ sąveika	Vidiniai tinklainės sluoksniai	Geras kaupimasis ties vidine ribine membrana
AAV ¹ + CMV ⁴ promotorius	RGC ⁷	Stipri, bet mažiau selektyvi ekspresija; apie 60 % RGC ⁷ transdukcija esant 1×10^9 vg ¹⁰
AAV ¹ + CAG ⁵ promotorius	RGC ⁷	Subalansuota ekspresija; mažesnis RGC ⁷ transdukcijos efektyvumas (~42 %) nei CMV ⁴
AAV ¹ + hSyn ⁶ promotorius	RGC ⁷	Aukštas neuroninis specifiškumas; ribota nepageidaujama ekspresija
AAV ¹ + kūgeliams specifiniai promotoriai	Kūgeliai	Tikslinė kūgelių ekspresija; svarbu aukštesnės regos funkcijos atkūrimui
AAV ^{17m8}	Vidiniai tinklainės sluoksniai	Didesnė transdukcija, tačiau galimas ryškesnis mikroglijos aktyvavimas
AAV ^{18BP2}	Vidiniai ir išoriniai sluoksniai	Efektyvi transdukcija ir palankesnis saugumo profilis primatų modeliuose

¹AAV -adeno-asocijuotas virusas; ²QuadYF+TV ir MAX - modifikuoti opsinai, optimizuoti didesniai šviesos jautrumui ir greitesnei kinetikai; ³HS -heparano sulfatas; ⁴CMV- citomegalovirusas; ⁵CAG promotorius – sintetinis promotorius; ⁶hSyn - žmogaus sinapsino promotorius; ⁷RGC – tinklainės ganglinės ląstelės (angl. retinal ganglial cells); ⁸ONL – išorinis branduolinis sluoksnis, tinklainės sluoksnis, kuriame yra fotoreceptorių (stryelių ir kūgelių) branduoliai (angl. outer nuclear layer); ⁹RPE – tinklainės pigmentinis epitelis – sluoksnis po fotoreceptoriais, svarbus fotoreceptorių mitybai, regos ciklui ir apsaugai. (angl. retinal pigment epithelium); ¹⁰vg – vektorių genomų skaičius (angl. vector genomes).

Genų pristatymo būdas yra vienas svarbiausių veiksnių, nulemiančių, kuriose tinklainės ląstelėse bus efektyviausiai transdukuotas genas. Intra-vitrealinis genų pristatymas dažniausiai pasirenkamas taikant terapiją į vidinius tinklainės sluoksnius, ypač ganglines ląsteles, o jo efektyvumą lemia vektoriaus sąveika su vidinės ribinės membranos komponentais [3,28–30]. Tuo tarpu subretinalinis genų pristatymas leidžia efektyviau pasiekti išorinius tinklainės sluoksnius, įskaitant fotoreceptorius ir pigmentinį epitelį, tačiau yra invazyvesnis ir technologiškai sudėtingesnis [31,32].

Svarbų vaidmenį atlieka ir kapsidės struktūra. Inžineriniai kapsidžių variantai kuriami siekiant pagerinti vektorių skvarbą per vidinę ribinę membraną, išplėsti transdukuojamų ląstelių spektrą ir padidinti bendrą genų pristatymo efektyvumą, ypač intra-vitrealinio taikymo metu [27,33]. Kapsidžių savybės yra ypač svarbios siekiant pakankamos ekspresijos nenaudojant perteklinių vektoriaus dozių.

Kitas svarbus genų pristatymą lemiantis veiksnys - promotoriaus parinkimas. Universalūs promotoriai užtikrina stiprią transgeno raišką, tačiau gali lemti platesnę, mažiau selektyvią ekspresiją, o ląstelėms specifiški promotoriai leidžia tiksliau nukreipti ekspresiją į norimas tinklainės ląsteles [34–36]. Genų pristatymo efektyvumas taip pat priklauso nuo vektoriaus dozės ir paciento būklės. Tinklainės patologija gali keisti AAV tropizmą ir padidinti genų patekimą į skirtingas ląsteles, o neutralizuojantys antikūnai prieš AAV gali reikšmingai sumažinti terapijos efektyvumą ir padidinti uždegiminių reakcijų riziką [37–42]. Dėl šios priežasties šiuolaikinės strategijos orientuojasi į racionalų dozės parinkimą, kapsidžių tobulinimą, serotipų parinkimą ir ankstyvą, žmogaus audiniais paremtą vektorių bei promotorių atranką [43,44].

3.4. Ikiklinikinių optogenetinės terapijos tyrimų rezultatai

Ikiklinikiniai tyrimai pažengusių tinklainės degeneracijų modeliuose rodo, kad dirbtinai indukuota šviesai jautrių baltymų ekspresija išlikusiose tinklainės ląstelėse gali atkurti regos signalų perdavimą ir sąlygoti funkcinį regos pagerėjimą (4 lentelė) [3,10,12,45-54]. Pelėse ir žiurkėse nustatytas regėjimo aštrumo ir kontrasto jautrumo pagerėjimas, ypač taikant opsinus, pritaikytus aplinkos apšvietimui. Pokyčiai pasireiškė pagerėjusiu optomotoriniu atsaku, sėkmingesne orientacija labirintuose, vengimo reakcijomis į šviesą bei išmatuojamu regos žievės atsaku [45-49]. Primatų modeliuose, taikant ganglines ląsteles veikiančią baltymą ChrimsonR, dekodavimo analizėse nustatyta regos informacija, atitinkanti maždaug 20/249 regėjimo aštrumo, kas rodo reikšmingą signalų atkūrimą aukštesniuose regos centruose [3]. Ikiklinikiniuose tyrimuose dažniausiai naudojami vertinimo metodai apima optomotorinį testą, labirintus, vyzdžio šviesos refleksą, elektrofiziologinius tyrimus bei reakcijas į artėjančius objektus [47-51]. Tyrimai parodė, kad opsinų ekspresija bipolinėse ląstelėse leidžia išlaikyti į natūralią regą panašų signalų apdorojimą, o ganglinėse ląstelėse sukelia paprastesnius, mažiau selektyvius atsakus, tačiau kartais pasiekiamas panašus jautrumas [7,8,11]. Vis dėlto, kai kuriuose gyvūnų modeliuose ganglinių ląstelių taikymas leido pasiekti geresnį regos funkcijos atkūrimą nei bipolinių ląstelių taikymas [12].

