

MONIKA KUJAWA-HADRYŚ
JÓZEF KOBOS

ASPEKTY MOLEKULARNE I GENETYCZNE ROZWOJU OKA



MONIKA KUJAWA-HADRYŚ* 
JÓZEF KOBOS 

ASPEKTY MOLEKULARNE I GENETYCZNE ROZWOJU OKA

MOLECULAR AND GENETIC ASPECTS
OF THE EYE DEVELOPMENT

Zakład Histologii i Embriologii Katedry Biostruktury, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

* e-mail: monika.kujawa-hadrys@umed.lodz.pl



Seria monografii naukowych dotyczących zagadnień z zakresu dyscyplin nauk farmaceutycznych, nauk medycznych i nauk o zdrowiu.

Wydawnictwo recenzowane i punktowane na zasadach zgodnych z Rozporządzeniem MNiSW z dnia 22 lutego 2019 r. w sprawie ewaluacji jakości działalności naukowej (Dz.U. 2019 poz. 392 z późn. zm.).

RADA NAUKOWA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni – Redaktor naczelna
prof. dr hab. Monika Łukomska-Szymańska – Zastępca redaktor naczelnej
prof. dr hab. Iwona Cygankiewicz
dr hab. Małgorzata Pikala, prof. uczelni

REDAKTOR PROWADZĄCA

dr hab. Monika A. Olszewska, prof. uczelni

KOREKTA

Magdalena Kokosińska, Anna Sikorska

OPRACOWANIE GRAFICZNE

Tomasz Przybył

ASPEKTY MOLEKULARNE I GENETYCZNE ROZWOJU OKA

Łódź 2021

WYDAWNICTWO UNIwersYTETU MEDYCZNEGO W ŁODZI

<http://wydawnictwo.umed.pl/>

[e-mail: editorial@reports.umed.pl](mailto:editorial@reports.umed.pl)

Unikatowy identyfikator Wydawnictwa: 60000

(Komunikat Ministra Edukacji i Nauki z dnia 22 lipca 2021 r. w sprawie wykazu wydawnictw publikujących recenzowane monografie naukowe)

ISBN

978-83-961774-7-6

WYDANIE PIERWSZE



© 2021. Pewne prawa zastrzeżone na rzecz autorów. Opublikowane na licencji Creative Commons Uznanie Autorstwa (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.pl>).

Licencjobiorca: Wydawnictwo Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Zezwala się na wykorzystanie treści monografii zgodnie z licencją – pod warunkiem zachowania niniejszej informacji licencyjnej oraz wskazania autorów jako właścicieli praw do tekstu.

Streszczenie: Oko jest bardzo złożonym narządem powstałym z wielu elementów: ściany przodomózgowia, ektodermy powierzchniowej okolicy głowowej oraz mezodermy pochodzącej głównie z grzebieni nerwowych. W rozwoju oka można wyodrębnić dwa ważne procesy. Pierwszy z nich jest związany z serią indukcyjnych sygnałów prowadzących do powstania większości struktur oka. Drugi proces polega na skoordynowanym różnicowaniu tych struktur.

Rozwój oka można zatem podzielić na trzy fazy. Pierwsza faza to tworzenie głównych struktur oka w procesie indukcji i różnicowania. Druga to dojrzewanie tych struktur, a trzecia faza to tworzenie połączeń neuronalnych między siatkówką a nerwem wzrokowym. Procesy te są ściśle regulowane przez kaskady sygnalizacyjne, które kierują wzrostem, proliferacją i różnicowaniem poszczególnych komórek. W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań, dzięki którym zidentyfikowano licznych przedstawicieli tych kaskad sygnalizacyjnych. Należą do nich substancje, które przekazują sygnały zewnątrzkomórkowo, oraz receptory i czynniki transkrypcyjne, które wchodzi w skład wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, odpowiadających na sygnały zewnątrzkomórkowe. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano, że wzajemna złożona sieć zależności między sygnałami indukcyjnymi jest kluczowa w zapewnianiu właściwego różnicowania poszczególnych tkanek oka. Wspomniana sieć zależności jest modelowana przez interakcje tkanka–tkanka, regulowane przez czynniki zewnątrz- i wewnątrzkomórkowe. Zakłócenia w przebiegu procesów indukcji, proliferacji, migracji i różnicowania tkanek podczas embrionalnego rozwoju oka mogą prowadzić do wielu jego chorób, które często skutkują częściową lub całkowitą utratą widzenia. Zakłócenia na wczesnym etapie rozwoju embrionalnego prowadzą do ciężkich anomalii strukturalnych, dotyczących jednocześnie wiele tkanek oka. Defekty wyspecjalizowanych tkanek/komórek na dalszych etapach embriogenezy częściej prowadzą z kolei do izolowanego fenotypu ocznego. Genetyczna regulacja etapów rozwoju oka obejmuje zarówno czynniki zewnętrzne (takie jak morfogeny, czynniki wzrostu), jak i wewnętrzne (głównie czynniki transkrypcyjne). Tym samym wnikliwa analiza embriologii oka pozwala na lepsze zrozumienie patogenezy wrodzonych defektów jego wyspecjalizowanych struktur, a wyselekcjonowanie mutacji genowych modelujących kolejne etapy tej embriogenezy daje możliwość przyszłej terapii genowej warunkowanych przez nie defektów. **Cel pracy.** W pracy zebrano najważniejsze, aktualne informacje na temat aspektów genetycznych i molekularnych w rozwoju oka. Uwzględniono również wady wrodzone związane z najczęstszymi mutacjami genów, których ekspresja odpowiada za prawidłowy przebieg tego procesu. **Wnioski.** Na rozwój oka składa się szereg etapów, w tym różnicowanie przedniej płytki nerwowej, wyodrębnienie pęcherzyków wzrokowych z przodomózgowia oraz powstawanie komórek soczewki i siatkówki. Kluczową rolę w tym procesie odgrywają geny zawierające homeobox, zwłaszcza regulator transkrypcji Pax6. Mutacje ekspresji Pax6 powodują wady rozwojowe oczu znane jako aniridia i mikroftalmia. Poza tym w embriogenezę oka zaangażowanych jest wiele czynników transkrypcyjnych. Ich ekspresja zmienia się w zależności od miejsca i etapu organogenezy. Dochodzi do szeregu indukcji embrionalnych zarówno w początkowych etapach rozwoju, jak i na poziomie dojrzewania poszczególnych struktur.

Identyfikacja czynników transkrypcyjnych koniecznych do rozwoju oka pozwala na zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw morfogenezy i różnicowania poszczególnych struktur narządu wzroku oraz molekularnych podstaw zaburzeń dziedzicznych.

Poznanie mutacji genowych poszczególnych struktur narządu wzroku, skutkujących defektami oka, umożliwia nie tylko lepsze zrozumienie morfogenezy systemu omawianego narządu, ale również pozwala wyjaśnić patogenezę wrodzonych zaburzeń struktur oka. Ponadto zrozumienie przebiegu prawidłowej embriogenezy może pomóc w kontroli choroby i wyborze opcji terapii. Duże nadzieje pokładane są również w leczeniu z wykorzystaniem komórek macierzystych. Chociaż duża część oddziaływań indukcyjnych w embriogenezie narządu wzroku została już zbadana, dokładne poznanie wszystkich mechanizmów w nią zaangażowanych będzie wymagało jeszcze wielu studiów.

Słowa kluczowe: rozwój oka, białko Sox, krystaliny, Geny PAX, SHH, N-kadheryny, Czynniki Maf, TNF, embriogeneza oka, rozwój soczewki, rozwój siatkówki, rozwój rogówki

Abstract: The eye is a very complex organ composed of many elements, i.e., the forebrain wall, the neural crest and mesoderm derived mainly from nerve combs. The development of the eye includes two important processes. The first one is related to a series of inductive signals leading to the formation of the eye structures. The second process involves differentiation of these structures in a coordinated manner.

The development of the eye can therefore be divided into three phases. The first phase is the formation of the main structures of the eye in the process of induction and differentiation. The second one is the maturation of these structures, and the third phase involves the formation of neural connections between the retina and the optic nerve. These processes are strictly regulated by signalling cascades that guide axon growth, proliferation and differentiation of individual cells. In the recent years, a number of studies have been carried out to identify numerous representatives of these signalling cascades. They include substances that transmit signals extracellularly, as well as receptors and transcription factors which are a part of intracellular signalling pathways that respond to extracellular signals.

In studies using animal models, it has been shown that an interdependent complex network of relationships between inductive signals is crucial in ensuring the proper differentiation of individual eye tissues. This network of relationships is modelled by tissue-tissue interactions, regulated by extracellular and intracellular factors. Disruptions in the induction, proliferation, migration and differentiation processes of tissues during embryonic development of the eye can lead to many eye diseases, often resulting in partial or complete loss of vision. Disturbances in the early stages of embryonic development lead to severe structural anomalies affecting many tissues of the eye at the same time. Defects in specialized tissues / cells in the later stages of embryogenesis more often lead to an isolated ocular phenotype. Genetic regulation of the developmental stages of the eye includes both external factors (such as morphogens, growth factors) and internal factors (mainly transcription factors). Thus, an in-depth analysis of the embryology of the eye allows for a better understanding of the pathogenesis of congenital defects of its specialized structures, and the selection of gene mutations modelling subsequent stages of this embryogenesis allows for future gene therapy of the defects conditioned by them.

Purpose of work. This work presents the most important information on genetic and molecular aspects of the eye development. Birth defects associated with the most common gene mutations, the expression of which is responsible for the proper course of this process, were also considered.

Applications. The process of the eye development is composed of a number of stages, including differentiation of the anterior nervous plate, separation of visual vesicles from the forebrain in the front of the body and the formation of lens and retinal cells. Genes containing homeobox, especially the Pax6 transcription regulator, play a key role in this process. Pax6 expression mutations cause eye malformations known as aniridia and microphthalmia. Additionally, many transcription factors are involved in eye embryogenesis. Their expression varies depending on the place and stage of organogenesis. There is a number of embryonic inductions, both at the initial stages of development and at the level of maturation of individual structures.

The identification of transcription factors necessary for eye development makes it possible to understand the mechanisms underlying morphogenesis and differentiation of the individual structures of the organ of vision and the molecular basis of hereditary disorders.

Identifying the gene mutations of the eye's individual structures, which lead to its defects, provides a better comprehension of not only its morphogenesis, but also the pathogenesis of congenital disorders of eye structures. Moreover, understanding the course of normal embryogenesis may also help in disease control and a choice of therapy options. There are also growing hopes for stem cell treatment.

Although a large part of the inductive interactions in the embryogenesis of the organ of sight has been studied, a thorough understanding of all the mechanisms involved in it will require a lot of research.

Keywords: eye development, Sox protein, crystallin, PAX genes, SHH, N-cadherin, Maf factor, retina development, lens development, cornea development

Spis treści

1. Rozwój oka	7
2. Aspekty genetyczne i molekularne rozwoju soczewki	8
2.1 Embriogeneza soczewki	8
2.2. Aspekty genetyczne i molekularne rozwoju soczewki	10
2.2.1 Geny PAX	10
2.2.2 Białka hedgehog	12
2.2.3 Współdziałanie PAX6 i SOX2	12
2.2.4 Czynniki wzrostu w rozwoju soczewki	13
2.2.5 Czynniki Maf	15
2.2.6 Rola RTK w regulacji prawidłowego wzrostu komórek nabłonka soczewki	16
2.2.7 Sygnalizacja komórkowa Jag1-Notch	16
2.2.8 Inne czynniki różnicowania włókien soczewki	16
3. Aspekty genetyczne i molekularne rozwoju rogówki	17
4. Aspekty genetyczne i molekularne rozwoju siatkówki	21
5. Najczęstsze wady rozwojowe narządu wzroku	23
6. Wnioski	26
Bibliografia	27

1. Rozwój oka

Oko jest bardzo złożonym narządem powstałym z wielu elementów: ściany przodomózgowia, ektodermy powierzchniowej okolicy głowowej oraz mezodermy, pochodzącej głównie z grzebieni nerwowych. W rozwoju oka można wyodrębnić dwa ważne procesy. Pierwszy z nich jest związany z serią indukcyjnych sygnałów prowadzących do powstania większości struktur oka. Drugi proces polega na skoordynowanym różnicowaniu tych struktur.

Do prawidłowego odbioru wrażeń wzrokowych konieczne jest wzajemne oddziaływanie sąsiadujących ze sobą elementów oka. I tak na przykład niezbędna jest całkowita przezierność oraz odpowiednie ułożenie zarówno soczewki, jak i rogówki w taki sposób, aby promienie świetlne mogły bez przeszkód docierać do siatkówki. Siatkówka musi być natomiast odpowiednio ukształtowana, aby zarówno odbierać konkretne bodźce świetlne, jak również przesyłać je poprzez nerw wzrokowy do właściwych części mózgowia (Nizankowska, 2010; Bartel, 2017; Carlson, 2018).

Rozwój oka u człowieka rozpoczyna się w 22 dniu od zapłodnienia. Na początkowym etapie w bocznej ścianie przodomózgowia pojawia się wybrzuszenie zwane bruzdą oczną (*sulcus opticus*), która w ciągu kilku dni rozciąga się i przechodzi w pęcherzyk oczny (*vesicula optica*). W miarę rozwoju oka powierzchnia zewnętrzna pęcherzyka ocznego zaczyna się spłaszczać, a następnie staje się wklęsła. Powoduje to przekształcenie się pęcherzyka ocznego w kubek oczny (*copula optica*). W tym samym czasie indukowana ektoderma powierzchniowa ulega pogrubieniu i powstaje płytka soczewki, która następnie wgłębia się i tworzy pęcherzyk soczewki (*vesicula lentis*). Pęcherzyk ten oddziela się od powierzchni nabłonka, z którego się wywodzi. Jednowarstwowy nabłonek sześcienny przedniej powierzchni soczewki przekształca się w nabłonek przedni soczewki, zaś nabłonek cylindryczny części tylnej różnicuje się we włókna, które wypełniają jamę soczewki. Z błony podstawnej, otaczającej pęcherzyk soczewki, powstaje torebka soczewki. Z zewnętrznej warstwy kubka wzrokowego rozwija się nabłonek barwnikowy siatkówki. Różnicowanie blaszki wewnętrznej kubka wzrokowego jest znacznie bardziej skomplikowane. Tylne $\frac{4}{5}$ blaszki wewnętrznej tworzy część wzrokową siatkówki, zawierającą komórki, które różnicują się następnie w fotoreceptory, a także neurony i komórki podporowe, tworzące z kolei w dojrzałej siatkówce warstwę ziarnistą zewnętrzną, warstwę ziarnistą wewnętrzną i warstwę komórek zwojowych. Przednia $\frac{1}{5}$ blaszki wewnętrznej przekształca się natomiast w część ślepą siatkówki (część rzęskowa i część tęczęwkowa siatkówki). Z przedniej części kubka ocznego rozwija się tęczęwka (zewnętrzna i wewnętrzna warstwa barwnikowa). Pochodzenie mięśni zwieracza i rozwieracza źrenicy, zlokalizowanych w środkowej warstwie zrębowej tęczęwki, nie jest do końca wyjaśnione. Mięsień zwieracz źrenicy prawdopodobnie wywodzi się z grzebieni nerwowych, zaś mięsień rozwieracz źrenicy – z neuroektodermy bądź mezodermy. Z ektomezenchymy, która rozwija się z grzebieni nerwowych, powstają również pozostałe elementy łącznotkankowe i komórki barwnikowe tęczęwki (Sadler, 2018).

Formowanie się kubka ocznego jest procesem asymetrycznym, bardziej nasilonym w części brzusznej niż w centrum pęcherzyka ocznego. Powoduje to powstanie szczeliny zwanej szczeliną oczną (*fissura optica*), tworzącej bruzdę w szypule ocznej. W okresie wczesnego rozwoju oka szczelina oczna tworzy kanał, przez który przechodzi do komory tylnej tętnica ciała szklonego (*artery hyaloidea*) (Azzam i Bordoni, 2020).

Jama kubka ocznego wypełnia się cieczą wodnistą powstałą z mezenchymy. Z komórek mezenchymalnych, pochodzących z grzebieni nerwowych otaczających zawiązek oka, rozwija się błona naczyniowa i twardówka. Komórki te także przeobrażają się w komórki śródbłonka rogówki i fibroblasty istoty właściwej rogówki. Nabłonek tylny rogówki jest natomiast pochodzenia ektodermalnego (Eghrari i in., 2015).

Szypuła oczna, w początkowym okresie rozwoju, jest wąską strukturą łączącą kubek oczny z międzymózgowiem. Składa się ona z warstw zewnętrznej i wewnętrznej oddzielonych przestrzenią. W miarę rozwoju oka przestrzeń ta pozostaje pod wpływem oddziaływania ze strony komórek zwojowych siatkówki. Ponadto komórki zlokalizowane w szypule ocznej dostarczają sygnałów niezbędnych do tworzenia aksonów w siatkówce. W miarę zwiększania się liczby włókien nerwowych warstwa wewnętrzna grubieje i łączy się z warstwą zewnętrzną. Od tego momentu

szypuła oczna jest nazywana nerwem wzrokowym. W późniejszym okresie rozwoju szczelina oczna zamyka się i nie jest widoczna w prawidłowo ukształtowanej tęczówce. Niezamknięcie szczeliny ocznej prowadzi do powstania częściowego ubytku jednej ze struktur oka, na przykład siatkówki, tęczówki, powieki górnej lub bardzo rzadko powieki dolnej (*coloboma*) (Vegunta i Patel, 2020).

2. Aspekty genetyczne i molekularne rozwoju soczewki

2.1 Embriogeneza soczewki

Soczewka jest specyficznym narządem, nieposiadającym naczyń krwionośnych ani zakończeń nerwowych. Dodatkowo składa się z jednego typu komórek, które przybierają różne formy w trakcie swojego rozwoju. Pochodzą one z jednej wspólnej komórki – komórki prekursorowej soczewki. Komórki soczewki są pochodzenia ektodermalnego i ostatecznie przekształcają się albo we włókna soczewki, które stanowią większość masy soczewki, albo w nabłonek soczewki, złożony z pojedynczej warstwy komórek sześciennych pokrywających przednią powierzchnię soczewki.