Atkurtos regos kokybė priklauso nuo pasirinkto opsino, jo jautrumo ir ekspresijos lygio. Raudonai šviesai jautrūs opsinai, tokie kaip bReaChES, leidžia veikti esant vidaus apšvietimui ir aptikti mirgėjimą iki 50 Hz [46], o CoChR variantai pagerina regėjimo aštrumą ir kontrasto suvokimą aplinkos šviesoje [3]. Naujos kartos ChRmine ir ChroME opsinai užtikrina šviesos suvokimą esant mažesniai

apšvietimui, o mažesni viruso titrai kai kuriais atvejais siejami su patikimesniu signalu [12]. Bipolinėse ląstelėse taikomi melanopsino–mGluR6 chimera pagrįsti konstruktai kai kuriuose modeliuose leido pasiekti beveik normalų regėjimo aštrumo ir kontrasto jautrumo lygį [10]. ON bipolinių ląstelių taikymas leidžia išlaikyti stabilų signalų perdavimą mėnesių laikotarpiu, o kai kurie funkciniai rodikliai gerėja ankstyvuojant laikotarpiu po gydymo [11,52]. Opto-mGluR6 taikančios

strategijos sumažina spontanių degeneravusios tinklainės hiperaktyvumą, taip pagerindamos atkurtų šviesos signalų perdavimą, bei užtikrina ilgalaikį funkcinį atsaką, patvirtintą mERG (angl. *modified electroretinography*) duomenimis [53]. Ilgalaikiai tyrimai su šunimis parodė, kad melanopsino ar kanalrodopsinų genų ekspresija 16 mėnesių laikotarpiu nesukėlė reikšmingų tinklainės struktūrinių pokyčių. [54].

Lentelė 4. Ikiklinikinių optogenetinės terapijos tyrimų rezultatai [3,10,12,45-54]

Modelis	Taikinys ir naudojami opsinai	Atkurtos regos funkcijos	Vertinimo metodai
Pelės, žiurkės (pažengusi tinklainės degeneracija)	Taikinys: Ganglinės ląstelės Opsinai: CoChR variantai, bReaChES, ChRmine, ChroME ¹	Pagerėjęs regėjimo aštrumas ir kontrasto jautrumas, reakcijos į aplinkos apšvietimą	Optomotorinis testas, labirintai, vyzdžio šviesos refleksas, VEP ⁴ , reakcijos į artėjantį vizualinį dirgiklį (angl. <i>looming stimulus</i>)
Pelės	Taikinys: ON bipolinės ląstelės ² Opsinai: melanopsino–mGluR6 chimeros ³	Regos signalų apdorojimas, artimas fiziologinėms sąlygoms; pagerėjęs kontrasto suvokimas	ERG ⁵ , VEP ⁴ , elgsenos testai
Pelės (palyginamieji tyrimai)	Taikinys: Ganglinės ląstelės vs. ON bipolinės ląstelės ² Opsinai: įvairūs kanalrodopsinai	Skirtingas signalo selektyvumas ir laikinės savybės	Elektrofiziologiniai ir elgsenos testai
Primatai	Taikinys: Ganglinės ląstelės Opsinai: ChrimsonR ¹	Regos signalų dekodavimas, atitinkantis ~20/249 regėjimo aštrumą	Žievės atsako tyrimai, dekodavimo analizės
Pelės, šunys (ilgalaikiai tyrimai)	Taikinys: ON bipolinės ² ir ganglinės ląstelės Opsinai: opto-mGluR6 ³ , melanopsinas, kanalrodopsinai	Ilgalaikis stabilus funkcinis atsakas, sumažėjęs pataloginis spontaninis tinklainės hiperaktyvumas	ERG ⁵ , mERG ⁶ , histologiniai tyrimai

¹ChR, ChRmine, ChroME, CoChR, bReaChES, ChrimsonR – šviesai jautrūs baltymai (opsinai), naudojami optogenetinėje terapijoje (angl. *channelrhodopsins and engineered variants*); ²ON bipolinės ląstelės – bipolinės tinklainės ląstelės, aktyvuojamos šviesos signalo metu; ³Opto-mGluR6 – optogenetinis receptorių, imituojantis fiziologinį ON bipolinių ląstelių signalų perdavimą (angl. *optogenetic metabotropic glutamate receptor 6*); ⁴VEP – regos sukeltas atsakas (angl. *Visually Evoked Potentials*); ⁵ERG – elektroretinograma (angl. *electroretinography*)

⁶mERG – modifikuota elektroretinograma, leidžianti identifikuoti ON bipolinių ląstelių atsakus (angl. *modified electroretinography*).

3.5. Klinikiniai tyrimai su optogenetine terapija

Klinikiniuose optogenetinės terapijos tyrimuose pažengusios tinklainės degeneracijos atvejais taip pat nustatyta regos pagerėjimų (5 lentelė) [50]. Ši

terapija dažniau gerina ne regėjimo aštrumą, o praktines žemo lygio regėjimo funkcijas. Todėl klinikiniuose tyrimuose vis labiau akcentuojami regos rodikliai, jautresni mažam regos pagerėjimui,

tokie kaip objektų lokalizavimas ir atpažinimas, užduotys su judančiais objektais, regos lauko pokyčiai ar neurofiziologiniai atsakai. Standartinė Snellen/ETDRS lentelė, kuri skirta centriniam aukštos raiškos regėjimui ir smulkių detalių atpažinimui vertinti, yra nepakankamai jautri

subtiliems funkciniais pokyčiams, būdingiems optogenetinės terapijos sukeltam regos atsistatymui, todėl gydymo efektyvumą geriau vertinti funkciniais, mažo regos lygio užduočių ir realios aplinkos veiklos testais [55-57].

Lentelė 5. Klinikiniai optogenetinės terapijos tyrimai pažengusios tinklainės degeneracijos atvejais [50,55-59]

Strategija (vektorius + taikiny)	Taikymo ypatumai	Atkurtos regos funkcijos	Vertinimo metodai
Ganglinių ląstelių optogenetika (AAV2.7m8 ¹ -ChrimsonR ²)	Intravitrealinis genų pristatymas, dažnai derinamas su šviesą stiprinančiais akiniais	Objektų lokalizavimas ir skaičiavimas, šviesos suvokimas, patvirtinti žievės regos atsakai	Objektų atpažinimo užduotys, mobilumo testai, EEG ⁶ /VEP ⁷
ON bipolinių ³ ląstelių optogenetika (MCO-010 ⁴)	Intravitrealinis AAV2; siekiama išsaugoti fiziologiškesnį tinklainės signalų apdorojimą	Vidutinis +5,5 ETDRS raidžių pagerėjimas ($\approx +13$ su optinėmis priemonėmis), regos lauko pagerėjimas ($\sim +2,6$ dB ⁵), geresnis mobilumas ir objektų atpažinimas	ETDRS, perimetrija, FST, mobilumo ir objektų užduotys

¹AAV2.7m8 – adeno-asocijuoto viruso 2 serotipo inžinerinis variantas; ²ChrimsonR – raudonai jautrus kanalrodopsino opsinas; ³ON bipolinės ląstelės – bipolinės tinklainės ląstelės, aktyvuojamos šviesos signalo metu; ⁴MCO-010 – daugiafunkcis kanalrodopsino pagrindu sukurtas opsinas; ⁵dB – decibelai, vienetas, kuriuo išreiškiamas šviesos jautrumas regos lauko ar šviesos slenksčio tyrimuose; ⁶EEG – elektroencefalografija; ⁷VEP – regos sukeltas atsakas (angl. Visually Evoked Potentials).

Pirmasis aprašytas klinikinis atvejis (intravitrealinis AAV2.7m8-ChrimsonR + šviesą stiprinantys akiniai) parodė, kad pacientas, iki gydymo neturėjęs funkcinio regėjimo, po terapijos gebėjo atlikti objektų lokalizavimo ir skaičiavimo užduotis, o kartu buvo užfiksuoti ir regos žievės atsakai, patvirtinantys, kad optogenetiškai sukeltas signalas pasiekia aukštesnius regos centrus [55]. Tai parodė, jog optogenetinė terapija gali grąžinti šviesos ir objektų suvokimą, tačiau dažnai tam reikia išorinio šviesos signalo sustiprinimo, o efektyvumas priklauso nuo opsino jautrumo ir pasiekto ekspresijos lygio [55,57].

Kita klinikinių tyrimų kryptis remiasi taikymu į bipolines ląsteles. Tai padeda išsaugoti fiziologiškesnį tinklainės signalų apdorojimą. MCO-010 (angl. *multi-characteristic opsin*) II fazės tyrimų duomenys rodo statistiškai ir kliniškai

reikšmingus pokyčius: vidutinis +5,5 ETDRS raidžių matymo pagerėjimas po 48 savaičių (ir apie +13 raidžių, vertinant kartu su silpnaregiams skirtomis priemonėmis), regos lauko pagerėjimas perimetrijoje ($\sim +2,6$ dB) bei geresni rezultatai judesio ir formų/objektų atpažinimo užduotyse. Tai patvirtina, kad optogenetinėje terapijoje efektyvumą geriau atspindi funkcinio jautrumo ir realių užduočių testai, o ne vien regėjimo aštrumas [56,58].

Apžvalginiai tyrimai rodo, kad abi strategijos suteikia klinikinį efektyvumą: metodai taikomi į ganlines ląsteles naudingi kartu taikant pagalbines technologijas, o metodai taikomi į bipolines ląsteles siejami su aukštesne signalų apdoravimo kokybe [50,59].

3.6. Saugumas, nepageidaujami reiškiniai bei technologiniai apribojimai

Klinikinį optogenetinės terapijos efektyvumą riboja siauras terapinis langas tarp per mažos ir per didelės opsino ekspresijos. Iki klinikiniai ir klinikiniai duomenys rodo, kad didžiausias funkcinis efektas dažniausiai pasiekiamas esant vidutiniam ekspresijos lygiui, o per didelės dozės siejamos su signalų patikimumo sumažėjimu, ląsteliniu stresu ir citotoksiškumu. Didžiausių dozių grupėse pastebėtas reikšmingai didesnis uveito dažnis (apie 71 %, palyginti su 14 % mažesnių dozių grupėse) [60–62]. Apibendrinamosios analizės rodo, kad sunkūs nepageidaujami reiškiniai sudaro apie 8 % ir dažniausiai yra susiję su procedūriniais veiksniais, o sisteminio imuninio atsako rizika lemia profilaktinės imunosupresijos ir nuoseklaus stebėjimo būtinybę [6]. Dažniausi nepageidaujami reiškiniai – priekinis uveitas, imuninių ląstelių atsiradimas stiklakūnyje, keratininiai precipitatai, akispūdžio padidėjimas ir procedūrinės komplikacijos (6 lentelė). Uždegiminės reakcijos

dažnėja didinant vektoriaus dozę ir yra dažnesnės intravitrealinio genų pristatymo metu, ypač naudojant tam tikras inžinerines kapsides, tokias kaip AAV2.7m8 [6,39,63], tačiau dauguma jų sėkmingai kontroliuojamos gliukokortikoidais [39,63].

Saugumui svarbūs ir technologiniai veiksniai: dozė, promotoriaus pasirinkimas ir paciento imuninė būklė. Plataus aktyvumo promotoriai siejami su didesne uždegimo ir tinklainės pažeidimo rizika, tuo tarpu ląstelėms specifiški promotoriai pasižymi palankesniu saugumo profiliu net ir didesnėmis dozėmis [64–66]. Neutralizuojantys antikūnai koreliuoja su silpnesne transdukcija ir stipresniu uždegimu, todėl būtina išankstinė pacientų atranka ir imuninės būklės stebėseną [67–71]. Papildomos strategijos, tokios kaip tinkamas dozės parinkimas, kapsidžių optimizavimas, profilaktinė imunosupresija ir transdukciją stiprinančių medžiagų taikymas, leidžia sumažinti reikalingą vektoriaus dozę nepadidinant toksiškumo [72–78].

Lentelė 6. Optogenetinės terapijos sukeliami nepageidaujami reiškiniai ir juos lemiantys veiksniai [6,39,47,62-64,67-70,77,78]

Nepageidaujamas reiškinys ir jo klinikinė raiška	Klinikinė raiška	Pagrindiniai rizikos veiksniai	Pastabos
Priekinis uveitas	Akių paraudimas, skausmas, imuninės ląstelės priekinėje kameroje	Didelė vektoriaus dozė, intravitrealinis genų pristatymas, neutralizuojantys antikūnai	Dažniausiai pagydomas steroidais; rizika didėja didžiausių dozių grupėse
Uždegiminės ląstelės stiklakūnyje	Stiklakūnio drumstumas	Intravitrealinis AAV, tam tikros kapsidės (pvz., AAV2.7m8)	Paprastai laikinas reiškinys, valdomas vietiniais gliukokortikoidais
Keratinų precipitātų susidarymas	Ragenos endotelio nuosėdos	Uždegiminis atsakas į vektorių	Dažniausiai kartu su uveitu; klinikinė reikšmė ribota
Akispūdžio padidėjimas	Galimi glaukomos simptomai	Steroidų vartojimas, uždegiminė reakcija	Reikalinga akispūdžio stebėseną ir gydymas antiglaukominiais vaistais
Lėtinis uveitas	Ilgalaikis uždegimas	Labai didelės vektoriaus dozės	Retas; aprašytas aukščiausių dozių grupėse
Tinklainės atrofija	Struktūriniai pokyčiai	Subretinalinis AAV didelėmis dozėmis	Apibrėžia viršutinės saugias dozavimo ribas ($\leq 5 \times 10^{11}$ vg)