Morfogeneza soczewki rozpoczyna się zgrubieniem ektodermy na powierzchni głowowej i wytworzeniem plakody soczewki. Składa się ona z walcowatych komórek progenitorowych. Wgłobienie tych komórek powoduje przekształcenie się plakody w pęcherzyk soczewki. Przednie komórki pęcherzyka soczewki zmieniają się w nabłonek soczewki, tylne zaś wydłużają się i wytwarzają pierwotne włókna soczewki, które z kolei tworzą zarodkowe jądro soczewki. Proliferacja komórek nabłonka tylnego prowadzi do powstawania nowych komórek, które po wyjściu z cyklu komórkowego wytwarzają wtórne włókna soczewki, układające się na zewnątrz jądra zarodkowego. Przyczyniają się one do wzrostu soczewki przez całe życie (Bartel, 2017; Carlson, 2018).

Na rozwój soczewki na poziomie komórkowym wpływają liczne procesy indukcyjne, zaś na poziomie molekularnym – wzajemne oddziaływanie lokalnych czynników transkrypcyjnych wiążących DNA, wspomaganym przez szereg enzymów wpływających na strukturę chromatyny (Cvekl i Mitton, 2010).

Gdy weźmiemy pod uwagę poziomy komórkowy i molekularny, morfogenezę soczewki możemy podzielić na co najmniej cztery ogólne fazy. W fazie początkowej multipotencjalne komórki łożyskowe przekształcają się w nowy typ komórek, które następnie są indukowane do tworzenia plakody soczewki przez zależną od Pax6/Six3 sieć regulatorową genów (GRN). W indukcji tej biorą udział sygnały molekularne pochodzące z przyszłej siatkówki, autokrynne sygnały w postaci białka morfogenetycznego kości (BMP), sygnalizacja parakrynowa kwasem retinowym (RA) i hamowanie sygnalizacji Wnt w obrębie ektodermy okolicy głowowej, która w późniejszym czasie przekształci się w plakodę soczewki. W drugiej fazie wydłużone komórki plakody soczewki zagłębiają się i tworzą pęcherzyk soczewki będący początkową strukturą trójwymiarową soczewki. Trzeci etap tworzenia soczewki obejmuje zainicjowanie różnicowania się komórek pierwotnego włókna soczewki przez ściśle kontrolowane wyjście z cyklu komórkowego, regulowane przez BMP, czynnik wzrostu fibroblastów (FGF) i sygnalizację Notch, a także różnicowanie się komórek nabłonka soczewki. Czwarta i zarazem ostatnia faza jest związana z tworzeniem przestrzennej struktury pozwalającej pełnić soczewce rolę ośrodka optycznego. W tym czasie osiąga ona odpowiednią sztywność mechaniczną, wymaganą do skupienia promieni świetlnych i akomodacji. Modyfikacji podlega również cytoskielet włókien. Ponadto przy użyciu aparatu proteolitycznego dochodzi do degradacji organelli komórkowych, co również wpływa na przezierność soczewki (Cvekl i Ashery-Padan, 2014).

Tworzenie soczewki podczas rozwoju oka kręgowców jest klasycznym przykładem indukcji embrionalnej. W przekaznictwie sygnału indukcyjnego biorą udział czynniki transkrypcyjne. Są to białka niepodlegające sekrecji, regulujące aktywność poszczególnych genów. Ich synteza zachodzi pod wpływem czynników sekrecyjnych. Czynniki transkrypcyjne wiążą się z sekwencją promotorową DNA docelowego genu i wywołują jego ekspresję. Zostaje wytworzony odpowiedni mRNA

(ang. *messenger RNA*), na którego matrycy może być syntezowane odpowiednie białko (Lambert i Jolma i in., 2018).

Jednym z pierwszych rozpoznanych procesów indukcyjnych była interakcja pomiędzy pęcherzykiem ocznym a ektodermą powierzchniową okolicy głowowej. Początkowo badania dotyczące indukcji embrionalnej przeprowadzono na zarodkach płazów. Wykazano w nich, iż usunięcie pęcherzyka ocznego z ektodermy powierzchniowej skutkuje zaburzeniami różnicowania włókien soczewki. Natomiast sąsiedztwo pęcherzyka ocznego z ektodermą powierzchniową powoduje tworzenie tych struktur (Lang, 2004). Kolejnym przykładem indukcji zarodkowej jest oddziaływanie plakody wzrokowej (ocznej) i pęcherzyka ocznego. Plakoda wzrokowa jest miejscowym zgrubieniem ektodermy przylegającej do wybrzuszeń części głowowej cewy nerwowej. Nabłonek ektodermalny w obrębie plakody pod wpływem sygnałów indukcyjnych przekształca się w neuroektodermę, a następnie w komórki zmysłowe, komórki podporowe czy mezenchymatyczne. Brak kontaktu między plakodą wzrokową a pęcherzykiem ocznym powoduje zaburzenia różnicowania się ściany kubka ocznego, co prowadzi do nieprawidłowego rozwoju siatkówki. Innym przykładem indukcji embrionalnej jest oddziaływanie pęcherzyka soczewki na ektodermę powierzchniową, co przyczynia się do powstania rogówki (Jura i Klag, 2005).

Różnicowanie soczewki jest procesem bardzo precyzyjnym, w który zaangażowanych jest kilka poziomów organizacji. Na poziomie tkankowym soczewka jako całość żywo reaguje na sygnały ze strony siatkówki oraz innych struktur oka, dlatego też jej kształt oraz całkowita organizacja muszą być jak najlepiej dostosowane do transmisji promieni świetlnych z rogówki do wrażliwych na światło komórek siatkówki. Na poziomie komórkowym komórki nabłonka soczewki pod wpływem białka Sox i innych białek związanych z onkogenem zwanym Maf przechodzą głęboką transformację w przężerne, wydłużone włókna zawierające dużą ilość wyspecjalizowanych protein zwanych krystalinami. Formowanie włókien soczewki rozpoczyna się wraz z wydłużaniem komórek nabłonka tylnego bieguna pęcherzyka soczewki. Komórki te stanowią pierwotne włókna tworzące jądro zarodkowe soczewki. Pozostała część włókien soczewki powstaje przez transformacje sześciennych komórek nabłonka przedniego. Podczas życia zarodkowego aktywność mitotyczna dotyczy całego przedniego nabłonka soczewki. W okresie okołoporodowym dochodzi do zatrzymania aktywności mitotycznej w centralnej części nabłonka. Pozostaje natomiast pierścień rozrodczy złożony z aktywnych mitotycznie komórek, zlokalizowany wokół obszaru centralnego. Komórki potomne z regionu rozrodczego przemieszczają się do regionu równikowego, gdzie zaprzestają podziałów. Dochodzi w nich natomiast do ekspresji mRNA dla krystalin. Następnie komórki znacznie się wydłużają, rozpoczynają produkcję krystalin i przekształcają się we wtórne włókna, które tworzą koncentryczną warstwę w okolicy pierwotnych włókien jądra zarodkowego soczewki. W ten sposób powstaje jądro płodowe soczewki. Środkowy region, gdzie łączą się wtórne włókna z przeciwległych punktów równika, jest nazywany przednim i tylnym szwem soczewki. Przez cały okres rozwoju soczewki nowe włókna wtórne przemieszczają się z równika do zewnętrznej części kory soczewki. Proces ten jest kontynuowany również po urodzeniu. Z nabłonka obszaru równikowego nadal rozwijają się włókna, które nakładają się koncentrycznie na siebie i sięgają od przedniego do tylnego bieguna – tworzą w ten sposób nowe szwy układające się w gwiazdziste figury. Przyrost ten, skierowany dośrodkowo, powoduje stałe ścieśnianie się warstw centralnych soczewki, w której tworzy się po trzeciej dekadzie życia jądro dojrzałe soczewki (Bartel, 2017; Carlson, 2018; Niżankowska, 2010).

Soczewki ssaków zawierają trzy główne krystaliny: α , β i γ . Stanowią one około 90% rozpuszczalnych białek włókien. Krystaliny wypełniające włókna soczewki mają charakterystyczny wzór i sekwencje występowania. Jako pierwsze pojawiają się w morfologicznie niezróżnicowanych komórkach nabłonka krystaliny α . Synteza krystalin β rozpoczyna się wraz z początkiem wydłużania komórek nabłonka, podczas gdy ekspresja krystalin γ jest ograniczona do końcowo zróżnicowanych włókien soczewki.

W okresie zarodkowym soczewka podlega wpływowi sygnałów pochodzących ze strony siatkówki. Czynniki produkowane przez siatkówkę, z których najważniejszy jest FGF (czynnik wzrostu fibroblastów), gromadzone są w ciele szklistym i stymulują tworzenie włókien. Sygnałami wpływającymi na biegunowość soczewki, proliferację nabłonka i różnicowanie włókien są również

różnice zawartości czynników wzrostu pomiędzy cieczą wodnistą a ciałem szklistym. Innym przykładem wpływu siatkówki na morfologię soczewki jest rotacja zewnętrznego bieguna soczewki w stronę siatkówki. Pod wpływem czynników wytwarzanych przez siatkówkę niskie komórki nabłonka, dawnego zewnętrznego bieguna, zaczynają się wydłużać i tworzą dodatkowe włókna soczewki. Na rogówkowej powierzchni zrotowanej soczewki powstają nowe komórki nabłonka. Takie strukturalne adaptacje są przekonującymi dowodami mechanizmów zapewniających właściwe ustawienie soczewki względem pozostałej części układu wzrokowego przez cały jego rozwój (Carlson, 2018).

2.2. Aspekty genetyczne i molekularne rozwoju soczewki

2.2.1 Geny PAX

Badania dotyczące charakterystyki i roli genów w rozwoju embrionalnym trwają już od kilkudziesięciu lat. Wczesne eksperymenty wykazały, że rodziny genów regulatorowych, takie jak rodzina PAX, są zaangażowane w sekwencyjną kompartmentalizację i modelowanie rozwijających się organizmów. Kolejne badania podkreśliły rolę tych genów we wczesnym określaniu losu komórki oraz w późniejszej morfogenezie różnych tkanek i narządów. Następne doświadczenia dotyczące mutacji genów PAX potwierdziły ich znaczenie w procesie inicjacji i progresji rozwoju, a także w stanach chorobowych. Eksperymenty na zwierzętach, a także badania genetyczne człowieka, ujawniły ważną rolę rodziny genów PAX w rozwoju różnych narządów i tkanek, w tym grasicy (PAX1 i PAX7), kręgowców (PAX1), ucha (PAX2 i PAX8), nerki (PAX2), ośrodkowego układu nerwowego (OUN; PAX2, PAX5, PAX8, PAX6, PAX3 i PAX7), naczyń krwionośnych serca, melanocytów, komórek Schwanna (PAX3 i PAX7), trzustki (PAX4 i PAX6), limfocytów B (PAX5), oka (PAX6), mięśni szkieletowych (PAX3 i PAX7), tarczycy (PAX8) i zębów (PAX 7 i PAX9) (Barr i in., 1996; Eccles i Schimmenti, 1999; Epstein, 1996; Hoth i in., 1993; Lang i in., 2000; Lechtenberg i Ferretti, 1981; Macchia i in., 1998; Nutt i Busslinger, 1999; Quintana-Urzaínqui i in., 2014; St-Onge i in., 1997; Tassabehji i in., 1992; Wallin i in., 1996; Lang i in., 2000; Quintana-Urzaínqui i in., 2014).

Geny PAX odgrywają ważną rolę w tworzeniu OUN. Uważa się, że krzyżowe pętle sprzężenia zwrotnego utrzymują i stabilizują rozwijające się regiony mózgu i rdzenia kręgowego. Nieprawidłowa zaś ekspresja genu PAX prowadzi do zaburzeń neuronalnych.

PAX6 nie tylko reguluje rozwój OUN i bierze udział w patogenezie chorób OUN, ale także odgrywa ważną rolę w utrzymaniu homeostazy neuronów mózgu u dorosłych, zaś jego mutacje mogą wpływać na zwiększenie podatności na neurodegenerację.

Ekspresja genów PAX6 pojawia się już w drugim tygodniu po zapłodnieniu człowieka, kiedy to rozpoczyna się tworzenie OUN z neuroektodermy (NE). Istnieją dowody na to, że PAX6 jest niezbędny do różnicowania NE z embrionalnych komórek macierzystych. W procesie tym odgrywają również rolę inne geny na przykład Oct4, Nanog i Myc, Lhx2 (białko homeobox LIM 2), Six3 (homeoboks powiązany z sinusoidą 3), Fgf8 (czynnik wzrostu fibroblastów 8) i Wnt5b (Zhang i in., 2010)

Również tworzenie soczewki od najwcześniejszych stadiów jej rozwoju jest zależne od genetycznych instrukcji dostarczanych przez PAX (Kozmik i in., 2003). Najlepiej poznanym przedstawicielem rodziny genów PAX jest PAX6. Istotną rolę w procesie indukcji soczewki u ssaków odgrywa ekspresja genu PAX6 (ang. *paired box gene*). W początkowej fazie indukcji plakody wzrokowej ekspresja genu PAX6 ma miejsce w jej zawiązku, następnie w samej plakodzie wzrokowej. Ta druga faza ekspresji zachodzi pod wpływem aktywności białka PAX6 syntetyzowanego w pierwszej fazie indukcji plakody. W procesie tym bierze udział białko BMP-7 (ang. *bone morphogenetic protein*, morfogenetyczne białko kości) i białko receptorowe FGFR (ang. *fibroblast growth factor receptor*, receptor dla czynnika wzrostu fibroblastów), które podtrzymują ekspresję białka PAX6 w drugiej fazie indukcji. Gen PAX6 indukuje ekspresję genu FoxE-3, którego produkt wpływa na proliferację komórek pęcherzyka soczewki, jego zamykanie i oddzielenie od ektodermy głowowej (Antosova i in., 2016). Ponadto zróżnicowanie ekspresji genów

PAX decyduje o tym, z których komórek powstanie kubek oczny (przyszła siatkówka), a z których szypuła oczna (przyszły nerw wzrokowy). Dzięki ekspozycji na wysokie stężenie białek SHH (ang. *sonic hedgehog*) dochodzi do hamowania ekspresji genów PAX6 i indukcji ekspresji genów PAX2 w szypule ocznej. Niskie stężenie białka SHH pozwala natomiast na ekspresję PAX6 w pęcherzyku ocznym, co prowadzi do powstania siatkówki (Cavodeassi i in., 2019).

U *Drosophila* geny Pax6 są nazywane *master gene*, ponieważ włączają kaskadę około 2500 genów, co prowadzi tym samym do rozwoju oka. Obecna identyfikacja u człowieka dwóch genów – EYA (*eyes absent*) i SIX (*sine oculis*), które są aktywowane u *Drosophila* przez Pax6, wyraźnie sugeruje, że pomimo dużych różnic w strukturze oraz rozwoju oczu kręgowców i owadów podstawowy aparat genetyczny jest podobny. U myszy dochodzi do ekspresji genów Eya-1 i Eya-2 w plakodzie soczewki, co jest konieczne do jej indukcji i wczesnego różnicowania. W przypadku braku ekspresji Pax6, geny Eya-1 i Eya-2 nie są aktywowane i rozwój oka nie może być kontynuowany (Tadjuidje i Hegde, 2013).

Dziewięć dotychczas poznanych ludzkich genów PAX zostało podzielonych na 5 filogenetycznych grup:

1. PAX1 i PAX9,
2. PAX3 i PAX7,
3. PAX4 i PAX6,
4. PAX2, PAX5, PAX8,
5. PAXA i *Drosophila* Pax-neuro (Paixão-Côrtes i Salzano i in., 2013).

PAX6 posiada dwie izoformy: PAX6 i PAX6(5a) (Sasamoto i in., 2016). Stosunek pomiędzy ekspresją obu izoform zmienia się w bardzo wąskich zakresach. PAX6(5a) była pierwszą opisaną izoformą. Na podstawie wyników badań ustalono, iż jej nadmierna ekspresja powoduje powstanie zaćmy (Cuevas-Covarrubias, 2017). Poza tym PAX6(5a) ujemnie reguluje liczbę cząsteczek przylegania komórkowego (Cunha i in., 2019), u kurcząt natomiast indukuje hiperplazję części nerwowej siatkówki (Azuma i in., 2019).

W badaniach na zwierzętach dowiedziono, że za większość ekspresji Pax6 odpowiedzialne są dwa geny promotorowe, znane u myszy jako P0 i P1. Ich odpowiednikami u ludzi są geny promotorowe PA i PB. Doświadczalnie dowiedziono, iż nienaruszone locus PAX6 jest przedmiotem pozytywnej autoregulacji, która jest mechanizmem zapewniającym stabilizację względnego poziomu większości izoform PAX6. PAX6 wpływa na wiele aspektów rozwoju oczu i mózgu, w tym na proliferację komórek progenitorowych i różnicowanie neuronalne (Chauhan i in., 2004). W siatkówce natomiast zaburzenie ekspresji Pax6 przyspiesza neuronalne różnicowanie. Wystąpienie dodatkowych oczu u myszy jest powodowane przez ekotopową ekspresję genu *eyeless*, homologu Pax6 u *Drosophila* (Baker i in., 2018).

Zmiana roli izoform PAX6 z wiekiem i/lub różnice pomiędzy ich funkcją w różnych tkankach może być spowodowana, przynajmniej w części, przesunięciem względnym w koncentracji izoform PAX6 i PAX6(5a). Regulacja względnego poziomu tych dwóch izoform jest bardzo ważna dla prawidłowego przebiegu rozwoju (Ninkovic i in., 2013). Rola, jaką odgrywają białka z rodziny PAX w etiopatogenezie chorób wrodzonych i nowotworach, jest dobrze poznana. Niemniej wiele aspektów związanych z ich wpływem na utrzymanie zdrowia człowieka wciąż pozostaje nieznanymi.

Istotnej roli genów Pax w rozwoju towarzyszy także ich znaczenie w regeneracji tkanek dojrzałych oraz konsekwencje ich mutacji, nadekspresji, ponownej ekspresji lub trwałej ekspresji w powiązaniu ze zmianami patologicznymi. Komórki, w których doszło do mutacji w obrębie genów PAX, przechodzą na nieprawidłowe szlaki sygnalizacyjne i transkrypcyjne prowadzące do niekontrolowanego podziału komórkowego. Ekspresja genów Pax w dojrzałym organizmie jest nadal obecna, co wpływa na regulację specyfikacji linii komórkowych. Jednak mechanizmy działania Pax w dorosłych komórkach macierzystych i progenitorowych nie są identyczne z tymi w komórkach zarodkowych, gdyż wpływają na nie również czynniki środowiskowe i inne mechanizmy wewnętrzne (Ninkovic i in., 2013).

2.2.2 Białka hedgehog

Białka Hedgehog (HH) są cząsteczkami sygnalizacyjnymi niezbędnymi do embriogenezy oraz homeostazy tkankowej u dorosłych (Lee i in., 2016; Wu i in., 2017). Szlak Hh został początkowo zidentyfikowany w zarodku *Drosophila*. Następnie stwierdzono, że składniki szlaku Hh są analogiczne między bezkręgowcami i kręgowcami (Wu i in., 2017).

Białka sygnalizacyjne hedgehog (HH) są kodowane przez gen hedgehog (Hh) u *Drosophila*. Do tej rodziny białek należą: DHH (ang. *desert hedgehog*), IHH (ang. *indian hedgehog*), SHH (ang. *sonic hedgehog*). Białko SHH występuje w formie rozpuszczalnej oraz w formie związanej z błoną komórkową. Jest syntetyzowane początkowo jako pojedynczy łańcuch peptydowy (białko prekursorowe) o dużej cząsteczce, który następnie podlega autoproteolitycznemu rozszczepieniu na dwa peptydy. Uczestniczy w tym karboksylowy koniec peptydu. Większy peptyd pozostaje związany z błoną komórkową, a mniejszy dyfunduje z komórki. Aktywność SHH jest przypisywana wolnemu peptydowi. Białka SHH dostarczają informacji pozycyjnej, sygnałów proliferacji komórek i najprawdopodobniej sygnałów przeżycia komórek zależnych od czasu i położenia ekspresji (Bielańska-Osuchowska, 2004).

Transdukcja sygnału SHH zachodzi przez kompleks receptorowy, który zawiera dwa składniki: Smo (ang. *Smoothed*), receptor z rodziny Frizzled o 7 przejściach przez błonę komórkową, oraz Ptc (ang. *Patched*), receptor o wielu przejściach przez błonę komórkową. Smo i Ptc tworzą nieaktywny kompleks receptorowy. Smo wiąże się z Ptc, które z kolei aktywuje Smo. Równocześnie SHH powoduje zmiany konformacyjne w Smo, konieczne do jego aktywacji. SHH może wiązać się z samym Ptc. Sygnalizacja SHH działa w wielu procesach w trakcie rozwoju zarodków bezkręgowców i kręgowców, w tym ssaków. Szczególnie jest ona widoczna w rozwoju układu nerwowego (Belgacem i in., 2016; Blaess i in., 2015; Memi i Zecevic, 2018), struktur twarzoczaszki (Dworkin i in., 2016; Sun i in., 2020) oraz oczu (Creuzet i Etchevers, 2019).

W wielu zespołach wad rozwojowych można zaobserwować wspólne występowanie nieprawidłowości zarówno mózgu, twarzy, jak i oczu bądź tylko jednej lub dwóch tych struktur. Podstawy komórkowe, molekularne i embriologiczne tych zaburzeń nie zostały dotychczas dokładnie poznane. Cennych narzędzi do analiz patogenezy wad wielonarządowych dostarczają modele zwierzęce. Kilka hipotetycznych mechanizmów wyjaśnia jednoczesne występowanie nieprawidłowości ośrodkowego układu nerwowego, oczu i twarzoczaszki. Według niektórych badaczy pojedynczy gen ulega ekspresji podczas rozwoju w każdym z tych regionów. W związku z tym mutacja dotyczy tych regionów, gdzie dany gen ulega ekspresji. Druga hipoteza związana jest z bliskością podczas rozwoju zawiązków cewy nerwowej, twarzoczaszki i oczu. Pojedynczy gen lub, co bardziej prawdopodobne, sekrecyjna cząsteczka sygnałowa, ulegająca ekspresji w bezpośrednim sąsiedztwie tych struktur, może wpływać na rozwój każdej z nich (Carlson, 2018; Chiang i in., 1996).

2.2.3 Współdziałanie PAX6 i SOX2

W rozwój soczewki zaangażowanych jest wiele czynników transkrypcyjnych. PAX6 zapoczątkowuje rozwój soczewki przez tworzenie molekularnego kompleksu z SOX2 w specyficznych dla soczewki wzmacniaczach, na przykład DC5 (Kamachi i in., 2001; Saha i in., 2016). DC5 wykazuje sam w sobie aktywność specyficzną dla soczewki wzmacniacza, zależną od związanych protein grupy B1 SOX: SOX1, SOX2, i SOX3 (Kamachi i in., 1999; Kamachi i in., 1995; Kamachi i in., 1998). Ekspresja genów Sox2 i/lub Sox3 (Sox2 i Sox3 u kurcząt, Sox2 u myszy, Sox3 u żab i ryb) w ektodermie okolicy głowowej jest wzmacniana, aby w odpowiedzi na indukcyjne sygnały z pęcherzyka ocznego utworzyć plakodę soczewki. Sugeruje to, iż SOX2 i SOX3 odgrywają rolę nie tylko w aktywacji γ -krystalin, ale przede wszystkim w różnicowaniu plakody soczewki. SOX1, SOX2, SOX3 przyłączają się do końca 5' sekwencji DC5, co jest konieczne do aktywacji tego wzmacniacza (Köster i in., 2000).

Wyniki badań sugerują, że wzmacniacz DC5 jest aktywowany przez wspólne działanie SOX1/SOX2/SOX3 (jednej z wymienionych protein) i ich czynnika pomocniczego γ EF3, który oddziałuje z końcem 3' sekwencji DC5. Do działania wzmacniacza DC5 konieczny jest synergizm SOX1/SOX2/SOX3 i γ EF3. Molekularna identyfikacja γ EF3, czynnika pomocniczego (*partner factor*) dla SOX1/SOX2/SOX3 w soczewkach, jest bardzo ważna w zrozumieniu procesu różnicowania tej

struktury, a także mechanizmu regulacji różnicowania komórek, zależnego od współpracy białek SOX z innymi czynnikami transkrypcyjnymi (Kamachi i in., 1999; Kamachi i in., 1995; Kamachi i in., 1998).

PAX6 i SOX2 łączą się i tworzą potrójny kompleks z docelową sekwencją DNA, co jest konieczne dla synergistycznej aktywacji transkrypcji. Ekspresja Pax6 rozpoczyna się przed tworzeniem plakody ocznej, na powierzchni ektodermy większości kręgowców. Ekspresja Sox2 i Sox3 jest aktywowana przez indukcyjne sygnały z pęcherzyka ocznego w obszarze występowania komórek ektodermy głowowej, w których doszło do ekspresji Pax. U kręgowców Pax6 i Sox2/Sox3 (lub jeden z nich) ulegają wspólnie ekspresji w ektodermie przyszłej soczewki. Następnie komórki, w których doszło do ekspresji obu genów, zapoczątkowują rozwój plakody soczewki (Köster i in., 2000).

W zarodkach kurzych ekspresja γ -krystalin jest skutkiem synergicznego działania Pax6 i Sox2/Sox3. Równoczesna ekspresja Sox2/Sox3 i Pax6 nie zawsze jest jednak wystarczająca dla ekspresji γ krystalin w komórkach innych niż komórki soczewki. W plakodzie nosowej (mimo występowania endogennego Sox2/Sox3 i Pax) nie dochodzi do ekspresji γ -krystalin. Ponadto nie we wszystkich komórkach ektodermy głowowej, wykazujących ekspresję egzogennych Sox2/Sox3 i Pax, dochodzi do ektopowej indukcji γ -krystalin. Te obserwacje sugerują, iż dla pełnej ekspresji genu γ -krystalin są wymagane dodatkowe czynniki transkrypcyjne, na przykład białka Maf. Aktywują one geny γ -krystalin w komórkach, w których zachodzi ekspresja Sox2 (Smith i in., 2009; Kondoh i in., 2004).

Synergizm Sox2/Sox3 i Pax jest prawdopodobnie warunkiem wstępnym dla aktywacji γ -krystalin i innych genów zaangażowanych we wczesny rozwój soczewki. W prawidłowym rozwoju oka zmiany kształtu komórek są związane z ekspresją cząsteczek adhezyjnych zwanych N-kadherynami. Obecne badania wskazują, iż PAX6 jest konieczny także dla ekspresji N-kadheryn w plakodach soczewki. Dlatego też wydaje się prawdopodobne, iż synteza N-kadheryn jest także regulowana przez wspólne działanie SOX2 i PAX6 w soczewce (Kamachi i in., 2001; Van Raamsdonk i Tilghman, 2000). Ponadto w prawidłowym rozwoju oka białka SOX2/SOX3 są wymagane dla utrzymania ekspresji Pax6 w soczewce. Również Pax6 jest konieczne dla utrzymania własnej ekspresji w plakodzie soczewki. Ekspresja ta może odbywać się również pod kontrolą kompleksu SOX2/PAX6. Z drugiej strony pozytywna regulacja ekspresji Sox2 w przyszłej plakodzie soczewki jest zależna od Pax6 (Kamachi i in., 2001). Sox2 to dobrze znany czynnik transkrypcyjny, który odgrywa kluczową rolę w tworzeniu i utrzymywaniu pluripotencjalnych komórek macierzystych (PSC). Reguluje różnicowanie komórek macierzystych linii neuronalnej. Jednak dokładna rola SOX2 w ludzkich PSC nadal nie została w pełni zrozumiana.

Wykazano, iż niewielka ekspresja SOX2 zmniejsza zdolności różnicowania się pluripotencjalnych komórek macierzystych, zaś nadekspresja SOX2 w hESC zwiększa ich pluripotencję w warunkach hodowli tkankowych. Dodatkowo funkcja SOX2 zależała również od interakcji z innymi czynnikami transkrypcyjnymi na przykład OCT4 (Zhang i in., 2019).

Należy pamiętać, że ekspresja genu SOX2 zachodzi pod wpływem produktu genu PAX6 i dodatkowo jest wzmacniana przez sygnał płynący z pęcherzyka ocznego. Cząsteczkami sygnałowymi są tu białka BMP, zwłaszcza białko BMP-4. Ponadto ekspresja genu Sox-2 w rozwijającej się soczewce reguluje syntezę krystalin (Mglinets, 2015).

2.2.4 Czynniki wzrostu w rozwoju soczewki

Liczne eksperymenty prowadzone na zwierzętach już ponad 50 lat temu wykazały, że bardzo duży wpływ na prawidłowy rozwój soczewki ma otaczające ją środowisko. Obecność ciała szklistego przyczynia się do różnicowania włókien, podczas gdy środowisko cieczy wodnistej sprzyja powstawaniu, utrzymaniu i wzrostowi nabłonka (Yamamoto, 1976).

Na przestrzeni lat zidentyfikowano wiele czynników wzrostowych wpływających na powstawanie włókien siatkówki. Wykazano między innymi, że FGF1 lub FGF2 sprzyjały zmianom morfologicznym i molekularnym w komórkach nabłonka soczewki (Chamberlain i McAvoy, 1989; Lovicu i McAvoy, 1989). Dowiedziono również, że FGF w zwiększonym stężeniu powodował odpowiedzi w komórkach nabłonka soczewki, zaś przy niskim wpływał na proliferację tych komórek. Kolejne, wyższe dawki były wymagane do wywołania migracji i różnicowania komórek nabłonka

w włókna (McAvoy i Chamberlain, 1989). Dalsze badania udowodniły istnienie różnicy stężeń FGF pomiędzy ciałem szklistym a cieczą wodnistą. Doprowadziło to do wysnucia wniosku, iż gradient ten wyraźnie wpływa na biegunowość soczewki *in situ* (Chamberlain i McAvoy, 1997).

Soczewka ssaka wykazuje ekspresję co najmniej trzech z czterech genów receptora FGF (FGFR). FGF może indukować silną fosforylację ERK1/2 (Lovicu i McAvoy, 2001; Le i Musil, 2001), a zarówno proliferacja komórek soczewki indukowana przez FGF, jak i różnicowanie włókien są zależne właśnie od aktywacji ERK1/2. Dowiedziono doświadczalnie, iż w obecności UO126 (selektywny inhibitor fosforylacji ERK1/2) proliferacja komórek nabłonka soczewki szczura, indukowana przez FGF, została zablokowana. UO126 skutecznie hamował również wydłużanie się włókien soczewki, wywołane przez FGF i towarzyszącą mu ekspresję specyficznego włókna pośredniego – filenzyny (Lovicu i McAvoy, 2001). Zablokowanie zaś fosforylacji ERK1/2 nie wpływało lub miało niewielki wpływ na akumulację innych markerów różnicowania włókien, takich jak β - i γ -krystaliny (Lovicu i McAvoy, 2001; Wang i in., 2009). Może to wskazywać na obecność dodatkowych szlaków sygnałowych, biorących udział w powstawaniu i różnicowaniu włókien soczewki. Niewątpliwie FGF ma zasadnicze znaczenie dla zapoczątkowania różnicowania się komórek włókna. Jednak do późniejszych etapów tego procesu konieczna jest obecność innych czynników wzrostu w ciele szklistym. Wykazano, że szkliskowe czynniki wzrostu, takie jak insulinopodobne czynniki wzrostu (IGF), płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) i naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), nasilają działanie FGF na komórki nabłonkowe soczewki szczura, co prowadzi do powstawania włókien (Klok i in., 1998; Liu i in., 1996; Richardson i Chamberlain i in., 1993; Wang i in., 2010). Jest to zgodne z wynikami badań prowadzonych na kurczętach – wykazano rolę insuliny / IGF (Beebe i in., 1987), EGF/ transformującego czynnika wzrostu (TGF) – α (Chen i in., 2001; Ireland i Mrock, 2004), a także białek morfogenetycznych kości (BMP) (Belecky-Adams i in., 2002) w zapoczątkowaniu procesu tworzenia włókien. Chociaż samo niewielkie stężenie IGF, PDGF i EGF nie może wywoływać formowania się włókien, to w połączeniu z FGF takie działanie może mieć miejsce (Wang i in., 2010). Ponadto IGF, PDGF i EGF nasiliły działanie skrajnie małego stężenia FGF poprzez wydłużenie czasu trwania fosforylacji ERK1/2 w nabłonku soczewki szczura. Podobnie jak w komórkach poddanych działaniu czynników transkrypcyjnych zawartych w ciele szklistym i przy wysokich stężeniach FGF, prowadziły do różnicowania włókien. Wynika z tego, że różne czynniki wzrostu obecne w ciele szklistym mogą być zaangażowane w fosforylację ERK1/2, która jest wymagana do zapoczątkowania i/lub utrzymania wtórnego różnicowania włókien.

W licznych doświadczeniach zwrócono również uwagę na rolę sygnalizacji BMP w różnicowaniu soczewki, zwłaszcza w powstawaniu włókien pierwotnych (Faber i in., 2002). Zauważono, że aktywność ciała szklistego w tworzeniu się włókien była hamowana przez antagonistów BMP (noggin, chordin) lub przeciwciała przeciwko BMP. Ponadto antagoniści BMP blokowali również powodowane przez FGF wtórne odpowiedzi różnicowania włókien w hodowlach komórkowych. Sugeruje to, że aktywność BMP jest wymagana dla reakcji, w których pośredniczy FGF (Boswell i in., 2008).

Wykazano również, że sygnalizacja BMP jest niewystarczająca, aby zapoczątkować proces różnicowania włókien w komórkach nabłonka soczewki. Działanie FGF i BMP musi być sprzężone i zachodzi w obszarze równikowym tworzącej się soczewki. Mechanizm ten jednak nie jest do końca jasny, ponieważ sygnalizacja FGF nie zwiększa ekspresji Bmp4 lub Bmp7 w komórkach soczewki, a hamowanie sygnalizacji FGFR lub aktywacja ERK1/2 nie wydają się wpływać na działanie BMP w różnicowaniu włókien (Boswell i in., 2008; Boswell i in., 2008).

Innym czynnikiem wzrostu odgrywającym rolę w tworzeniu włókien soczewki jest TGF- β . Sygnalizacja przez receptory TGF- β jest wymagana do utrzymania homeostazy włókien. Włókna korowe w soczewkach, w których doszło do pojedynczych mutacji TGF- β lub aktywiny, wykazywały zmienioną ekspresję markerów tworzących się włókien (α -krystalina, filensyna, fakina, MIP), osłabione ich wydłużanie (Faber i in., 2002), zmienioną aktywność kinazy ogniskowo-adhezyjnej (FAK) (Kokkinos i in., 2007) i nieprawidłową ekspresję Bmpr1a (de Longh i in., 2004).

Kolejnym przykładem czynników będących ważnymi regulatorami proliferacji i polarności komórek oraz wpływających na ich różnicowanie podczas rozwoju embrionalnego i utrzymanie homeostazy tkanki są przedstawiciele rodziny Wnt. Istnieje 19 znanych ligandów Wnt i 10 znanych

receptorów Frizzled (Fz), chociaż złożoność ścieżek sygnalizacyjnych wzrasta wraz z włączeniem innych ligandów (np. Norrin) i receptorów (np. ROR, Ryk) do nadrodziny Wnt.