Mikroglijos aktyvacija	Uždegiminiai pokyčiai tinklainėje	Kapsidės, genomo heterogeniškumas	Siejama su kapsidės dizainu ir imuniteto aktyvacija
Citotoksiškumas	Laštelinis stresas, baltymų kaupimasis	Per didelė opsino ekspresija	Stebėta žmogaus tinklainės organoiduose
Procedūrinės komplikacijos	Junginės kraujavimas, tinklainės atšoka	Intervencija	Sudaro didelę dalį sunkių nepageidaujamų reiškinių (~8%)
Sisteminio imuninio atsako požymiai	Antikūnų titrų padidėjimas	Didelė dozė, kryžminis serotipų neutralizavimas	Rekomenduojama profilaktinė imunosupresija ir monitoravimas
Trumpalaikis junginės uždegimas	Lengvas paraudimas, diskomfortas	ON bipolinių ląstelių taikymas	Dažniausiai savaime praeinantis, be ilgalaikių pasekmių

4. Išvados

Optogenetinė terapija yra perspektyvi strategija pažengusių tinklainės degeneracijų atvejais, kai fotoreceptoriai yra negrįžtamai sunykę, nes ji leidžia funkciškai aktyvinti išlikusias ganglines ar bipolines ląsteles ir atkurti šviesos signalų generavimą nepriklausomai nuo genetinės ligos kilmės. Ikklinikiniai ir ankstyvieji klinikiniai tyrimai rodo, kad ši terapija gali lemti realius, tačiau dažniausiai ribotus funkcinės regos pagerėjimus, kurie labiau pasireiškia praktinių žemo regėjimo funkcijų, tokių kaip objektų lokalizavimas ir atpažinimas ir judesio suvokimas, gerėjimu, o ne reikšmingu regėjimo aštrumo padidėjimu. Terapijos efektyvumas priklauso nuo parinktų šviesai jautrių baltymų savybių, genų pristatymo strategijų, vektorių dizaino ir pasiekto ekspresijos lygio. Saugumą riboja siauras terapinis langas tarp nepakankamos ir perteklinės opsino ekspresijos. Dažniausiai pasitaikantys nepageidaujami reiškiniai yra uždegiminio pobūdžio ir priklauso nuo vektoriaus dozės, genų pristatymo būdo, kapsidės savybių bei paciento imuninės būklės. Tolimesnis metodų tobulinimas ir jų pritaikymas atrinktiems pacientams yra esminiai siekiant platesnio klininio taikymo.

Literatūros šaltiniai

- Sahel JA, Boulanger-Scemama E, Pagot C, Arleo A, Galluppi F, Martel JN, et al. Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nat Med.* 2021;27(7):1223–1229.
- Sakai D, Tomita H, Maeda A. Optogenetic therapy for visual restoration. *Int J Mol Sci.* 2022;23(23):15041.
- Gauvain G, Akolkar H, Chaffiol A, Arcizet F, Khoei MA, Desrosiers M, et al. Optogenetic therapy: high spatiotemporal resolution and pattern discrimination compatible with vision restoration in non-human primates. *Commun Biol.* 2021;4(1):125.
- McGregor JE, Godat T, Dhakal KR, Parkins K, Strazzeri JM, Bateman BA, et al. Optogenetic restoration of retinal ganglion cell activity in the living primate. *Nat Commun.* 2020;11(1):1703.
- Lu Q, Wright A, Pan ZH. AAV dose-dependent transduction efficiency in retinal ganglion cells and functional efficacy of optogenetic vision restoration. *Gene Ther.* 2024;31(11–12):572–579.
- Sobh M, Lagali PS, Ghiasi M, Montroy J, Dollin M, Hurley B, et al. Safety and efficacy of adeno-associated viral gene therapy in patients with retinal degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Transl Vis Sci Technol.* 2023;12(11):24.

7. Rodgers J, Hughes S, Ebrahimi AS, Allen AE, Storchi R, Lindner M, et al. Enhanced restoration of visual code after targeting ON bipolar cells compared with retinal ganglion cells with optogenetic therapy. *Mol Ther*. 2025;33(3):1264–1281.
8. Gilhooley MJ, Lindner M, Palumaa T, Hughes S, Peirson SN, Hankins MW. A systematic comparison of optogenetic approaches to visual restoration. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2022;25:111–123.
9. Lu Q, Ganjawala TH, Krstevski A, Abrams GW, Pan ZH. Comparison of AAV-mediated optogenetic vision restoration between retinal ganglion cell expression and ON bipolar cell targeting. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020;18:15–23.
10. Kralik J, van Wyk M, Stocker N, Kleinlogel S. Bipolar cell targeted optogenetic gene therapy restores parallel retinal signaling and high-level vision in the degenerated retina. *Commun Biol*. 2022;5(1):1116.
11. Rodgers J, Hughes S, Lindner M, Allen AE, Ebrahimi AS, Storchi R, et al. Functional integrity of visual coding following advanced photoreceptor degeneration. *Curr Biol*. 2023;33(3):474–486.e5.
12. Fong VC, Le BM, Stefanov A, Lee V, Park S, Sivakumar A, et al. Optogenetic restoration of high-sensitivity vision using ChRmine- and ChroME-based channelrhodopsins. *Sci Rep*. 2025;15(1):21204.
13. Watanabe Y, Sugano E, Tabata K, Ozaki T, Saito T, Tamai M, Tomita H. Kinetic profiles of photocurrents in cells expressing two types of channelrhodopsin genes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Feb 12;496(3):814-819. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.01.149. PMID: 29395082.
14. Simunovic MP, Shen W, Lin JY, Protti DA, Lisowski L, Gillies MC. Optogenetic approaches to vision restoration. *Exp Eye Res*. 2019 Jan;178:15-26. doi: 10.1016/j.exer.2018.09.003. Epub 2018 Sep 13. PMID: 30218651.
15. Sengupta A, Chaffiol A, Macé E, Caplette R, Desrosiers M, Lampič M, Forster V, Marre O, Lin JY, Sahel JA, Picaud S, Dalkara D, Duebel J. Red-shifted channelrhodopsin stimulation restores light responses in blind mice, macaque retina, and human retina. *EMBO Mol Med*. 2016 Nov 2;8(11):1248-1264. doi: 10.15252/emmm.201505699. PMID: 27679671; PMCID: PMC5090658.
16. Krause BS, Grimm C, Kaufmann JCD, Schneider F, Sakmar TP, Bartl FJ, Hegemann P. Complex Photochemistry within the Green-Absorbing Channelrhodopsin ReaChR. *Biophys J*. 2017 Mar 28;112(6):1166-1175. doi: 10.1016/j.bpj.2017.02.001. PMID: 28355544; PMCID: PMC5374998.
17. Vierock J, Kaufmann JCD, Faiß L, Tillert L, Krause BS, Fischer P, Nguyen TBT, Schmitz D, Rost BR, Bartl F, Hegemann P. Multicolor photoreactions of the red light-activated channelrhodopsin Chrimson. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2025 Dec 30;122(52):e2513375122. doi: 10.1073/pnas.2513375122. Epub 2025 Dec 22. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2026 Feb 10;123(6):e2600938123. doi: 10.1073/pnas.2600938123. PMID: 41428877; PMCID: PMC12772191.
18. Oda K, Vierock J, Oishi S, Rodriguez-Rozada S, Taniguchi R, Yamashita K, Wiegert JS, Nishizawa T, Hegemann P, Nureki O. Crystal structure of the red light-activated channelrhodopsin Chrimson. *Nat Commun*. 2018 Sep 26;9(1):3949. doi: 10.1038/s41467-018-06421-9. PMID: 30258177; PMCID: PMC6158191.
19. Urmann D, Lorenz C, Linker SM, Braun M, Wachtveitl J, Bamann C. Photochemical Properties of the Red-shifted Channelrhodopsin Chrimson. *Photochem Photobiol*. 2017