Sygnalizacja Wnt/ β -katenina jest inicjowana, gdy ligand Wnt tworzy kompleks z receptorem Fz i koreceptorem białka związanego z lipoproteiną o małej gęstości (Lrp) (Cong i in., 2004; Jones i Chen, 2007; Karner i in., 2006; Logan i Nusse, 2004; MacDonald i in., 2009; Nusse i in., 2008; van Amerongen i Nusse, 2009).

Ponadto we włóknach soczewki wykazano obecność Wnt5b, 7a, Fz3 i Fz6 (Liu i Mohamed i in., 2003), a sygnalizacja Wnt/ β -katenina współdziałała z FGF w regulacji różnicowania włókien.

Soczewki zarodków pozbawione β -kateniny (Catnb), a zatem pozbawione sygnałów Wnt, wykazują obniżony poziom β -krystaliny i zaburzone różnicowanie włókien (Cain i in., 2008). Z kolei usunięcie β -kateniny ze zróżnicowanych włókien nie miało większego wpływu na kontynuację tego procesu. Stwierdzono również, że obecność β -kateniny jest wymagana w komórkach nabłonka podczas wczesnego różnicowania włókien. Nadmierna aktywacja szlaku Wnt zaburza jednak również proces formowania włókien, co prowadzi do nadmiernej proliferacji nabłonka, hamowania różnicowania włókien, transformacji nabłonkowo-mezenchymalnej (EMT) i apoptozy (Martinez i in., 2009). Wydaje się zatem, że poziomy sygnalizacji Wnt muszą być ściśle regulowane podczas wyjścia z cyklu komórkowego nabłonka i inicjacji różnicowania komórek włókien w embrionalnej soczewce (Lovicu i in., 2011).

2.2.5 Czynniki Maf

Rosnąca lista czynników transkrypcyjnych niezbędnych do morfogenezy oka wskazuje na dużą złożoność tego systemu. Badania potwierdzają, że PAX6, SOX1 i L-Maf są ważnymi białkami w regulacji rozwoju soczewki i ekspresji genów krystalin w soczewce (Ring i in., 2000). W soczewce i części nerwowej siatkówki kurcząt można znaleźć wielkocząsteczkowe białko Maf (L-Maf lub MafA). Jak dotąd nie wyizolowano L-Maf u ssaków. Spośród trzech białek Maf wykrytych u ssaków (Nrl, c-Maf, MafB) poznano jedynie rolę c-Maf. Bierze ono udział w regulacji aktywności promotorów γ -krystalin we włóknach soczewki. Rola c-Maf w rozwoju soczewki jest prawdopodobnie związana z jego ekspresją we włóknach tylnych, jak również z obecnością genów krystalin w regionach promotorowych. Delecja genu c-Maf powoduje u homozygot zaburzenia ekspresji genów krystalin i wydłużania tylnych włókien, co prowadzi do powstania małowocza (Civil i in., 2002; Reza i Yasuda, 2004). Aby określić związek pomiędzy wystąpieniem małowocza u myszy a mutacją genu c-Maf (c-Maf^{-/-}), przeprowadzono badania histologiczne oczu tych gryzoni w różnych stadiach rozwoju narządu wzroku. Wyniki ujawniły wybiórcze wady soczewek u zmutowanych zwierząt.

W przypadku prawidłowo rozwijających się myszy po utworzeniu się pęcherzyka soczewki komórki tylnego bieguna zaprzestają podziałów i wydłużają się w kierunku nabłonka przedniego, następnie różnicują się we włókna soczewki, które wypełniają jamę pęcherzyka soczewki. U c-Maf zmutowanych myszy nie dochodzi do elongacji komórek nabłonka, co prowadzi do powstania pustej jamy pęcherzyka soczewki. Objawia się to małowoczem. Ponadto u myszy z mutacją genu c-Maf zaobserwowano wtórną afakję (brak soczewki). W tym przypadku zaburzenia dotyczyły jedynie soczewki, przedni i tylny odcinek oczu był zaś prawidłowo rozwinięty. W oczach myszy c-Maf^{-/-} rogówka jest oddzielona od soczewki i tworzenie części nerwowej siatkówki jest prawidłowe (Kim i in., 1999). Natomiast u ludzi wrodzonej określonej afakją (bezsoczewkowością) towarzyszą zarówno zaburzenia w obrębie przedniego, jak i tylnego odcinka oka.

Krystaliny są najliczniejszymi rozpuszczalnymi białkami włókien soczewki, niezbędnymi do właściwego jej rozwoju (Cvekl i in., 2015; Wistow, 2012). Mutacja genów β i γ -krystalin powoduje defekty różnicowania się włókien i wystąpienie zaćmy u tych osobników (Slingsby i Wistow, 2014). Stadium, w którym defekty soczewki u myszy z mutacją (c-Maf^{-/-}) stają się widoczne, koreluje z początkiem ekspresji genu γ -krystalin (Goring i in., 1992). Przeprowadzono także badania ekspresji genów krystalin w soczewkach dorosłych zwierząt przy wykorzystaniu półilościowej metody RT-PCR (ang. *reverse transcriptase-polymerase chain reaction*). W badaniach tych wykazano znaczne zmniejszenie ekspresji genów γ -krystalin: γ A, γ B, γ C, γ D, γ E, γ F i β A3/A1. Ekspresja genów klasy α : α A

i α B była prawidłowa. Wskazuje to na wcześniejszą aktywację α -krystatin w rozwoju oka oraz na fakt, że aktywacja γ -krystatin koreluje z ekspresją c-Maf (Kim i in., 1999).

2.2.6 Rola RTK w regulacji prawidłowego wzrostu komórek nabłonka soczewki

RTK (ang. *receptor tyrosine kinase*, receptorowa kinaza tyrozynowa) stanowi dużą grupę przezbłonowych białek, które przekazują z zewnątrz komórki do jej wnętrza, sygnały dotyczące proliferacji, różnicowania, przeżycia i migracji komórek (Wang i in., 2010). Wyróżniono kilka podrodzin RTK. AXL (nazywane także ARK, UFO lub TYRO7) jest pierwszym opisanym przedstawicielem podrodziny RTK o unikalnej strukturze. Region zewnątrzkomórkowy zbudowany jest z dwóch immunoglobulinopodobnych domen połączonych z dwiema cząsteczkami fibronektyny typu III. Region cytoplazmatyczny zawiera wewnętrzną domenę kinazy tyrozyny. Inni przedstawiciele tej podrodziny receptorów to: RSE (nazywane także SKY, BRT, TIF, DTK, TYRO3) i MER (EYK, NYK, TYRO12) (Zhao i in., 2018). Równoczesna inaktywacja mysich AXL, TYRO3 i MER jest związana z niepłodnością i ślepotą spowodowaną pourodzeniową degeneracją czopków i pręcików w siatkówce (Lu i in., 1999). Ponadto wykazano, iż przekąźnictwo Gas6/Axl odgrywa istotną rolę w proliferacji i przeżyciu komórek nabłonka soczewki w warunkach *in vitro*. Poza tym doświadczalnie stwierdzono obecność ufosforylowanego Axl w komórkach nabłonka soczewki, zaś jego ligandu – Gas6 – w cieczy wodnistej. Ciecz wodnista jest płynem, który ze względu na swoje właściwości fizyczne i chemiczne może odgrywać ważną rolę w patogenezie zaćmy czy jaskry. W cieczy wodnistej i w ciele szklistym znajduje się duża liczba czynników wzrostu. Badania sugerują, że przekąźnictwo Gas6/Axl może odgrywać rolę w regulacji prawidłowego wzrostu komórek nabłonka soczewki poprzez działanie synergiczne lub antagonistyczne z innymi czynnikami wzrostu obecnymi w cieczy wodnistej (Valverde i in., 2004). Różnice w zawartości czynników transkrypcyjnych pomiędzy cieczą wodnistą a ciałem szklistym wpływają na polaryzację soczewki, proliferację komórek nabłonka i różnicowanie włókien.

2.2.7 Sygnalizacja komórkowa Jag1-Notch

Kilka badań wskazuje na rolę szlaku sygnałowego Notch w regulowaniu różnicowania się włókien. Ligand Notch Jagged1 (Jag1) jest obecny w komórkach włókien soczewki, zaś jego dwukierunkowa sygnalizacja Jag1 – Notch przekazuje sygnał indukcyjny, który jest konieczny w procesie powstawania włókien (Le i in., 2009; Saravanamuthu i in., 2009). Jedną z dotychczas zidentyfikowanych funkcji jest regulacja ekspresji kadheryny, a konkretnie przejście do ekspresji N-kadheryny podczas procesu różnicowania włókien. Wykazano również, że sygnalizacja Jag1 – Notch jest ważna w regulacji wtórnego różnicowania włókien poprzez swoją rolę w utrzymywaniu proliferacyjnej populacji nabłonka w strefie podziałów mitotycznych w celu zapewnienia komórek prekursorowych dla włókien. Dowiedziono, że FGF zapoczątkowuje ekspresję JAG1 i sygnalizację Notch2. Towarzyszy temu indukcja efektora Notch, Hes5, jak również zwiększenie ekspresji N-kadheryny oraz zmniejszenie E-kadheryny, które są charakterystyczne dla różnicowania włókien (Saravanamuthu i in., 2009).

2.2.8 Inne czynniki różnicowania włókien soczewki

Soczewka jest doskonałym modelem do badań procesów specjalizacji, proliferacji i dojrzewania, ponieważ składa się z tylko jednego typu komórek w różnych stadiach różnicowania komórkowego. Przednia powierzchnia soczewki jest pokryta proliferującymi sześciennymi komórkami nabłonka, pod którymi znajdują się wydłużone i zróżnicowane włókna. Komórki nabłonka w okolicy równika soczewki zaprzestają podziałów komórkowych. Następnie, w procesie różnicowania, wydłużają się i tracą jądro oraz organelle komórkowe (aparatus Golgiego, mitochondria). Jeśli proces utraty jąder w części centralnej włókien zostanie zaburzony, może dojść do powstania zaćmy wrodzonej (Bassnett, 1995).

Nabłonek soczewki jest niezbędny do wzrostu, różnicowania i homeostazy całego narządu wzroku. Komórki nabłonka zawierają wysoki poziom enzymów i liczne systemy transportujące. Poza

tym są one najbardziej narażone na czynniki środowiskowe, na przykład promieniowanie UV czy dym tytoniowy. Badania sugerują, że nabłonek soczewki jest zdolny do komunikowania się z niżej leżącymi włóknami. Bezpośrednie uszkodzenie komórek nabłonka i jego systemów enzymatycznych może prowadzić do zaćmy. W przeciwieństwie do komórek nabłonka różnicujące się włókna zawierają dużą liczbę rybosomów, aktywnie uczestniczących w procesie syntezy białek błon komórkowych, białek cytoszkieletu i krystalin, koniecznych do wydłużania i różnicowania komórek (Piatigorsky, 1981).

Prawidłowa biegunowość soczewki jest związana z dysproporcjami, które pozwalają utrzymywać komórki soczewki w dwóch odmiennych stanach różnicowania. Komórki nabłonka przedniego soczewki bezpośrednio kontaktują się jedynie z cieczą wodnistą, a jako zlokalizowane w okolicy równikowej – są poddawane działaniu czynników transkrypcyjnych zawartych zarówno w cieczy wodnistej, jaki ciele szklistym, co wpływa na ich przekształcanie się we włókna soczewki. Doświadczalnie wykazano, iż zarodkowe soczewki, które zostały operacyjnie zrotowane w taki sposób, że komórki nabłonka odwrócono w stronę ciała szklistego, różnicowały się w struktury podobne do włókien soczewki (Coulombre i Coulombre, 1963). Wyniki te sugerują, że proces różnicowania komórkowego może być regulowany przez obecność odpowiednich czynników w cieczy wodnistej i w ciele szklistym. Niektóre z tych czynników zostały zidentyfikowane. Należą one do rodziny czynników BMP, FGF, IGF (ang. *insulin-like growth factor*, insulinopodobny czynnik wzrostu) (Vogel-Hopker i Momose i in., 2000). Różnicowanie komórek nabłonka soczewki może być także modulowane przez sygnały komórkowe dochodzące z otaczających struktur, takich jak część nerwowa siatkówki. Badania przeprowadzane na hodowlach komórkowych sugerują, że w komórkach nabłonka płodowej soczewki, hodowanych wspólnie z fibroblastami wywodzącymi się z ciała rzęskowego, dochodzi do ekspresji specyficznych genów, takich jak geny γ -krystalin. Zapoczątkowanie różnicowania jest związane ze zwiększeniem ekspresji specyficznych genów, włącza się w to geny Kip2 (p57) (Tateishi i in., 2012), geny β i γ krystalin (Treton i in., 1991), geny HSP70 (Kumar i Tiwari, 2018), geny kaspazy-3 (Zandy i in., 2005) oraz geny wielu kinaz cyklinozależnych (Yamashiro i in., 2011).

Zmiany w ekspresji genów odzwierciedlają działanie specyficznych czynników transkrypcyjnych, na co wskazuje podwyższony poziom c-myc, c-jun, c-Maf, Sox-1, Prox-1 (Cvekl i in., 2015). Są one prawdopodobnie zaangażowane w ekspresję wielu genów specyficznych dla nabłonka i włókien. Badania *in vitro* i *in vivo* wskazują, że dla różnicowania i ekspresji genów krystalin konieczne są także koaktywatory transkrypcyjne, takie jak CBP/p300 (Chen i in., 2002; Chen i in., 2002). W ostatnich latach badano ekspresję genów zarówno w nabłonku, jak i we włóknach soczewki. Zidentyfikowano blisko 1200 genów, których ekspresja była znacznie bardziej nasilona w nabłonku w porównaniu z włóknami soczewki. Geny te odpowiadają za regulację proliferacji komórkowej, wzrostu i różnicowania komórkowego. Należą do nich na przykład RTK, AXL, VEGF (ang. *vascular endothelial cell growth factor*, czynnik wzrostu komórek śródbłonka naczyń), IGF-6, cyklina G2, cyklina I, cyklina L1, TNF 13 (ang. *tumour necrosis factor*, czynnik martwicy nowotworów), TNF 15 (Hawse i in., 2006). Ponadto zidentyfikowano około 1300 genów, których ekspresja była bardziej nasilona we włóknach soczewki w porównaniu z nabłonkiem. Geny te, poprzez wpływ na syntezę tRNA, związane są z translacją. Wpływają również na syntezę składników komórkowych, takich jak błona komórkowa, cytoszkielet i krystaliny (Wistow i Piatigorsky, 1988).

3. Aspekty genetyczne i molekularne rozwoju rogówki

Rogówka jest wysoce wyspecjalizowaną, całkowicie przezierną tkanką. Składa się początkowo z trzech głównych warstw: zewnętrznego wielowarstwowego nabłonka płaskiego, wewnętrznego śródbłonka i zrębu. Tworzenie się tych warstw podczas rozwoju wiąże się z interakcją między strukturami pochodzącymi z ektodermy okolicy głowowej a mezenchymą okołogałkową, w skład której wchodzi komórki grzebienia nerwowego (NCC) i komórki progenitorowe pochodzące z mezodermy. Wykazano, że regulacja rozwoju nabłonka rogówki zależy od wielu dwukierunkowych szlaków sygnałowych mezenchymalno-nabłonkowych (Walker i in., 2020; Weigele i Bohnsack, 2020).

Zatem powstawanie rogówki jest również przykładem indukcji zarodkowej. Jest ona związana z oddziaływaniem pęcherzyka soczewki na sąsiadującą ektodermę powierzchniową. Indukcja ta powoduje przekształcenie typowej powierzchni ektodermy w przezierną, wielowarstwową strukturę, ze złożoną substancją pozakomórkową i składnikami komórkowymi pochodzącymi z wielu źródeł. Indukcyjny wpływ ze strony soczewki prowadzi do zmian w komórkach ektodermy. Ulegają one wydłużeniu, powiększeniu, co jest związane z gromadzeniem się organelli sekrecyjnych (takich jak aparat Golgiego) w części przypoławnej. Komórki te rozpoczynają produkcję kolagenu typów I, II, IX, co prowadzi do powstania pierwotnej istoty właściwej rogówki. W kolejnym etapie wczesnego rozwoju rogówki dochodzi do tworzenia jej śródbłonna z komórek grzebienia nerwowego, zgromadzonych wokół kubka ocznego i wędrujących do części centralnej pomiędzy pierwotną istotą właściwą rogówki a torebką soczewki. W tej fazie rozwoju rogówka składa się z zewnętrznego nabłonka, bezkomórkowej istoty właściwej i wewnętrznego śródbłonna. Po utworzeniu ciągłej warstwy przez komórki śródbłonna rozpoczynają one produkcję i wydzielanie do pierwotnej istoty właściwej dużych ilości kwasu hialuronowego. Ze względu na jego silnie osmotyczne właściwości dochodzi do wyraźnego pogrubienia istoty właściwej. Kolejnym etapem rozwoju rogówki jest napływ do istoty właściwej komórek o charakterze fibroblastów. Pomiedzy warstwami kolagenu, w środowisku bogatym w kwas hialuronowy, następuje ich proliferacja. Napływ elementów komórkowych do pierwotnej istoty właściwej rogówki zostaje przerwany wraz z początkiem produkcji przez te komórki enzymu zwanego hialuronidazą, który to enzym odpowiada za proces rozkładu dużych ilości kwasu hialuronowego w istocie właściwej. Zmniejszenie jej grubości jest spowodowane właśnie usunięciem kwasu hialuronowego.

Po uporządkowaniu fibroblastów w pierwotnej istocie właściwej przekształca się ona we wtórną istotę właściwą rogówki. Fibroblasty biorą udział w produkcji włókien kolagenowych zrębu. Zarówno nabłonek, jak i śródbłonek wydzielają składniki istoty właściwej. Ich sekrecja prowadzi do powstania pozostałych warstw dojrzałej rogówki, a mianowicie: blaszki granicznej zewnętrznej (błony Bowmana) oraz blaszki granicznej wewnętrznej (błony Descemeta). Podczas rozwoju zmienia się zarówno organizacja komórkowa, jak i skład białkowy, co bezpośrednio wpływa na przezierność rogówki. Zmiany dotyczą głównie istoty właściwej, która stanowi 90% grubości całkowitej dojrzałej rogówki. Są one związane w początkowym okresie z degradacją dużej ilości kwasu hialuronowego, co prowadzi do usunięcia wody z wtórnej istoty właściwej rogówki. W drugiej fazie odwodnienia dużą rolę odgrywa tyroksyna wydzielana do krwi płodu przez rozwijającą się tarczycę. Działanie tyroksyny jest związane z transportem jonów sodowych z istoty właściwej do komory przedniej. Za jonami sodu podążają również cząsteczki wody, co w efekcie prowadzi do odwodnienia istoty właściwej. Na przezierność rogówki wpływają także komórki nabłonka przedniego i tylnego. Regulują one transport płynów i uwodnienie rogówki. W ostatnim etapie rozwoju rogówki dochodzi do wyraźnych zmian w promieniu jej krzywizny w stosunku do długości gałki ocznej. Te morfogenetyczne zmiany umożliwiają rogówce pełnienie roli ośrodka optycznego odpowiedzialnego za sprawne przekazywanie promieni świetlnych do siatkówki. Nieregularności krzywizny rogówki prowadzą do zaburzeń refrakcji zwanych astygmatyzmem, a objawiających się spadkiem ostrości widzenia (Carlson, 2018; Eghrari i in., 2015; Lwigale, 2015; Mglinets, 2015).

Ogromną rolę w rozwoju rogówki odgrywa nabłonek soczewki. Sygnały indukujące różnicowanie rogówki ze strony soczewki do dzisiaj nie zostały w pełni poznane. Wydaje się jednak, że istotną rolę w tej indukcji embrionalnej może odgrywać czynnik Fox3 (Blixt i in., 2000). Poza tym czynnik Fox3 jest konieczny do zamknięcia pęcherzyka soczewki, odłączenia go od powierzchni ektodermy, a w późniejszych stadiach rozwoju wpływa na wzrost i przeżycie komórek nabłonka soczewki oraz różnicowanie włókien, ekspresję genów krystalin i polaryzację soczewki. Ponadto właściwe różnicowanie tylnego nabłonka rogówki wpływa na prawidłowe tworzenie się komory przedniej oka (Kidson i in., 1999).

Innym czynnikiem transkrypcyjnym rodziny Forkhead (Fox), odgrywającym zasadniczą rolę w rozwoju rogówki, jest Foxc2 obecny w okołogałkowych komórkach mezenchymalnych pochodzących z grzebienia nerwowego (NC) rozwijającego się oka mysiego. Nieprawidłowa ekspresja tego czynnika powoduje zaburzenia grubości w obwodowo-centralnym zrębie rogówki i rąbku oraz przemieszczenie źrenicy związane z nieregularnością tęczy. Prowadzi również do

ektopowej neowaskularyzacji w rogówce, jak również do upośledzenia różnicowania komórek nabłonka przedniej powierzchni oka. U osobników z taką mutacją występuje wiele nieprawidłowości dotyczących struktur powierzchni oka, obejmujących powieki, spojówki i rogówkę. Dodatkowo w modulację sygnału włączone są inne czynniki transkrypcyjne, takie jak Pitx2, Dkk2 i ścieżka sygnałowa Wnt. Mutacja Foxc2 i Foxc1 w obrębie komórek grzebienia nerwowego prowadzi do zastępowania nabłonka rogówki nabłonkiem spojówkowym – ektopowej neowaskularyzacji rogówki, co w znacznym stopniu upośledza przezierność tej tkanki. Ponadto Foxc2 i Foxc1 współdziałają w komórkach mezenchymalnych pochodzących z grzebienia nerwowego i zapewniają prawidłową morfogenezę powierzchni gałki ocznej poprzez regulację sygnalizacji Wnt (Chen i Liu i in., 2017).

Czynniki rodziny Fox biorą również udział w angiogenezie. Proces ten prowadzi do powstawania nowych naczyń włosowatych zarówno w warunkach fizjologicznych, na przykład na etapie embriogenezy, jak również w stanach chorobowych. Jest on regulowany przez równowagę mechanizmów pro- i antyangiogennych. Wykazano, że specyficzna dla komórek grzebienia nerwowego delecja Foxc1 prowadzi do powstawania naczyń w obrębie rogówki. Delecja FOXc1 jest związana z podwyższonymi poziomami czynników proangiogennych, takich jak metaloproteiny macierzy (MMP): MMP-3, MMP-9 i MMP-19 oraz rozpuszczalnego receptora czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego 1 (sVEGFR-1). Wydaje się zatem, że FoxC1 kontroluje angiogenezę poprzez regulację dwóch odrębnych i przeciwstawnych mechanizmów. Wobec tego rozwój naczyń włosowatych można określić, przynajmniej częściowo, na podstawie konkurencyjnej równowagi między szlakami proangiogennymi i antyangiogennymi regulowanymi przez FoxC1 (Koo i Kume, 2013).

Metaloproteiny macierzy (MMP) są kluczowymi czynnikami w przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej i angiogenezie. MMP-14 jest transbłonową MMP, zaangażowaną w proteolizę macierzy zewnątrzkomórkowej, transport egzosomów oraz migrację i inwazję komórek, czyli procesy krytyczne dla angiogenezy. Złożone szlaki związane z sygnalizacją MMP-14 mogą również angażować inne czynniki wzrostu, na przykład czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego, podstawowy czynnik wzrostu fibroblastów, Wnt/ β -katenina, transformujący czynnik wzrostu, płytkowy czynnik wzrostu, czynnik wzrostu hepatocytów, naskórkowy czynnik wzrostu, prostaglandynę E2, trombinę, integryny, Notch, receptory Toll-podobne, PI3k / Akt, Src, kinaza RhoA / RhoA i pozakomórkowy sygnał kinaz (Chang i in., 2016).

Czynniki wzrostu fibroblastów (FGF) odgrywają ważną rolę w wielu aspektach rozwoju embrionalnego. Podczas rozwoju oka soczewka i nabłonek rogówki pochodzą z tej samej ektodermy powierzchniowej okolicy głowowej. Sygnalizacja receptora FGF (FGFR) ma zasadnicze znaczenie dla różnicowania i przeżycia komórek soczewki, jak również komórek nabłonka rogówki. Wykazano doświadczalnie, że FGFR2 odgrywa kluczową rolę w kontrolowaniu proliferacji i różnicowania komórek oraz utrzymywaniu poziomów Pax6 w nabłonku rogówki poprzez szlaki niezależne od ERK (kinazy regulowanej sygnałem zewnątrzkomórkowym) podczas rozwoju embrionalnego (Zhang i in., 2015).

Rodzina insulinopodobnych czynników wzrostu (IGF) odgrywa kluczową rolę w proliferacji, różnicowaniu i migracji komórek rogówki, co pozwala na utrzymanie gładkiej powierzchni załamującej światło. System insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF) składa się z dwóch ligandów peptydowych, IGF-1 i IGF-2, oraz hormonu insuliny. Te zewnątrzkomórkowe ligandy aktywują receptor IGF typu 1 (IGF-1R), receptor IGF typu 2 (IGF-2R) i receptor insuliny (INSR). System podlega dalszej regulacji na poziomie zewnątrzkomórkowym dzięki obecności białek wiążących IGF (IGFBP). Istnieje sześć znanych IGFBP. Wiążą one cząsteczki IGF-1 w celu wydłużenia ich okresu półtrwania w krążeniu i zapobieganiu aktywacji IGF-1R indukowanej przez IGF-1, zaś enzymy proteolityczne, które rozszczepiają IGFBP, regulują w ten sposób ilość biodostępnego IGF-1. Do tej pory zidentyfikowano dwie proteazy. Obejmują one związane z ciężą białka osocza PAPP-A i PAPP-A2, których działanie jest hamowane przez stanniokalcyny (Argente i in., 2017; Conover i Oxvig, 2017). Ponadto wykazano, że zarówno ligandy, jak i białka wiążące oddziałują z receptorami rodziny IGF i w ten sposób dają unikalne efekty zależne od komórek i tkanek (Titone i in., 2018; Titone i in., 2019).

IGF-1 jest dobrze znany ze swojej roli we wzroście i rozwoju fizjologicznie zdrowych tkanek (Vincent i Feldman, 2002).

Rodzina IGF jest odpowiedzialna za utrzymanie homeostazy tkankowej poprzez regulację szlaków metabolicznych i/lub mitogennych na wszystkich poziomach komórkowych rogówki. Obejmuje to translokację jądrową Hybrid-R do jąder ludzkich komórek nabłonka rogówki w sposób niezależny od IGF-1 oraz zdolność Hybrid-R do wiązania DNA oraz modulowania ekspresji genów. Ponadto INSR i IGF-1R są obecne w mitochondriach, gdzie gromadzą się również przy braku IGF-1. Interakcja IGF-1R i INSR z VDAC1, białkiem obecnym w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, sugeruje nowe funkcje regulacyjne, w tym transport cząsteczek i jonów, stabilność mitochondriów oraz apoptozę (Stuard i in., 2020).

Jedną z interesujących cech odróżniających nabłonek rogówki od innych tkanek nabłonkowych jest to, że do wychwytu glukozy nie jest wymagana insulina. Insulina odgrywa jednak ważną rolę regulacyjną w proliferacji i wzroście komórek nabłonkowych rogówki. Ponadto hormon ten bierze udział w regulacji homeostazy metabolicznej poprzez kontrolę oddychania mitochondrialnego, glikolizy i autofagii. Reguluje również wydzielanie IGFBP-3, który z kolei pośredniczy w przemieszczaniu się receptorów wewnątrzkomórkowych.

IGFBP-3 funkcjonuje jako główne białko w odpowiedzi na stres w nabłonku rogówki. Istnieje coraz więcej dowodów wskazujących, że członkowie rodziny IGF odgrywają ważną rolę w procesie włóknienia. Obejmuje to regulację różnicowania keratocytów do fibroblastów i miofibroblastów oraz indukcję proliferacji miofibroblastów bez przywracania komórek z powrotem do fenotypu fibroblastycznego (Izumi i in., 2006).

W utrzymaniu przezierności rogówki kluczowe znaczenie ma śródbłonek rogówki wywodzący się komórek grzebienia nerwowego. Rozwojowi komórek śródbłonka rogówki (CEC) z grzebienia nerwowego towarzyszy ekspresja kilku czynników transkrypcyjnych, między innymi czynnika transkrypcyjnego AP2 (TFAP2, AP-2), obecnego w grzebieniu nerwowym. Stwierdzono, że w rodzinie AP-2 gen TFAP2B jest jedynym genem w ludzkich komórkach śródbłonka rogówki *in vivo*. Ponadto białko TFAP2B ulegało ekspresji zarówno *in vivo*, jak i w hodowlach komórkowych, zarówno podczas embriogenezy, jak i u dorosłych osobników. Mutacja genu TFAP2B zmniejszyła ekspresję specyficznych dla śródbłonka rogówki białek $\alpha 2$ kolagenu typu VIII (COL8A2) i glikoproteiny 4 osłonki przejrzystej (ZP4) oraz zahamowała proliferację komórkową. Warto zauważyć, że TFAP2B wiąże się z promotorem COL8A2 i genem ZP4. Ponadto komórki śródbłonka, które wykazują wysoką ekspresję ZP4, przejawiają również silną ekspresję zarówno TFAP2B, jak i COL8A2. Oprócz tego cechują się wysoką proliferacją. Można zatem przyjąć, iż TFAP2B reguluje transkrypcję genów specyficznych dla komórek śródbłonka oraz pełni kluczową rolę w rozwoju śródbłonka rogówki i utrzymaniu jego homeostazy (Hara i in., 2019).

Inną ważną cząsteczką sygnalizacyjną w koordynowaniu różnorodnych procesów rozwojowych, w tym również oka, jest kwas retinowy (RA), czyli aktywny biologicznie metabolit witaminy A (retinolu). Badania mutacji genów enzymów syntetyzujących RA kodowanych przez Aldh1a1, Aldh1a2 i Aldh1a3 (znane również jako Raldh1, Raldh2 i Raldh3) dostarczyły cennych informacji na temat sposobu, w jaki RA kontroluje morfogenezę oczu, w tym rozwój rogówki. Ponadto wyniki badania prowadzonego na rogówkach dorosłych osobników myszy wskazują, że zahamowanie syntezy kwasu retinowego przyczynia się do ścieńczenia rogówki, charakteryzującego się zmniejszoną grubością istoty właściwej, upośledzoną proliferacją komórek nabłonka rogówki i zwiększoną ich apoptozą. Miejscowe podanie kwasu retinowego do worka spojówkowego myszy z niedoborem Aldh1a znacząco poprawiło kondycję rogówki, co sugeruje ważną rolę endogennej sygnalizacji kwasu retinowego w homeostazie i regeneracji rogówki dorosłych osobników (Ma i Lwigale, 2019; Kumar i in., 2016).

4. Aspekty genetyczne i molekularne rozwoju siatkówki

Siatkówka pojawia się w momencie powstania pęcherzyka wzrokowego, którego proces inwaginacji skutkuje wytworzeniem się w jego obrębie dwóch warstw: wewnętrznej i zewnętrznej, oddzielonych przestrzenią śródsiatkówkową. Z czasem zostaje ona zatarta i obie części łączą się ze sobą. Warstwa zewnętrzna różnicuje się w część barwnikową siatkówki, a wewnętrzna – w siatkówkę nerwową, która będzie zawierała komórki światłoczułe. Aksony z siatkówki nerwowej zbiegają się i tworzą nerw wzrokowy (Fuhrmann, 2010; Heavner i Pevny, 2012).

Proces embriogenezy siatkówki jest bardzo złożony i wymaga zaangażowania wielu czynników transkrypcyjnych. Już na pierwszym etapie tworzenia zawiązka oka, czyli w momencie powstawania obustronnych wgłębień w ektodermie przodomózgowia (bruzd wzrokowych) widoczna jest ekspresja czynników transkrypcyjnych pola wzrokowego obejmujących Pax6, Rax, Six3 i Lhx2. Stanowią one sieć regulacyjną niezbędną do rozwoju oczu. Czynniki te również są zaangażowane w rozwój przodomózgowia – w ten sposób komplikują identyfikację szlaków sygnałowych szczególnie zaangażowanych w tworzenie pól wzrokowych (Hagglund i in., 2011; Wilson i Houart, 2004; Zaghloul i in., 2005).

Na początkowym etapie rozwoju w obrębie przodomózgowia dochodzi do ekspresji genów w populacji komórek progenitorowych, zaangażowanych w późniejszy rozwój oka. Warunkowa inaktywacja Lhx2 w tej populacji komórek nie ma wpływu na aktywność wzmacniacza Lhx2 pola wzrokowego, co sugeruje, że Lhx2 nie jest niezbędna do różnicowania tej struktury (Hagglund i in., 2011). Jednakże wykazano, że rozwój oczu zostaje zahamowany u myszy pozbawionych Lhx2. Potwierdziło to badanie, w którym ektopowa ekspresja EFTF (czynników transkrypcyjnych pól wzrokowych) może powodować powstawanie oczu u *Xenopus* tylko wtedy, gdy indukowana jest endogenna ekspresja Lhx2 (Fuhrmann, 2008). Badanie to wykazało również, że Otx2, czynnik transkrypcyjny niezbędny do rozwoju przodomózgowia, oraz Noggin, antagonistą BMP, mogą nasilać ekspresję EFTF w przedniej części płytki nerwowej (Zuber i in., 2003). Ponadto OTX2 współpracuje z ektodermalnym czynnikiem transkrypcyjnym SOX2 w celu aktywacji ekspresji Rax, mimo że stężenie Otx2 ulega zmniejszeniu w domenie ekspresji Rax na wczesnym etapie rozwoju pola wzrokowego (Danno i in., 2008; Zuber i in., 2003). Mutacje OTX2 są często związane z upośledzeniem funkcji siatkówki, co potwierdza rolę OTX2 w rozwoju nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE) (Medina-Martinez i in., 2009; Ragge i in., 2005).

Badania genetyczne pokazują, że wiele innych EFTF ma również zasadnicze znaczenie dla rozwoju oczu (Wawersik i Maas, 2000). Przykładem może być opisywany wcześniej Pax6. Ludzie z mutacjami pojedynczego allelu PAX6 często cierpią na aniridię, ciężką wadę oczną charakteryzującą się nieprawidłowym rozwojem tęczówki, rzadziej w połączeniu z niedowidzeniem, zmniejszeniem przezierności rogówki oraz hipoplazją plamki i dołka (Hever i in., 2006). Homozygotyczna utrata funkcji Pax6 u ludzi i myszy powoduje anoftalmię (Glaser i in., 1994).

Warunkowa inaktywacja Lhx2 w polu wzrokowym prowadzi do zatrzymania rozwoju pęcherzyka wzrokowego tuż przed powstaniem kielicha wzrokowego, ale ekspresja Pax6, Rax i Six3 nadal utrzymuje się w pęcherzyku wzrokowym (Fuhrmann, 2008). Pax6 może współpracować z Lhx2 w celu indukowania ekspresji Six6, genu determinującego siatkówkę, w pęcherzyku wzrokowym (Tetreault i in., 2009).