- May;93(3):782-795. doi: 10.1111/php.12741. PMID: 28500713.
20. Tucker K, Sridharan S, Adesnik H, Brohawn SG. Cryo-EM structures of the channelrhodopsin ChRmine in lipid nanodiscs. *Nat Commun.* 2022 Aug 17;13(1):4842. doi: 10.1038/s41467-022-32441-7. PMID: 35977941; PMCID: PMC9385719.
21. Bansal H, Pyari G, Roy S. Theoretical prediction of broadband ambient light optogenetic vision restoration with ChRmine and its mutants. *Sci Rep.* 2024 May 21;14(1):11642. doi: 10.1038/s41598-024-62558-2. PMID: 38773346; PMCID: PMC11109128.
22. Bergs A, Schultheis C, Fischer E, Tsunoda SP, Erbguth K, Husson SJ, Govorunova E, Spudich JL, Nagel G, Gottschalk A, Liewald JF. Rhodopsin optogenetic toolbox v2.0 for light-sensitive excitation and inhibition in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One.* 2018 Feb 1;13(2):e0191802. doi: 10.1371/journal.pone.0191802. PMID: 29389997; PMCID: PMC5794093.
23. Kojima K, Kawanishi S, Nishimura Y, Hasegawa M, Nakao S, Nagata Y, Yoshizawa S, Sudo Y. A blue-shifted anion channelrhodopsin from the Colpodellida alga *Vitrella brassicaformis*. *Sci Rep.* 2023 Apr 28;13(1):6974. doi: 10.1038/s41598-023-34125-8. PMID: 37117398; PMCID: PMC10147648.
24. Oppermann J, Rozenberg A, Fabrin T, González-Cabrera C, Parker R, Béjà O, Prigge M, Hegemann P. Robust optogenetic inhibition with red-light-sensitive anion-conducting channelrhodopsins. *Elife.* 2024 Oct 14;12:RP90100. doi: 10.7554/eLife.90100. PMID: 39401075; PMCID: PMC11473104.
25. Chaffiol A, Duebel J. Mini-Review: Cell Type-Specific Optogenetic Vision Restoration Approaches. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1074:69-73. doi: 10.1007/978-3-319-75402-4_9. PMID: 29721929.
26. Swiersy A, Klapper SD, Busskamp V. Optogenetik – eine Chance für fortgeschrittene retinale Dystrophien [Optogenetics: A Therapeutic Option for Advanced Retinal Dystrophies]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2017 Mar;234(3):335-342. German. doi: 10.1055/s-0043-101820. Epub 2017 Mar 2. PMID: 28255969.
27. Hickey DG, Edwards TL, Barnard AR, Singh MS, de Silva SR, McClements ME, Flannery JG, Hankins MW, MacLaren RE. Tropism of engineered and evolved recombinant AAV serotypes in the rd1 mouse and ex vivo primate retina. *Gene Ther.* 2017 Dec;24(12):787-800. doi: 10.1038/gt.2017.85. Epub 2017 Nov 16. PMID: 28872643; PMCID: PMC5746594.
28. Zhang T, Wang F, Wu Y, Cao J, Shen Y. Retinal transduction profiling of diverse AAV serotypes via intravitreal injection. *J Virol.* 2025 Sep 23;99(9):e0063725. doi: 10.1128/jvi.00637-25. Epub 2025 Aug 12. PMID: 40793790; PMCID: PMC12455963.
29. Woodard KT, Liang KJ, Bennett WC, Samulski RJ. Heparan Sulfate Binding Promotes Accumulation of Intravitreally Delivered Adeno-associated Viral Vectors at the Retina for Enhanced Transduction but Weakly Influences Tropism. *J Virol.* 2016 Oct 14;90(21):9878-9888. doi: 10.1128/JVI.01568-16. PMID: 27558418; PMCID: PMC5068537.
30. Boye SL, Bennett A, Scalabrino ML, McCullough KT, Van Vliet K, Choudhury S, Ruan Q, Peterson J, Agbandje-McKenna M, Boye SE. Impact of Heparan Sulfate Binding on Transduction of Retina by Recombinant Adeno-Associated Virus Vectors. *J Virol.* 2016 Mar 28;90(8):4215-4231. doi: 10.1128/JVI.00200-16. PMID: 26865709; PMCID: PMC4810560.