Inaktywacja genetyczna Six3 w przypuszczalnym polu wzrokowym wykazała, że jest ona niezbędna dla rozwoju oczu u ssaków. Warunkowa inaktywacja Six3 w tym obszarze prowadzi do zaburzeń rozwoju siatkówki nerwowej, podczas gdy nieprawidłowa ekspresja Six3 w obszarze śródmózgowia i tyłomózgowia embrionów myszy powoduje występowanie ektopowych pęcherzyków wzrokowych (Liu i in., 2010). U ludzi mutacje SIX3 są związane z holoprocencefalią lub zaburzeniem oddzielania się półkul mózgowych. SIX3 reguluje bowiem ekspresję Shh w brzusznej linii pośrodkowej międzymózgowia przedniego, co prowadzi do rozdzielenia pól wzrokowych (Geng i in., 2008).

Kolejnym etapem rozwoju oka jest ukształtowanie pęcherzyków wzrokowych, które nadal kontaktują się z ektodermą powierzchniową, dającą początek plakodzie soczewki. Każdy pęcherzyk wzrokowy (OV) składa się z komórek macierzystych siatkówki (RSC), z których powstają wszystkie

komórki oka wywodzące się z neuroektodermy. Na tym poziomie dochodzi do ekspresji kluczowych czynników transkrypcyjnych mianowicie *Vsx2*, *Mitf*, *Pax2*. Liczne badania ujawniły, że czynniki te, w połączeniu z EFTF, odgrywają rolę w kompartmentalizacji komórek przyszłego kubka ocznego, często poprzez wzajemną represję transkrypcji (Liu i in., 1994).

Wykazano doświadczalnie antagonistyczne działanie *Vsx2* i *Mitf* prowadzące do różnicowania nabłonka barwnikowego i części nerwowej siatkówki (Horsford i in., 2005). Dzieje się tak poprzez początkową ekspresję *Mitf* w całym grzbietowym OV, przy czym *Mitf* na skutek ekspresji *Vsx2* zmniejsza swoje stężenie. Funkcja *Mitf* w tworzeniu granic w obrębie siatkówki jest poparta obserwacją, że myszy z mutacjami genów *Mitf* wykazują konwersję z RPE do NR (Nguyen i Arnheiter, 2000).

Antagonistyczny związek istnieje również pomiędzy *Pax2* i *Pax6* w różnicowaniu typu tkankowego. Ta zależność obejmuje bezpośrednią interakcję molekularną, ponieważ *PAX2* może wiązać się ze specyficznym wzmacniaczem *Pax6*, a *PAX6* może wiązać się ze specyficznym wzmacniaczem *Pax2*. Wszystkie te dane pokazują, że *Pax2* i *Pax6* ustanawiają granicę między szypułką oczną a częścią nerwową siatkówki poprzez wzajemne represje (Schwarz i in., 2000).

Istotny jest fakt, że wewnętrzne czynniki transkrypcyjne komórki modulują sygnały zewnętrzne, aby doszło do funkcjonalnego różnicowania pęcherzyka wzrokowego. Zewnętrzne sygnały zaangażowane w ten proces obejmują członków rodziny transformującego czynnika wzrostu- β (TGF β), czynnika wzrostu fibroblastów (FGF) i Wnt oraz Sonic hedgehog. Na przykład wczesna aktywność *Lhx2* jest konieczna do transdukcji sygnału BMP7 w celu aktywacji ekspresji *Pax2* w brzusznej części pęcherzyka ocznego, podczas gdy w późniejszej fazie rozwoju aktywność *Lhx2* jest wymagana do utrzymania ekspresji *Bmp4*. (Yun i in., 2009). Podobnie FGF1 lub FGF2 z ektodermy powierzchniowej aktywuje *Vsx2* w przyszłej siatkówce nerwowej, który z kolei tłumi *Mitf* (Horsford i in., 2005).

Mutacje genów wyżej wymienionych cząsteczek sygnałowych objawiają się licznymi wadami rozwojowymi oczu. Na przykład mutacje *BMP4* opisano u pacjentów z anoftalmią/mikroftalmią, kolobomą i dystrofią siatkówki (Hayashi i in., 2008), a *shh* – z cyklopią (Bakrania i in., 2010).

Interakcja między rozwijającą się soczewką a siatkówką może być konieczna do prawidłowego różnicowania tych struktur (Bassett i in., 2010). Ponadto adhezja między pęcherzykiem ocznym a ektodermą powierzchniową odbywa się za pośrednictwem białka macierzy zewnątrzkomórkowej, fibronektyny1 (*fn1*) (Huang i in., 2011). W dalszej organizacji pęcherzyka ocznego zaangażowanych jest kilka szlaków sygnałowych. Jednym z najlepiej zbadanych jest szlak sygnałowy kwasu retinowego (RA) (Cvekl i Wang, 2009).

Wewnętrzna warstwa kubka ocznego, z której powstaje część nerwowa siatkówki, jest zorientowana wzdłuż dwóch prostopadłych względem siebie osi: grzbietowo-brzusznej i nosowo-skroniowej. Aksony komórek zwojowych siatkówki z najbardziej wewnętrznej warstwy przeplatają się z *PAX2*-dodatnimi prekursorami gleju, które zróżnicują się na dalszym etapie w astrocyty (Torres i in., 1996). Prawidłowe umiejscowienie nerwu wzrokowego zależy od sygnałów przebiegających wzdłuż osi brzuszno-grzbietowej i pośredniczą w nich czynniki transkrypcyjne należące do rodziny VAX.

Dojrzała siatkówka ma budowę warstwową. Składa się z wyspecjalizowanych fotoreceptorów: komórek pręciko- i czopkonośnych, które tworzą zewnętrzną warstwę ziarnistą (jądrową), interneuronów poziomych, dwubiegunowych i amakrynowych, budujących wewnętrzną warstwę ziarnistą (jądrową), oraz neuronów projekcyjnych i komórek zwojowych siatkówki, zlokalizowanych w warstwie komórek zwojowych. Połączenia synaptyczne w siatkówce są podzielone głównie na dwie warstwy: cienką zewnętrzną warstwę splotową i bardziej złożoną wewnętrzną warstwę splotową. Środowisko siatkówki jest kontrolowane przez wyspecjalizowany glej radialny, komórki glejowe Müllera, których ciała komórkowe znajdują się w centralnej części wewnętrznej warstwy jądrowej (INL) (Haverkamp i in., 2000).

W trakcie neurogenezy komórki progenitorowe siatkówki ulegają symetrycznym i asymetrycznym podziałom komórkowym i dają początek neuronom postmitotycznym, a także kolejnym komórkom progenitorowym. Faza wczesnego różnicowania neuronów w siatkówce charakteryzuje się wytwarzaniem komórek zwojowych, neuronów poziomych, komórek

czopkonośnych a także komórek amakrynowych. Czasowa zmiana potencjału komórek progenitorowych siatkówki prowadzi do powstania komórek pręcikonośnych, neuronów dwubiegunowych i komórek Müllera. Analizy linii komórkowych wykazały, że komórki progenitorowe siatkówki kręgowców (NPC) pozostają multipotencjalne, a na kolejnych etapach rozwoju, w każdym podziale, komórki potomne mogą pełnić kilka różnych funkcji. Analizy markerów molekularnych wykazały, że proliferujące komórki progenitorowe są bardzo różnorodne pod względem profili ekspresji genów (Yang, 2004).

Właściwości komórek progenitorowych siatkówki, wyrażone przez czynniki transkrypcyjne, receptory powierzchniowe i składniki sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, zmieniają się wraz z postępem rozwoju. Początek różnicowania komórkowego siatkówki nerwowej zależy od sygnalizacji Shh i FGF (Yang, 2004). Dowiedzono również doświadczalnie, że aktywatory transkrypcji bHLH wpływają na różnicowanie neuronów (Bertrand i in., 2002). W rozwijającej się siatkówce myszy zidentyfikowano pięć genów bHLH promujących neurony: Math5, Ngn2, Math3, NeuroD i Mash1. Wykazano, że bHLH i inne czynniki transkrypcyjne wpływają na dalsze losy komórek siatkówki. Komórki progenitorowe siatkówki, które wykazują ekspresję jednego lub więcej genów bHLH, podlegają różnicowaniu w komórki neuronalne (Hatakeyama i Kageyama, 2004).

Główną populację komórek glejowych w siatkówce stanowią komórki Müllera. Ich podstawową rolą jest utrzymanie homeostazy siatkówki. Obejmują one całą grubość siatkówki, określają jej granice oraz tworzą połączenia międzykomórkowe i rusztowanie neuronowe. Wpływają również na polaryzację siatkówki (Bringmann i in., 2006).

Kluczem do wykorzystania neurogenego potencjału komórek glejowych Müllera jest identyfikacja czynników transkrypcyjnych umożliwiających ich powstawanie. W proces ich różnicowania, proliferacji i neurogenezy zaangażowanych jest kilka szlaków regulujących rozwój embrionalnych komórek progenitorowych komórek nerwowych. Jednym z kluczowych regulatorów tego procesu, jak i gliogenezy jest NOTCH1 (Jadhav i in., 2009). Składniki szlaku sygnałowego NOTCH1, w tym jego dalsze regulatory transkrypcji HES1/5, służą jako specyficzne markery komórek glejowych Müllera. Ponadto HES1 może działać jako zabezpieczenie przed nieodwracalnym wyjściem z cyklu komórkowego podczas spoczynku, prawdopodobnie zapobiega to przedwczesnemu starzeniu i niewłaściwemu różnicowaniu nerwowej komórki macierzystej (Sang i Coller, 2009).

Podczas omawiania podstaw molekularnych rozwoju siatkówki należy również wspomnieć o niezwykle ważnym dla tego procesu szlaku sygnałowym kinazy MAP (B). Jest on niezbędny do tworzenia wzorców siatkówki w dystalnym pęcherzyku wzrokowym. Zapoczątkowuje również neurogenезę siatkówkową. Ligandy i receptory FGF ulegają silnej ekspresji w tkankach oka i strukturach zewnątrzgałkowych, na przykład FGF1 i FGF2 w ektodermie soczewki. Zatem FGF pochodzący z ektodermy soczewki jest niezbędny do powstawania domeny siatkówki w dystalnej części pęcherzyka ocznego (Hyer i in., 2009).

5. Najczęstsze wady rozwojowe narządu wzroku

Rozwój oka można podzielić na trzy fazy. Pierwsza z nich to tworzenie głównych struktur oka w procesie indukcji i specyfikacji regionalnej. Druga to dojrzewanie tych struktur w celu utworzenia funkcjonalnego narządu, a trzecia faza to tworzenie połączeń neuronalnych między siatkówką a ośrodkiem wzrokowym. Procesy te są ściśle regulowane przez kaskady sygnalizacyjne, które kierują wzrostem aksonów, proliferacją i różnicowaniem komórek. W ostatnich badaniach zidentyfikowano niektórych członków tych kaskad sygnalizacyjnych. Należą do nich czynniki wydzielane, które przekazują sygnały zewnątrzkomórkowo, oraz receptory i czynniki transkrypcyjne, będące członkami wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych odpowiadających na sygnały zewnątrzkomórkowe.

Rozwój narządu wzroku jest procesem niezwykle złożonym i delikatnym. Zaburzenie jego przebiegu na każdym etapie może prowadzić do wad rozwojowych oka lub struktur z nim związanych, co skutkuje zarówno ubytkami funkcjonalnymi, jak i estetycznymi. Poważne wady rozwojowe oka powstają w okresie organogenezy, mniej więcej między 20. a 60. dniem. Jednak oko

jest podatne na czynniki teratogenne również w późniejszym czasie, zwłaszcza w fazie histogenezy. Wiele mutacji genetycznych i czynników środowiskowych powoduje wady rozwojowe oczu. Wady te są względnie rzadkie, bo dotyczą około 5 na 10 000 żywych urodzeń. Izolowane wywierają niewielki wpływ na życie i dalsze funkcjonowanie dziecka. Jednak złożone mogą towarzyszyć wielowadziowi i w znacznym stopniu ograniczać samodzielność. Najczęściej występującymi wadami rozwojowymi narządu wzroku są: anoftalmia, mikroftalmia, coloboma, aniria, niedorozwój nerwu wzrokowego, zaćma wrodzona, zmętnienie rogówki i jaskra wrodzona (Bartel, 2017).

Zakłócenie ekspresji kluczowych genów regulatorowych we wczesnych stadiach rozwoju oka może skutkować przerwaniem procesu tworzenia się oka, co objawia się brakiem oka (anoftalmia) lub fenotypem małego, niedorozwiniętego oka (mikroftalmia). Anoftalmia i mikroftalmia (AM) to odpowiednio brak lub zmniejszony rozmiar gałki ocznej w porównaniu ze średnią populacyjną, skorygowaną o wiek. Do anoftalmii dochodzi, gdy rozwój oka zostaje przerwany na etapie rozwijającego się pęcherzyka wzrokowego, czyli około 3–4 tygodnia ciąży, co prowadzi do braku oka, braku nerwu wzrokowego oraz do skrzyżowania nerwu II. Często wykrywa się niewielką pozostałość torbielowatą, określaną jako kliniczna anoftalmia. Pojawia się ona, gdy pęcherzyk wzrokowy się uformował, ale ulega degeneracji. W takich przypadkach może występować hipoplazja nerwów wzrokowych oraz ich skrzyżowania. W mikroftalmii oko ma mniejszą objętość – może być związane z występującą równocześnie zmniejszoną średnicą rogówki. AM charakteryzuje się wysoką kliniczną heterogenicznością i rzadko jest stanem izolowanym. Często wiąże się z innymi nieprawidłowościami w obrębie oka mikroftalmicznego lub przeciwstronnego, takimi jak dysgeneza przedniego odcinka oka, coloboma, zaćma lub dysplazja szkliskowo-siatkówkowa (Lang, 2004). Ponadto 33%–95% AM występuje wraz z dodatkowymi, pozagałkowymi wadami układowymi, a 20%–45% osób ma rozpoznany zespół. Mutacje dotyczące genu Sox2 prowadzą do zespołu anoftalmii regionu Y-box 2 (Sox2). Mutacja genu białka wiążącego retinol 4 (RBP4) również powoduje autosomalnie dominujący brak oka. Inne powiązane mutacje obejmują następujące geny: ortodentyczny homeoboks 2 (OTX2), homolog zawierający homeodomenę CEH10 (CHX10), białko homeoboksove siatkówki (RAX) oraz morfogenne białko kości 4 (BMP4). Czynniki środowiskowe zaangażowane w anoftalmię dotyczą infekcji, ekspozycji na talidomid i promieniowanie w czasie ciąży oraz niedoboru witaminy A u matki. Wykazano również anoftalmię spowodowaną delecją q22.1 do q22.3 na chromosomie 14. Wadę tę można zdiagnozować w okresie prenatalnym za pomocą USG i amniopunkcji. Opcje leczenia obejmują chirurgię plastyczną i zastosowanie protezy oka (Harding i Moosajee, 2019; Plaisancie i in., 1998).

Mikroftalmia to stan, w którym jedno lub oboje oczu są niezwykle małe i mają anatomiczne nieprawidłowości. Mikroftalmia ma związek z czynnikami środowiskowymi, takimi jak alkoholowy zespół płodu, wirus opryszczki pospolitej, wirus cytomegalii i zakażenia różyczką. Przyczyny genetyczne obejmują nieprawidłowości chromosomalne, takie jak trisomia 13, zespół Wolfa-Hirschhorna, delecja 13q i zespół triploidalny oraz mutacje monogenetyczne dziedziczone autosomalnie dominująco, autosomalnie recesywnie lub sprzężone z chromosomem X. Chociaż wiele genów jest zaangażowanych w prezentację mikroftalmii, najlepiej udokumentowany wpływ ma Sox2 i czynnik transkrypcyjny związany z mikroftalmią (MITF). MITF znajduje się na chromosomie 14, a brak jego ekspresji uniemożliwia pełne różnicowanie nabłonka barwnikowego siatkówki i powoduje wady rozwojowe w postaci szczeliny naczyniówkowej i drenaż płynu szklistego, co z kolei hamuje powiększenie oczu (Slavotinek, 2019).

Coloboma to rzadka wada rozwojowa objawiająca się rozszczepem różnych struktur w obrębie oka. Może dotyczyć tęczówki (najczęstsze przypadki), naczyniówki, siatkówki lub ujścia nerwu wzrokowego. Stopień upośledzenia czynnościowego jest bardzo zróżnicowany. Wada ta może w ogóle nie wpływać na widzenie albo doprowadzić do całkowitej ślepoty. Spotyka się występowanie choroby jednostronnie lub obustronnie. Najlepiej poznanymi przyczynami colobomy są mutacja w sparowanym genie box 2 (PAX2) i alkoholowy zespół płodowy. Leczenie różni się w zależności od przypadku, ale niektóre opcje obejmują chirurgiczną naprawę ubytku tęczówki, założenie protezy tęczówki, użycie specjalistycznej kosmetycznej soczewki kontaktowej oraz korekcję refrakcji za pomocą soczewek kontaktowych, okularów lub operacji laserowej (Alsomiry i in., 2019).

Kolejną wadą rozwojową jest całkowity brak tęczówki, czyli aniria, która zwykle występuje obustronnie. Anirii mogą towarzyszyć inne anomalie gałki ocznej, na przykład niedorozwój plamki i nerwu wzrokowego, zaćma, zmiany rogówkowe, oczopląs, niedowidzenie i powiększenie oka. Choroba może poważnie upośledzać wzrok i wchodzić w skład takich zespołów, jak zespół WAGR (zespół Wilmsa i aniria) i zespół Gillespiego. Do anirii najczęściej dochodzi na skutek mutacji genu PAX6. Istnieją zarówno dziedziczne, jak i sporadyczne formy anirii, przy czym większość dziedziczona jest autosomalnie dominująco. Rzadko zdarzają się przypadki autosomalnej recesywnej anirii, czego przykładem jest zespół Gillespiego. Zespół WAGR może wynikać ze sporadycznej mutacji genu guza Wilmsa 1 (WT1) (Galvis-Blanco i in., 2019; Hall i in., 2019; Lee i in., 2021; Wawrocka i Krawczyński, 2018).