31. . Wiley LA, Burnight ER, Kaalberg EE, Jiao C, Riker MJ, Halder JA, Luse MA, Han IC, Russell SR, Sohn EH, Stone EM, Tucker BA, Mullins RF. Assessment of Adeno-Associated Virus Serotype Tropism in Human Retinal Explants. *Hum Gene Ther.* 2018 Apr;29(4):424-436. doi: 10.1089/hum.2017.179. Epub 2018 Feb 23. PMID: 29160116; PMCID: PMC5909113.
32. Han IC, Cheng JL, Burnight ER, Ralston CL, Fick JL, Thomsen GJ, Tovar EF, Russell SR, Sohn EH, Mullins RF, Stone EM, Tucker BA, Wiley LA. Retinal Tropism and Transduction of Adeno-Associated Virus Varies by Serotype and Route of Delivery (Intravitreal, Subretinal, or Suprachoroidal) in Rats. *Hum Gene Ther.* 2020 Dec;31(23-24):1288-1299. doi: 10.1089/hum.2020.043. Epub 2020 Oct 20. PMID: 32948113; PMCID: PMC7757705.
33. Reid CA, Ertel KJ, Lipinski DM. Improvement of Photoreceptor Targeting via Intravitreal Delivery in Mouse and Human Retina Using Combinatory rAAV2 Capsid Mutant Vectors. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017 Dec 1;58(14):6429-6439. doi: 10.1167/iovs.17-22281. PMID: 29260200; PMCID: PMC5736327
34. Cao X, Yung J, Mak H, Leung CKS. Factors governing the transduction efficiency of adeno-associated virus in the retinal ganglion cells following intravitreal injection. *Gene Ther.* 2019 Apr;26(3-4):109-120. doi: 10.1038/s41434-019-0060-0. Epub 2019 Jan 28. PMID: 30692605.
35. Nieuwenhuis B, Laperrousaz E, Tribble JR, Verhaagen J, Fawcett JW, Martin KR, Williams PA, Osborne A. Improving adeno-associated viral (AAV) vector-mediated transgene expression in retinal ganglion cells: comparison of five promoters. *Gene Ther.* 2023 Jun;30(6):503-519. doi: 10.1038/s41434-022-00380-z. Epub 2023 Jan 13. PMID: 36635457; PMCID: PMC10284706.
36. Khabou H, Garita-Hernandez M, Chaffiol A, Reichman S, Jaillard C, Brazhnikova E, Bertin S, Forster V, Desrosiers M, Winckler C, Goureau O, Picaud S, Duebel J, Sahel JA, Dalkara D. Noninvasive gene delivery to foveal cones for vision restoration. *JCI Insight.* 2018 Jan 25;3(2):e96029. doi: 10.1172/jci.insight.96029. PMID: 29367457; PMCID: PMC5821199.
37. Lee SH, Yang JY, Madrakhimov S, Park HY, Park K, Park TK. Adeno-Associated Viral Vector 2 and 9 Transduction Is Enhanced in Streptozotocin-Induced Diabetic Mouse Retina. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2018 Dec 1;13:55-66. doi: 10.1016/j.omtm.2018.11.008. PMID: 30666309; PMCID: PMC6330514.
38. Lee SH, Kim YS, Nah SK, Kim HJ, Park HY, Yang JY, Park K, Park TK. Transduction Patterns of Adeno-associated Viral Vectors in a Laser-Induced Choroidal Neovascularization Mouse Model. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2018 Jan 31;9:90-98. doi: 10.1016/j.omtm.2018.01.008. PMID: 29766021; PMCID: PMC5948198.
39. Cui M, Su Q, Yip M, McGowan J, Punzo C, Gao G, Tai PWL. The AAV2.7m8 capsid packages a higher degree of heterogeneous vector genomes than AAV2. *Gene Ther.* 2024 Sep;31(9-10):489-498. doi: 10.1038/s41434-024-00477-7. Epub 2024 Aug 12. PMID: 39134629; PMCID: PMC11600122.
40. Ramachandran PS, Lee V, Wei Z, Song JY, Casal G, Cronin T, Willett K, Huckfeldt R, Morgan JI, Aleman TS, Maguire AM, Bennett J. Evaluation of Dose and Safety of AAV7m8 and AAV8BP2 in the Non-Human Primate Retina. *Hum Gene Ther.* 2017 Feb;28(2):154-167. doi: 10.1089/hum.2016.111. Epub 2016 Oct 17. PMID: 27750461; PMCID: PMC5312498.
41. Schwartz MK, Likhite S, Vetter TA, Baird MC, McGovern V, Sierra Delgado A, Mendel T, Burghes A, Meyer KC. In-depth comparison of

- Anc80L65 and AAV9 retinal targeting and characterization of cross-reactivity to multiple AAV serotypes in humans. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2023 May 16;30:16-29. doi: 10.1016/j.omtm.2023.05.016. PMID: 37746244; PMCID: PMC10512013.
42. Li Y, Chen Y, Huo N, Jia Z, Huang H, Zhao Z, Wu S, Hou L. Retinal Epithelial Neutralization Assay Optimizes AAV Serotype Selection for Ocular Gene Therapy. *Viruses.* 2025 Jul 15;17(7):988. doi: 10.3390/v17070988. PMID: 40733604; PMCID: PMC12300778.
43. Xi Z, Öztürk BE, Johnson ME, Turunç S, Stauffer WR, Byrne LC. Quantitative single-cell transcriptome-based ranking of engineered AAVs in human retinal explants. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2022 Apr 30;25:476-489. doi: 10.1016/j.omtm.2022.04.014. PMID: 35615708; PMCID: PMC9118357.
44. Fehrman RL, Lipinski DM. The Co-Transduction Conundrum: Improving Dual rAAV Delivery Through Co-Administration of Capsid Serotypes With Complementary Tropism. *Transl Vis Sci Technol.* 2025 Nov 3;14(11):38. doi: 10.1167/tvst.14.11.38. PMID: 41294298; PMCID: PMC12663885.
45. Ganjawala TH, Lu Q, Fenner MD, Abrams GW, Pan ZH. Improved CoChR Variants Restore Visual Acuity and Contrast Sensitivity in a Mouse Model of Blindness under Ambient Light Conditions. *Mol Ther.* 2019 Jun 5;27(6):1195-1205. doi: 10.1016/j.ymthe.2019.04.002. Epub 2019 Apr 9. PMID: 31010741; PMCID: PMC6554551.
46. Too LK, Shen W, Protti DA, Sawatari A, A Black D, Leamey CA, Y Huang J, Lee SR, E Mathai A, Lisowski L, Y Lin J, C Gillies M, Simunovic MP. Optogenetic restoration of high sensitivity vision with bReaChES, a red-shifted channelrhodopsin. *Sci Rep.* 2022 Nov 11;12(1):19312. doi: 10.1038/s41598-022-23572-4. PMID: 36369267; PMCID: PMC9652428.
47. Batabyal S, Kim S, Carlson M, Narcisse D, Tchedre K, Dibas A, Sharif NA, Mohanty S. Multi-Characteristic Opsin Therapy to Functionalize Retina, Attenuate Retinal Degeneration, and Restore Vision in Mouse Models of Retinitis Pigmentosa. *Transl Vis Sci Technol.* 2024 Oct 1;13(10):25. doi: 10.1167/tvst.13.10.25. PMID: 39412768; PMCID: PMC11486081.
48. Wright W, Gajjerman S, Batabyal S, Pradhan S, Bhattacharya S, Mahapatra V, Tripathy A, Mohanty S. Restoring vision in mice with retinal degeneration using multicharacteristic opsin. *Neurophotonics.* 2017 Oct;4(4):041505. doi: 10.1117/1.NPh.4.4.041505. Epub 2017 Aug 18. PMID: 28948190; PMCID: PMC5603575.
49. De Silva SR, Barnard AR, Hughes S, Tam SKE, Martin C, Singh MS, Barnea-Cramer AO, McClements ME, During MJ, Peirson SN, Hankins MW, MacLaren RE. Long-term restoration of visual function in end-stage retinal degeneration using subretinal human melanopsin gene therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017 Oct 17;114(42):11211-11216. doi: 10.1073/pnas.1701589114. Epub 2017 Oct 2. PMID: 28973921; PMCID: PMC5651734.
50. Parnami K, Bhattacharyya A. Current approaches to vision restoration using optogenetic therapy. *Front Cell Neurosci.* 2023 Aug 16;17:1236826. doi: 10.3389/fncel.2023.1236826. PMID: 37663125; PMCID: PMC10469018.
51. Montazeri L, El Zarif N, Trenholm S, Sawan M. Optogenetic Stimulation for Restoring Vision to Patients Suffering From Retinal Degenerative Diseases: Current Strategies and Future Directions. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst.* 2019 Dec;13(6):1792-1807. doi: 10.1109/TBCAS.2019.2951298. Epub 2019 Nov 4. PMID: 31689206.