Najczęstszą wrodzoną anomalią nerwu wzrokowego jest hipoplazja nerwu wzrokowego (ONH). Dochodzi do niej na skutek nieprawidłowego rozwoju aksonów nerwu wzrokowego. Często wiąże się z endokrynopatiami. W około 75% przypadków ONH występuje niedoczynność przysadki spowodowana dysfunkcją podwzgórza. Inne zaburzenia endokrynologiczne obejmują podwyższone stężenie prolaktyny w surowicy, niedobór hormonu wzrostu, niedoczynność tarczycy, niedobór hormonu adrenokortykotropowego i moczówkę prostą. ONH może też towarzyszyć innym nieprawidłowościom rozwojowym oczu i mózgu. Hipoplazję rozpoznaje się na podstawie badania dna oka, chociaż trudno jest precyzyjnie przewidzieć ostrość wzroku na podstawie obserwacji wielkości nerwu wzrokowego. Ostrość wzroku jest bowiem ściśle związana z integralnością włókien plamkowych. Znaczna część przypadków ma możliwe do zidentyfikowania przyczyny genetyczne, obejmujące zazwyczaj mutacje de novo, głównie genu SOX2 (Chen i in., 2017; Kaur i in., 2013).

Wrodzona zaćma jest zmętnieniem soczewki obecnym po urodzeniu. Niektóre typy zaćmy wrodzonej są związane z innymi, bardziej rozległymi nieprawidłowościami oczu, podczas gdy inne występują jako izolowane wady wrodzone. Zaćmie wrodzonej może towarzyszyć również aniria, dysgeneza przedniego odcinka. Istnieje wiele przyczyn zaćmy wrodzonej, w tym zaburzenia genetyczne i metaboliczne, infekcje, ekspozycja na teratogen w okresie embriogenezy. Zidentyfikowano geny, których mutacja prowadzi do rozwoju zaćmy wrodzonej. Należą do nich: CRYGC, CRYBB2 i CRYGA, GJA8 oraz EPHA2. Większość przypadków zaćmy wrodzonej leczy się chirurgicznym usunięciem zmętniałej soczewki (Astiazarán i in., 2018; Li i in., 2019).

Wrodzone zmętnienie rogówki jest zaburzeniem rozwojowym związanym z dystrofiami rogówki, dysgenезją przedniego odcinka rogówki, infekcjami, jaskrą wrodzoną, urazem porodowym, zaburzeniami metabolicznymi, wadami nabłonka tylnego rogówki, małopłytkowością i niektórymi zespołami rozwojowymi, takimi jak zespół Axenfelda-Riegera (ARS). Zespół ten jest spowodowany nieprawidłową migracją komórek grzebienia nerwowego (NC) podczas wczesnej embriogenezy. ARS powiązane z mutacjami w kilku chromosomach (4, 6, 9, 13, 18 i 21), w tym, wpływającymi na ekspresję genów, takich jak Forkhead-Like 7 (FKHL7) na chromosomie 6p25 czy PITX2 w chromosomie 4q25. Około 40% do 70% przypadków ARS koreluje z mutacjami w FOXC1 i PITX2, odpowiednio na chromosomach 6p25 i 4q25 (Alward, 2000; Mirzayans i in., 2000).

Przy uwzględnieniu morfologii możemy wyróżnić zmętnienie centralne, obwodowe, rozproszone. Może ono dotyczyć jednego lub obu oczu. Leczenie na ogół obejmuje zabieg chirurgiczny, a penetrująca keratoplastyka jest jedną z najczęstszych technik operacyjnych. Postępowanie takie zapobiega niedowidzeniu i nieodwracalnym zaburzeniom wzroku (Zamora i Salini, 2020).

Podwyższone wartości ciśnienia wewnątrzgałkowego zdiagnozowane w pierwszym roku życia są rozpoznawane jako jaskra wrodzona. W około 10% przypadków powoduje ona ślepotę. Jaskrze wrodzonej często towarzyszą łuszczyca, skurcz powiek i światłowstręt. Obrzęk zrębu może prowadzić do zmętnienia rogówki. Etiologia pierwotnej jaskry wrodzonej jest nieznaną, ale czynniki ryzyka obejmują płęć męską i występowanie rodzinne. Większość przypadków jest sporadyczna, ale istnieją również formy dziedziczne autosomalnie recesywnie. Pierwotny defekt molekularny leżący u podstaw większości przypadków PCG zidentyfikowano jako mutacje w genie cytochromu P4501B1 (CYP1B1) (Sarfarazi i Stoilov, 2000). Postępowanie terapeutyczne koncentruje się na obniżaniu ciśnienia wewnątrzgałkowego przy zastosowaniu goniotomii lub trabekulektomii jako najczęściej stosowanych technik chirurgicznych. W opornych przypadkach należy rozważyć trabekulektomię

z użyciem mitomycyny C, a w ostateczności – zastosować cykloablację. Farmakoterapia pomaga w obniżaniu ciśnienia przed operacją co zwiększa efekt zabiegów chirurgicznych. Typowe terapie farmakologiczne obejmują stosowanie inhibitorów anhidrazy węglanowej, beta-blokerów, analogów prostaglandyn oraz leków złożonych (Mohamed i in., 2018).

6. Wnioski

W rozwoju oka ogromną rolę odgrywają liczne oddziaływania indukcyjne. Omówione tutaj prace pokazują złożoność procesu rozwoju narządu wzroku, uwzględniają bowiem cały wachlarz biorących w nim udział regulatorów. Jednak dokładne poznanie tego niezwykle skomplikowanego zagadnienia będzie wymagało jeszcze wielu badań.

Identyfikacja czynników transkrypcyjnych potrzebnych do rozwoju oka pozwala na zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw morfogenezy i różnicowania poszczególnych struktur narządu wzroku oraz molekularnych podstaw dziedzicznych zaburzeń. Poznanie mutacji genowych poszczególnych struktur narządu wzroku, skutkujących ich defektami, umożliwi nie tylko lepsze zrozumienie ich morfogenezy, ale pozwala również wyjaśnić patogenezę wrodzonych zaburzeń struktur oka. Ponadto zrozumienie przebiegu prawidłowej embriogenezy może pomóc w kontroli choroby i wyborze opcji terapii. Duże nadzieje pokładane są także w leczeniu z wykorzystaniem komórek macierzystych.

Bibliografia

- Alsomiry A.S., Gregory-Evans C.Y., Gregory-Evans K. 2019. An update on the genetics of ocular coloboma. *Human Genetics* 138, str. 865–880. DOI: [10.1007/s00439-019-02019-3](https://doi.org/10.1007/s00439-019-02019-3).
- Alward W.L. 2000. Axenfeld-Rieger syndrome in the age of molecular genetics. *American Journal of Ophthalmology* 130(1), str. 107–15. DOI: [10.1016/s0002-9394\(00\)00525-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9394(00)00525-0).
- Antosova B., Smolikova J., Klimova L., Lachova J., Bendova M., Kozmikowa I., Machon O., Kozmik Z. 2016. The gene regulatory network of lens induction is wired through meis-dependent shadow enhancers of Pax6. *Public Library of Science Genetics*. DOI: [10.1371/journal.pgen.1006441](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006441).
- Argente J., Chowen J.A., Perez-Jurado L.A., Frystyk J., Oxvig C. 2017. One level up: abnormal proteolytic regulation of IGF activity plays a role in human pathophysiology. *EMBO Molecular Medicine* 9, str. 1338–1345. DOI: [10.15252/emmm.201707950](https://doi.org/10.15252/emmm.201707950).
- Astiazarán M.C., García-Montaño L.A., Sánchez-Moreno F., Matiz-Moreno H., Zenteno J.C. 2018. Next generation sequencing-based molecular diagnosis in familial congenital cataract expands the mutational spectrum in known congenital cataract genes. *American Journal of Medical Genetics Part A* 176(12), str. 2637–2645. DOI: [10.1002/ajmg.a.40524](https://doi.org/10.1002/ajmg.a.40524).
- Azuma N., Tadokoro K., Asaka A., Yamada M., Yamaguchi Y., Handa H., Matsushima S., Watanabe T., Kohsaka S., Kida Y., Shiraishi T., Ogura T., Shimamura K., Nakafuku M. 2019. The Pax6 isoform bearing an alternative spliced exon promotes the development of the neural retinal structure. *Human Molecular Genetics* 14, str. 735–745. DOI: [10.1093/hmg/ddi069](https://doi.org/10.1093/hmg/ddi069).
- Azzam D., Bordoni B. 2020. Embryology, optic fissure. *StatPearls Publishing LLC*. Dostępne online: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554433/ (dostęp: 13.03.2021).
- Baker L.R., Weasner B.M., Nagel A., Neuman S.D., Bashirullah A., Kumar J.P. 2018. Eyeless/Pax6 initiates eye formation non-autonomously from the peripodial epithelium. *Development* 145. DOI: [10.1242/dev.163329](https://doi.org/10.1242/dev.163329).
- Bakrania P., Ugur Iseri S.A., Wyatt A.W., Bunyan D.J., Lam W.W., Salt A., Ramsay J., Robinson D.O., Ragge N.K. 2010. Sonic hedgehog mutations are an uncommon cause of developmental eye anomalies. *American Journal of Medical Genetics Part A* 152A, str. 1310–1313. DOI: [10.1002/ajmg.a.33239](https://doi.org/10.1002/ajmg.a.33239).
- Barr F.G., Nauta L.E., Davis R.J., Schäfer B.W., Nycum L.M., Biegel J.A. 1996. In vivo amplification of the PAX3-FKHR and PAX7-FKHR fusion genes in alveolar rhabdomyosarcoma. *Human Molecular Genetics* 5, str. 15–21. DOI: [10.1093/hmg/5.1.15](https://doi.org/10.1093/hmg/5.1.15).
- Bartel H. 2017. *Embriologia. Podręcznik dla studentów medycyny*. PZWL Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa.
- Bassett E.A., Williams T., Zacharias A.L., Gage P.J., Fuhrmann S., West-Mays J.A. 2010. AP-2 α knockout mice exhibit optic cup patterning defects and failure of optic stalk morphogenesis. *Human Molecular Genetics* 19, str. 1791–1804. DOI: [10.1093/hmg/ddq060](https://doi.org/10.1093/hmg/ddq060).
- Bassnett S. 1995. The fate of the Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum during lens fiber cell differentiation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 36, str. 1793–1803.
- Beebe D.C., Silver M.H., Belcher K.S., van Wyk J.J., Svoboda M.E., Zelenka P.S. 1987. Lentropin, a protein that controls lens fiber formation, is related functionally and immunologically to the insulin-like growth factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84, str. 2327–2330. DOI: [10.1073/pnas.84.8.2327](https://doi.org/10.1073/pnas.84.8.2327).
- Belecky-Adams T.L., Adler R., Beebe D.C. 2002. Bone morphogenetic protein signaling and the initiation of lens fiber cell differentiation. *Development* 129, str. 3795–3802.

- Belgacem Y.H., Hamilton A.M., Shim S., Spencer K.A., Borodinsky L.N. 2016. The many hats of sonic hedgehog signaling in nervous system development and disease. *Journal of Developmental Biology* 4(4), str. 35. DOI: [10.3390/jdb4040035](https://doi.org/10.3390/jdb4040035).
- Bertrand N., Castro D.S., Guillemot F. 2002. Proneural genes and the specification of neural cell types. *Nature Reviews Neuroscience* 3, str. 517–530. DOI: [10.1038/nrn874](https://doi.org/10.1038/nrn874).
- Bielańska-Osuchowska Z. 2004. *Zarys organogenezy. Różnicowanie się komórek w narządy*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Blaess S., Szabó N., Haddad-Tóvölli R., Zhou X., Álvarez-Bolado G. 2015. Sonic hedgehog signaling in the development of the mouse hypothalamus. *Frontiers in Neuroanatomy* 8, str. 156. DOI: [10.3389/fnana.2014.00156](https://doi.org/10.3389/fnana.2014.00156).
- Blake J.A., Ziman M.R. 2014. Pax genes: regulators of lineage specification and progenitor cell maintenance. *Development* 141, str. 737–751. DOI: [10.1242/dev.091785](https://doi.org/10.1242/dev.091785).
- Blixt O., Mahlapuu M., Aitola M., Pelto-Huikko M., Enerbäck S., Carlson P. 2000. A forkhead gene, FoxE3, is essential for lens epithelial proliferation and closure of the lens vesicle. *Genes and Development* 14(2), str. 245–254.
- Boswell B.A., Lein P.J., Musil L.S. 2008. Cross-talk between fibroblast growth factor and bone morphogenetic proteins regulates gap junction-mediated intercellular communication in lens cells. *Molecular Biology of the Cell* 19, str. 2631–2641. DOI: [10.1091/mbc.E08-02-0124](https://doi.org/10.1091/mbc.E08-02-0124).
- Boswell B.A., Overbeek P.A., Musil L.S. 2008. Essential role of BMPs in FGF-induced secondary lens fiber differentiation. *Developmental Biology* 324, str. 202–212. DOI: [10.1016/j.ydbio.2008.09.003](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.09.003).
- Bringmann A., Pannicke T., Grosche J., Francke M., Wiedemann P., Skatchkov S.N., Osborne N.N., Reichenbach A. 2006. Muller cells in the healthy and diseased retina. *Progress in Retinal and Eye Research* 25, str. 397–424. DOI: [10.1016/j.preteyeres.2006.05.003](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2006.05.003).
- Cain S., Martinez G., Kokkinos M.I., Turner K., Richardson R.J., Abud H.E., Huelsken J., Robinson M. 2008. Differential requirement for beta-catenin in epithelial and fiber cells during lens development. *Developmental Biology* 321, str. 420–433. DOI: [10.1016/j.ydbio.2008.07.002](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.07.002).
- Carlson B. 2018. *Human Embryology and Developmental Biology*. Elsevier Books, Amsterdam.
- Cavodeassi F., Creuzet S., Etchevers H.C. 2019. The hedgehog pathway and ocular developmental anomalies. *Human Genetics* 138, str. 17–936. DOI: [10.1007/s00439-018-1918-8](https://doi.org/10.1007/s00439-018-1918-8).
- Chamberlain C.G., McAvoy J.W. 1989. Induction of lens fibre differentiation by acidic and basic fibroblast growth factor (FGF). *Growth Factors* 1, str. 125–134. DOI: [10.3109/08977198909029122](https://doi.org/10.3109/08977198909029122).
- Chamberlain C.G., McAvoy J.W. 1997. Fiber differentiation and polarity in the mammalian lens: a key role for FGF. *Progress in Retinal and Eye Research* 16, str. 443–478.
- Chang J.K., Huang Y.H., Cunningham C.M., Han K.Y., Chang M., Seiki M., Zhou Z., Azar D.T. 2016. Matrix metalloproteinase 14 modulates signal transduction and angiogenesis in the cornea. *Survey of Ophthalmology* 61(4), str. 478–97. DOI: [10.1016/j.survophthal.2015.11.006](https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2015.11.006).
- Chauhan B.K., Yang Y., Cveková K., Cvekl A. 2004. Functional Properties of Natural Human PAX6 and PAX6(5a) Mutants. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 45, str. 385–392. DOI: [10.1167/iovs.03-0968](https://doi.org/10.1167/iovs.03-0968).
- Chen C.A., Yin J., Lewis R.A., Schaaf C.P. 2017. Genetic causes of optic nerve hypoplasia. *Journal of Medical Genetics* 54(7), str. 441–449. DOI: [10.1136/jmedgenet-2017-104626](https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2017-104626).
- Chen F., Mrock L.K., Ireland M.E. 2001. A role for endogenous TGFalpha and associated signaling pathways in the differentiation of lens fiber cells. *Journal of Cellular Physiology* 186, str. 288–297. DOI: [10.1002/1097-4652\(200002\)186:2<288::AID-JCP1031>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1097-4652(200002)186:2<288::AID-JCP1031>3.0.CO;2-H).