52. Hughes S, Rodgers J, Lindner M, Peirson SN, Lucas RJ, Hankins MW. Optogenetic vision restoration in the face of secondary and tertiary remodeling in the rd1 mouse retina. *Mol Ther*. 2025 Nov 5;33(11):5840-5859. doi: 10.1016/j.yymthe.2025.07.056. Epub 2025 Aug 5. PMID: 40765143; PMCID: PMC12628169.
53. Kralik J, Kleinlogel S. Functional Availability of ON-Bipolar Cells in the Degenerated Retina: Timing and Longevity of an Optogenetic Gene Therapy. *Int J Mol Sci*. 2021 Oct 26;22(21):11515. doi: 10.3390/ijms222111515. PMID: 34768944; PMCID: PMC8584043.
54. Ameline B, Tshilenge KT, Weber M, Biget M, Libeau L, Caplette R, Mendes-Madeira A, Provost N, Guihal C, Picaud S, Moullier P, Pichard V, Cronin T, Isiegas C. Long-term expression of melanopsin and channelrhodopsin causes no gross alterations in the dystrophic dog retina. *Gene Ther*. 2017 Nov;24(11):735-741. doi: 10.1038/gt.2017.63. Epub 2017 Sep 7. PMID: 28880021.
55. Maguire AM, Russell S, Wellman JA, Chung DC, Yu ZF, Tillman A, Wittes J, Pappas J, Elci O, Marshall KA, McCague S, Reichert H, Davis M, Simonelli F, Leroy BP, Wright JF, High KA, Bennett J. Efficacy, Safety, and Durability of Voretigene Neparvovec-rzyl in RPE65 Mutation-Associated Inherited Retinal Dystrophy: Results of Phase 1 and 3 Trials. *Ophthalmology*. 2019 Sep;126(9):1273-1285. doi: 10.1016/j.ophtha.2019.06.017. Epub 2019 Jun 22. PMID: 31443789.
56. Bennett J, Wellman J, Marshall KA, McCague S, Ashtari M, DiStefano-Pappas J, Elci OU, Chung DC, Sun J, Wright JF, Cross DR, Aravand P, Cyckowski LL, Bennicelli JL, Mingozi F, Auricchio A, Pierce EA, Ruggiero J, Leroy BP, Simonelli F, High KA, Maguire AM. Safety and durability of effect of contralateral-eye administration of AAV2 gene therapy in patients with childhood-onset blindness caused by RPE65 mutations: a follow-on phase 1 trial. *Lancet*. 2016 Aug 13;388(10045):661-72. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30371-3. Epub 2016 Jun 30. PMID: 27375040; PMCID: PMC5351775.
57. Fischer MD, Michalakakis S, Wilhelm B, Zobor D, Muehlfriedel R, Kohl S, Weisschuh N, Ochakovski GA, Klein R, Schoen C, Sothilingam V, Garcia-Garrido M, Kuehlewein L, Kahle N, Werner A, Dauletbekov D, Paquet-Durand F, Tsang S, Martus P, Peters T, Seeliger M, Bartz-Schmidt KU, Ueffing M, Zrenner E, Biel M, Wissinger B. Safety and Vision Outcomes of Subretinal Gene Therapy Targeting Cone Photoreceptors in Achromatopsia: A Nonrandomized Controlled Trial. *JAMA Ophthalmol*. 2020 Jun 1;138(6):643-651. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2020.1032. PMID: 32352493; PMCID: PMC7193523
58. Lam BL, Zak V, Gonzalez VH, Gregori NZ, Chavala SH, Batabyal S, Carlson M, Kim S, Ayyagari A, Chang J, Lane H, Choudry N, Koester J, Von Tress M, Piltz-Seymour J, Sharif NA, Tsang SH, Mahajan VB, Boyer DS, Ho AC, Barone SB, Mohanty SK. Safety and efficacy of MCO-010 optogenetic therapy in patients with Stargardt disease in USA (STARLIGHT): an open-label multi-center Ph2 trial. *EClinicalMedicine*. 2025 Aug 14;87:103430. doi: 10.1016/j.eclinm.2025.103430. PMID: 40838197; PMCID: PMC12362400.
59. Provansal M, Marazova K, Sahel JA, Picaud S. Vision Restoration by Optogenetic Therapy and Developments Toward Sonogenetic Therapy. *Transl Vis Sci Technol*. 2022 Jan 3;11(1):18. doi: 10.1167/tvst.11.1.18. PMID: 35024784; PMCID: PMC8762673.
60. Yan B, Viswanathan S, Brodie SE, Deng WT, Coleman KE, Hauswirth WW, Nirenberg S. *A clinically viable approach to restoring visual function using optogenetic gene therapy*. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2023 May 9;29:406-417. doi:

- 10.1016/j.omtm.2023.05.005. PMID: 37251979; PMCID: PMC10213293
61. Garita-Hernandez M, Guibbal L, Toualbi L, Routet F, Chaffiol A, Winckler C, Harinquet M, Robert C, Fouquet S, Bellow S, Sahel JA, Goureau O, Duebel J, Dalkara D. *Optogenetic Light Sensors in Human Retinal Organoids*. *Front Neurosci*. 2018 Nov 2;12:789. doi: 10.3389/fnins.2018.00789. PMID: 30450028; PMCID: PMC6224345
62. Lam BL, Feuer WJ, Davis JL, Porciatti V, Yu H, Levy RB, Vanner E, Guy J. *Leber Hereditary Optic Neuropathy Gene Therapy: Adverse Events and Visual Acuity Results of All Patient Groups*. *Am J Ophthalmol*. 2022 Sep;241:262–271. doi: 10.1016/j.ajo.2022.02.023. Epub 2022 Mar 7. PMID: 35271811; PMCID: PMC9444871
63. Pennesi ME, Yang P, Birch DG, Weng CY, Moore AT, Iannaccone A, Comander JI, Jayasundera T, Chulay J; XLR5-001 Study Group. *Intravitreal Delivery of rAAV2tYF-CB-hRS1 Vector for Gene Augmentation Therapy in Patients with X-Linked Retinoschisis: 1-Year Clinical Results*. *Ophthalmol Retina*. 2022 Dec;6(12):1130-1144. doi: 10.1016/j.oret.2022.06.013. Epub 2022 Jun 30. PMID: 35781068.
64. Seitz IP, Wozar F, Ochakovski GA, Reichel FF, Korte S, Korbmacher B, Wilhelm B, Süßkind D, Bartz-Schmidt KU, Fischer MD, Peters T; RD Cure Consortium. *Ocular Safety and Toxicology of Subretinal Gene Therapy With rAAV.hpDE6A in Nonhuman Primates*. *Transl Vis Sci Technol*. 2025 Jan 2;14(1):29. doi: 10.1167/tvst.14.1.29. PMID: 39878701; PMCID: PMC11781330.
65. Xiong W, Wu DM, Xue Y, Wang SK, Chung MJ, Ji X, Rana P, Zhao SR, Mai S, Cepko CL. *AAV cis-regulatory sequences are correlated with ocular toxicity*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Mar 19;116(12):5785-5794. doi: 10.1073/pnas.1821000116. Epub 2019 Mar 4. PMID: 30833387; PMCID: PMC6431174.
66. Khabou H, Cordeau C, Pacot L, Fisson S, Dalkara D. *Dosage Thresholds and Influence of Transgene Cassette in Adeno-Associated Virus-Related Toxicity*. *Hum Gene Ther*. 2018 Nov;29(11):1235-1241. doi: 10.1089/hum.2018.144. Epub 2018 Oct 31. PMID: 30132368.
67. Ail D, Ren D, Brazhnikova E, Nouvel-Jaillard C, Bertin S, Mirashrafi SB, Fisson S, Dalkara D. *Systemic and local immune responses to intraocular AAV vector administration in non-human primates*. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2022 Jan 22;24:306-316. doi: 10.1016/j.omtm.2022.01.011. PMID: 35229004; PMCID: PMC8844404.
68. Desrosiers M, Dalkara D. *Neutralizing Antibodies Against Adeno-Associated Virus (AAV): Measurement and Influence on Retinal Gene Delivery*. *Methods Mol Biol*. 2018;1715:225-238. doi: 10.1007/978-1-4939-7522-8_16. PMID: 29188517.
69. Lee S, Kang IK, Kim JH, Jung BK, Park K, Chang H, Lee JY, Lee H. *Relationship Between Neutralizing Antibodies Against Adeno-Associated Virus in the Vitreous and Serum: Effects on Retinal Gene Therapy*. *Transl Vis Sci Technol*. 2019 Apr 9;8(2):14. doi: 10.1167/tvst.8.2.14. PMID: 31016068; PMCID: PMC6467092.
70. Shen W, Liu S, Ou L. *rAAV immunogenicity, toxicity, and durability in 255 clinical trials: A meta-analysis*. *Front Immunol*. 2022 Oct 27;13:1001263. doi: 10.3389/fimmu.2022.1001263. Erratum in: *Front Immunol*. 2023 Jan 18;13:1104646. doi: 10.3389/fimmu.2022.1104646. PMID: 36389770; PMCID: PMC9647052.
71. Ail D, Dalkara D. *Preexisting Neutralizing Antibodies against Different Adeno-Associated*

Virus Serotypes in Humans and Large Animal Models for Gene Therapy. *Adv Exp Med Biol.* 2023;1415:117-123. doi: 10.1007/978-3-031-27681-1_18. PMID: 37440023.

72. Poboży K, Poboży T, Domański P, Derczyński M, Konarski W, Domańska-Poboża J. Evolution of Light-Sensitive Proteins in Optogenetic Approaches for Vision Restoration: A Comprehensive Review. *Biomedicines.* 2025 Feb 10;13(2):429. doi: 10.3390/biomedicines13020429. PMID: 40002842; PMCID: PMC11853388.

73. Stefanov A, Flannery JG. A Systematic Review of Optogenetic Vision Restoration: History, Challenges, and New Inventions from Bench to Bedside. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2023 Jun 1;13(6):a041304. doi: 10.1101/cshperspect.a041304. PMID: 36376079; PMCID: PMC10234433.

74. Purdy R, John M, Bray A, Clare AJ, Copland DA, Chan YK, Henderson RH, Nerinckx F, Leroy BP, Yang P, Pennesi ME, MacLaren RE, Fischer MD, Dick AD, Xue K. Gene Therapy-Associated Uveitis (GTAU): Understanding and mitigating the adverse immune response in retinal gene therapy. *Prog Retin Eye Res.* 2025 May;106:101354. doi: 10.1016/j.preteyeres.2025.101354. Epub 2025 Mar 14. PMID: 40090458.

75. Ren D, Chauveau GA, Cabon E, Vendomèle J, Vignal-Clermont C, Saliba H, Ail D, Dalkara D, Fisson S. Ocular gene therapy mediated by AAV vectors: an overview of immunosuppressive treatments and immunomonitoring of patients involved in clinical trials. *Prog Retin Eye Res.* 2026 Jan 30:101443. doi: 10.1016/j.preteyeres.2026.101443. Epub ahead of print. PMID: 41621744.

76. Chandler LC, Barnard AR, Caddy SL, Patrício MI, McClements ME, Fu H, Rada C, MacLaren RE, Xue K. Enhancement of Adeno-

Associated Virus-Mediated Gene Therapy Using Hydroxychloroquine in Murine and Human Tissues. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2019 Jun 4;14:77-89. doi: 10.1016/j.omtm.2019.05.012. Erratum in: *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2023 Feb 13;28:300. doi: 10.1016/j.omtm.2023.01.001. PMID: 31309129; PMCID: PMC6606965.

77. Mohanty S, Batabyal S, Ayyagari A, Sharif NA. Safety of intravitreally delivered AAV2 vector-mediated multi-characteristic opsin genetic construct in wild type beagle dogs. *J Gene Med.* 2024 Jul;26(7):e3720. doi: 10.1002/jgm.3720. PMID: 39041639.

78. Batabyal S, Gajjeraman S, Pradhan S, Bhattacharya S, Wright W, Mohanty S. Sensitization of ON-bipolar cells with ambient light activatable multi-characteristic opsin rescues vision in mice. *Gene Ther.* 2021 Apr;28(3-4):162-176. doi: 10.1038/s41434-020-00200-2. Epub 2020 Oct 22. PMID: 33087861; PMCID: PMC9191254.