- Chen L., Liu W., Zhao D., Schultz K.M., Sasman A., Liu T., Zhang Z., Gage P.J., Kume T. 2017. Foxc1 and Foxc2 in the neural crest are required for ocular anterior segment development seungwoon seo. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 58(3), str. 1368–1377. DOI: [10.1167/iovs.16-21217](https://doi.org/10.1167/iovs.16-21217).
- Chen Q., Ash J.D., Branton P., Fromm L., Overbeek P.A. 2002. Inhibition of crystallin expression and induction of apoptosis by lens-specific E1A expression in transgenic mice. *Oncogene* 21, str. 1028–1037. DOI: [10.1038/sj.onc.1205050](https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205050).
- Chen Q., Dowhan D.H., Liang D., Moore D.D., Overbeek P.A. 2002. CREB-binding protein/p300 co-activation of crystallin gene expression. *Journal of Biological Chemistry* 277, str. 24081–24089. DOI: [10.1074/jbc.M201821200](https://doi.org/10.1074/jbc.M201821200).
- Chiang C., Litingtung Y., Lee E., Young K.E., Corden J.L., Westphal H., Beachy P.A. 1996. Cyclopia and defective axial patterning in mice lacking Sonic hedgehog gene function. *Nature* 383, str. 407–413. DOI: [10.1038/383407a0](https://doi.org/10.1038/383407a0).
- Civil A., van Genesen S.T., Lubsen N.H. 2002. C-Maf the γ D-crystallin Maf-responsive element and growth factor regulation. *Nucleic Acids Research* 30, str. 975–982. DOI: [10.1093/nar/30.4.975](https://doi.org/10.1093/nar/30.4.975).
- Cong F., Schweizer L., Varmus H. 2004. Wnt signals across the plasma membrane to activate the beta-catenin pathway by forming oligomers containing its receptors, Frizzled and LRP. *Development* 131, str. 5103–5115. DOI: [10.1242/dev.01318](https://doi.org/10.1242/dev.01318).
- Conover C.A., Oxvig C. 2017. PAPP-A: a promising therapeutic target for healthy longevity. *Aging Cell* 16, str. 205–209. DOI: [10.1111/acer.12564](https://doi.org/10.1111/acer.12564).
- Coulombre J.L., Coulombre A.J. 1963. Lens development: fiber elongation and lens orientation. *Science* 42 (3598), str. 1489–1490. DOI: [10.1126/science.142.3598.1489](https://doi.org/10.1126/science.142.3598.1489).
- Creuzet S., Etchevers H.C. 2019. The hedgehog pathway and ocular developmental anomalies Florencia Cavodeassi. *Human Genetics* 138, str. 917–936. DOI: [10.1007/s00439-018-1918-8](https://doi.org/10.1007/s00439-018-1918-8).
- Cuevas-Covarrubias S.A. 2017. Inherited Congenital Cataract: A Guide to Suspect the Genetic Etiology in the Cataract Genesis Messina-Baas. *Molecular Syndromology* 8, str. 58–78. DOI: [10.1159/000455752](https://doi.org/10.1159/000455752).
- Cunha D.L., Arno G., Corton M., Moosajee M. 2019. The Spectrum of PAX6 mutations and genotype-phenotype correlations in the eye. *Genes* 10 (12), nr artykułu 1050. DOI: [10.3390/genes10121050](https://doi.org/10.3390/genes10121050).
- Cvekl A., Ashery-Padan R. 2014. The cellular and molecular mechanisms of vertebrate lens development. *Development* 141, str. 4432–4447. DOI: [10.1242/dev.107953](https://doi.org/10.1242/dev.107953).
- Cvekl A., McGreal R., Wei Liu W. 2015. Lens development and crystallin gene expression. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 134, str. 129–167. DOI: [10.1016/bs.pmbts.2015.05.001](https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.05.001).
- Cvekl A., Mitton K.P. 2010. Epigenetic regulatory mechanisms in vertebrate eye development and disease. *Heredity* 105, str. 135–151. DOI: [10.1038/hdy.2010.16](https://doi.org/10.1038/hdy.2010.16).
- Cvekl A., Wang W.L. 2009. Retinoic acid signaling in mammalian eye development. *Experimental Eye Research* 89, str. 280–291. DOI: [10.1016/j.exer.2009.04.012](https://doi.org/10.1016/j.exer.2009.04.012).
- Danno H., Michiue T., Hitachi K., Yukita A., Ishiura S., Asashima M. 2008. Molecular links among the causative genes for ocular malformation: Otx2 and Sox2 coregulate Rax expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105, str. 5408–5413. DOI: [10.1073/pnas.0710954105](https://doi.org/10.1073/pnas.0710954105).
- de longh R.U., Chen Y., Kokkinos M.I., McAvoy J.W. 2004. BMP and activin receptor expression in lens development. *Molecular Vision* 10, str. 566–576.

- Dworkin S., Boglev Y., Owens H., Goldie S.J., Conway .S.J. 2016. The role of sonic hedgehog in craniofacial patterning, Morphogenesis and Cranial Neural Crest Survival. *Journal of Developmental Biology* 4(3), nr artykułu 24. DOI: [10.3390/jdb4030024](https://doi.org/10.3390/jdb4030024).
- Eccles M.R., Schimmenti L.A. 1999. Renal-coloboma syndrome: a multi-system developmental disorder caused by PAX2 mutations. *Clinical Genetics* 56, str. 01–09. DOI: [10.1034/j.1399-0004.1999.560101.x](https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.1999.560101.x).
- Eghrari A.O., Riazuddin A., Gottsch J.D. 2015. Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 134, str. 7–23. DOI: [10.1016/bs.pmbts.2015.04.001](https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.04.001).
- Eghrari A.O., Riazuddin S.A., Gottsch J.D. 2015. Overview of the cornea: structure, function, and development. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 134, str. 7–23. DOI: [10.1016/bs.pmbts.2015.04.001](https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.04.001).
- Epstein J.A. 1996. Pax3, Neural Crest and Cardiovascular Development. *Trends in Cardiovascular Medicine* 6, str. 255–260. DOI: [10.1016/S1050-1738\(96\)00110-7](https://doi.org/10.1016/S1050-1738(96)00110-7).
- Faber S.C., Robinson M.L., Makarenkova H.P., Lang R.A. 2002. Bmp signaling is required for development of primary lens fiber cells. *Development* 129, str. 3727–3737.
- Fuhrmann S. 2010. Eye morphogenesis and patterning of the optic vesicle. *Current Topics in Developmental Biology* 93, str. 61–84. DOI: [10.1016/B978-0-12-385044-7.00003-5](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385044-7.00003-5).
- Fuhrmann S. 2008. Wnt signaling in eye organogenesis. *Organogenesis* 4, str. 60–67. DOI: [10.4161/org.4.2.5850](https://doi.org/10.4161/org.4.2.5850).
- Galvis-Blanco S.J., Arias-Flórez J.S., Contreras-García G.A. 2019. WAGR syndrome by heterozygous deletion of the WT1 gene. Pediatric case report. *Archivos Argentinos de Pediatría* 117(5), str. e505–e508. DOI: [10.5546/aap.2019.e505](https://doi.org/10.5546/aap.2019.e505).
- Geng X., Speirs C., Lagutin O., Inbal A., Liu W., Solnica-Krezel .L, Jeong Y., Epstein D.J., Oliver G. 2008. Haploinsufficiency of Six3 fails to activate Sonic hedgehog expression in the ventral forebrain and causes holoprosencephaly. *Developmental Cell* 15, str. 236–247. DOI: [10.1016/j.devcel.2008.07.003](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.07.003).
- Glaser T., Jepeal L., Edwards J.G., Young S.R., Favor J., Maas R.L. 1994. PAX6 gene dosage effect in a family with congenital cataracts, aniridia, anophthalmia and central nervous system defects. *Nature Genetics* 7, str. 463–471. DOI: [10.1038/ng0894-463](https://doi.org/10.1038/ng0894-463).
- Goring D.R., Breitman M.L., Tsui L.C. 1992. Temporal regulation of six crystallin transcripts during mouse lens development. *Experimental Eye Research* 54(5), str. 785–795. DOI: [10.1016/0014-4835\(92\)90034-p](https://doi.org/10.1016/0014-4835(92)90034-p).
- Hagglund A.C., Dahl L., Carlsson L. 2011. Lhx2 is required for patterning and expansion of a distinct progenitor cell population committed to eye development. *Public Library of Science one* 6, nr artykułu e23387. DOI: [10.1371/journal.pone.0023387](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023387).
- Hall H.N., Williamson K.A., FitzPatrick D.R. 2019. The genetic architecture of aniridia and Gillespie syndrome. *Human Genetics* 138, str. 881–898. DOI: [10.1007/s00439-018-1934-8](https://doi.org/10.1007/s00439-018-1934-8).
- Hara S., Kawasaki S., Yoshihara M., Winegarner A., Busch C., Tsujikawa M., Nishida K. 2019. Transcription factor TFAP2B up-regulates human corneal endothelial cell-specific genes during corneal development and maintenance. *The Journal of Biological Chemistry* 294(7), str 2460–2469. DOI: [10.1074/jbc.RA118.005527](https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.005527).
- Harding P., Moosajee M. 2019. The Molecular Basis of Human Anophthalmia and Microphthalmia. *Journal of Developmental Biology* 7(3), nr artykułu 16. DOI: [10.3390/jdb7030016](https://doi.org/10.3390/jdb7030016).
- Hatakeyama J., Kageyama R. 2004. Retinal cell fate determination and bHLH factors. *Seminars in Cell Developmental Biology* 15, str. 83–89. DOI: [10.1016/j.semcdb.2003.09.005](https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2003.09.005).

- Haverkamp S., Grunert U., Wassle H. 2000. The cone pedicle, a complex synapse in the retina. *Neuron* 27, str. 85–95. DOI: [10.1016/s0896-6273\(00\)00011-8](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)00011-8).
- Hawse J.R., DeAmicis-Tress C., Cowell T.L., Kantorow M. 2006. Identification of global gene expression differences between human lens epithelial and cortical fiber cells reveals specific genes and their associated pathways important for specialized lens cell functions. *Molecular Vision* 11, str. 274–283.
- Hayashi S., Okamoto N., Makita Y., Hata A., Imoto I., Inazawa J. 2008. Heterozygous deletion at 14q22.1-q22.3 including the BMP4 gene in a patient with psychomotor retardation, congenital corneal opacity and feet polysyndactyly. *American Journal of Medical Genetics Part A* 146A, str. 2905–2910. DOI: [10.1002/ajmg.a.32519](https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32519).
- Heavner W., Pevny L. 2012. Eye development and retinogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4(12), nr artykułu a008391. DOI: [10.1101/cshperspect.a008391](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008391).
- Hever A.M., Williamson K.A., van Heyningen V. 2006. Developmental malformations of the eye: The role of PAX6, SOX2 and OTX2. *Clinical Genetics* 69, str. 459–470. DOI: [10.1111/j.1399-0004.2006.00619.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2006.00619.x).
- Horsford D.J., Nguyen M.T., Sellar G.C., Kothary R., Arnheiter H., McInnes R.R. 2005. Chx10 repression of Mitf is required for the maintenance of mammalian neuroretinal identity. *Development* 132, str. 177–187. DOI: [10.1242/dev.01571](https://doi.org/10.1242/dev.01571).
- Hoth C.F., Milunsky A., Lipsky N., Sheffer R., Clarren S.K., Baldwin C.T. 1993. Mutations in the paired domain of the human PAX3 gene cause Klein-Waardenburg syndrome (WS-III) as well as Waardenburg syndrome type I (WS-I). *American Journal of Human Genetics* 52, str. 455–462.
- Huang J., Rajagopal R., Liu Y., Dattilo L.K., Shaham O., Ashery-Padan R., Beebe D.C. 2011. The mechanism of lens placode formation: A case of matrix-mediated morphogenesis. *Developmental Biology* 355, str. 32–42. DOI: [10.1016/j.ydbio.2011.04.008](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2011.04.008).
- Hyer J., Mima T., Mikawa T. 2009. FGF1 patterns the optic vesicle by directing the placement of the neural retina domain. *Development* 125(5), 869–877.
- Ireland M.E., Mroczek L.K. 2004. Expression and activation of the epidermal growth factor receptor in differentiating cells of the developing and post-hatching chicken lens. *Experimental Eye Research* 79, str. 305–312. DOI: [10.1016/j.exer.2004.05.012](https://doi.org/10.1016/j.exer.2004.05.012).
- Izumi K., Kurosaka D., Iwata T., Oguchi Y., Tanaka Y., Mashima Y., Tsubota K. 2006. Involvement of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in corneal fibroblasts during corneal wound healing. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 47(2), str. 591–598. DOI: [10.1167/iovs.05-0097](https://doi.org/10.1167/iovs.05-0097).
- Jadhav A.P., Roesch K., Cepko C.L. 2009. Development and neurogenic potential of Muller glial cells in the vertebrate retina. *Progress in Retinal and Eye Research* 28, str. 249–262. DOI: [10.1016/j.preteyeres.2009.05.002](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2009.05.002).
- Jones C., Chen P. 2007. Planar cell polarity signaling in vertebrates. *Bioessays* 29, str. 120–132. DOI: [10.1002/bies.20526](https://doi.org/10.1002/bies.20526).
- Jura C., Klag J. 2005. Podstawy embryologii zwierząt i człowieka. PWN, Warszawa, tom 2, wyd. I.
- Kamachi Y., Cheah K.S.E., Kondoh H. 1999. Mechanism of regulatory target selection by the SOX high-mobility group domain proteins as revealed by comparison of SOX1/SOX2/SOX3 and SOX9. *Molecular and Cellular Biology* 19, str. 107–120. DOI: [10.1128/mcb.19.1.107](https://doi.org/10.1128/mcb.19.1.107).
- Kamachi Y., Sockanathan S., Liu Q., Breitman M., Lovell-Badge R., Kondoh H. 1995. Involvement of SOX proteins in lens-specific activation of crystallin genes. *The European Molecular Biology Organization Journal* 14, str. 3510–3519.

- Kamachi Y., Uchikawa M., Collignon J., Lovell-Badge R., Kondoh H. 1998. Involvement of Sox1, 2 and 3 in the early and subsequent molecular events of lens induction. *Development* 125, str. 2521–2532.
- Kamachi Y., Uchikawa M., Tanouchi A., Sekido R., Kondoh H. 2001. Pax6 and SOX2 form a co-DNA-binding partner complex that regulates initiation of lens development. *Genes and Development* 15 (10), str. 1272–1286. DOI: [10.1101/gad.887101](https://doi.org/10.1101/gad.887101).
- Karner C., Wharton K.A., Carroll T.J. 2006. Planar cell polarity and vertebrate organogenesis. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 17, str. 194–203. DOI: [10.1016/j.semcdb.2006.05.003](https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2006.05.003).
- Kaur S., Jain S., Sodhi H.B., Rastogi A., Kamlesh. 2013. Optic nerve hypoplasia. *Oman Journal of Ophthalmology* 6 (2), str. 77–82. DOI: [10.4103/0974-620X.116622](https://doi.org/10.4103/0974-620X.116622).
- Kidson S.H., Kume T., Deng K., Winfrey V., Hogan B.L. 1999. The forkhead/winged-helix gene, Mf1, is necessary for the normal development of the cornea and formation of the anterior chamber in the mouse eye. *Developmental Biology* 211, str. 306–322. DOI: [10.1006/dbio.1999.9314](https://doi.org/10.1006/dbio.1999.9314).
- Kim J.I., Li T., Ho I.C., Grusby M.J., Glimcher L.H. 1999. Requirement for the c-Maf transcription factor in crystallin gene regulation and lens development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, str. 3781–3785. DOI: [10.1073/pnas.96.7.3781](https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.3781).
- Klok E., Lubsen N.H., Chamberlain C.G., McAvoy J.W. 1998. Induction and maintenance of differentiation of rat lens epithelium by FGF-2, insulin and IGF-1. *Experimental Eye Research* 67, str. 425–431. DOI: [10.1006/exer.1998.0534](https://doi.org/10.1006/exer.1998.0534).
- Kokkinos M.I., Brown H.J., de Longh R.U. 2007. Focal adhesion kinase (FAK) expression and activation during lens development. *Molecular Vision* 13, str. 418–430.
- Kondoh H., Uchikawa M., Kamachi Y. 2004. Interplay of Pax6 and SOX2 in lens development as a paradigm of genetic switch mechanisms for cell differentiation. *The International Journal of Developmental Biology* 48 (8–9), str. 819–827. DOI: [10.1387/ijdb.041868hk](https://doi.org/10.1387/ijdb.041868hk).
- Koo H.Y., Kume T. 2013. FoxC1-dependent regulation of vascular endothelial growth factor signaling in corneal avascularity. *Trends in Cardiovascular Medicine* 23(1), str. 1–4. DOI: [10.1016/j.tcm.2012.08.002](https://doi.org/10.1016/j.tcm.2012.08.002).
- Köster R.W., Kühnlein R.P., Wittbrodt J. 2000. Ectopic Sox3 activity elicits sensory placode formation. *Mechanisms of Development* 95(1–2), str. 175–187. DOI: [10.1016/S0925-4773\(00\)00356-7](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(00)00356-7).
- Kozmik Z., Daube M., Frei E., Norman B., Kos L., Dishaw L.J., Moll N., Piatigorsky J. 2003. Role of Pax Genes in Eye Evolution: A Cnidarian PaxB Gene Uniting Pax2 and Pax6 Functions. *Developmental Cell* 5, str. 773–785. DOI: [10.1016/s1534-5807\(03\)00325-3](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(03)00325-3).
- Kumar A., Tiwari A.K. 2018. Molecular chaperone Hsp70 and its constitutively active form Hsc70 play an indispensable role during eye development of drosophila melanogaster. *Molecular Neurobiology* 55, str. 4345–4361. DOI: [10.1007/s12035-017-0650-z](https://doi.org/10.1007/s12035-017-0650-z).
- Kumar S., Dollé P., Ghyselinck N.B., Duester G. 2016. Endogenous retinoic acid signaling is required for maintenance and regeneration of cornea. *Experimental Eye Research* 154, str. 190–195. DOI: [10.1016/j.exer.2016.11.009](https://doi.org/10.1016/j.exer.2016.11.009).
- Lambert S.A., Jolma A., Campitelli L.F., Das P.K., Yin Y., Albu M., Chen X., Taipale J., Hughes T.R., Weirauch M.T. 2018. The Human Transcription Factors. *Cell* 172(4), str. 650–665. DOI: [10.1016/j.cell.2018.09.045](https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.045).
- Lang D., Chen F., Milewski R., Li J., Lu M.M., Epstein J.A. 2000. Pax3 is required for enteric ganglia formation and functions with Sox10 to modulate expression of c-ret. *The Journal of Clinical Investigation* 106, str. 963–971. DOI: [10.1172/JCI10828](https://doi.org/10.1172/JCI10828).
- Lang R.A. 2004. Pathways regulating lens induction in the mouse. *The International Journal of Developmental Biology* 48(8–9), str. 783–791. DOI: [10.1387/ijdb.041903rl](https://doi.org/10.1387/ijdb.041903rl).

- Le A.C., Musil L.S. 2001. FGF signaling in chick lens development. *Developmental biology* 233, str. 394–411. DOI: [10.1006/dbio.2001.0194](https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0194).
- Le T.T., Conley K.W., Brown N.L. 2009. Jagged 1 is necessary for normal mouse lens formation. *Developmental Biology* 328, str. 118–126. DOI: [10.1016/j.ydbio.2009.01.015](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.01.015).
- Lechtenberg R., Ferretti C. 1981. Ataxia with aniridia of Gillespie: a case report. *Neurology* 31, str. 95–97. DOI: [10.1212/wnl.31.1.95](https://doi.org/10.1212/wnl.31.1.95).
- Lee J., Suh Y., Jeong H., Kim G.-H., Byeon S.H., Han J., Lim H.T. 2021. Aberrant expression of PAX6 gene associated with classical aniridia: identification and functional characterization of novel noncoding mutations. *Journal of Human Genetics* 66, str. 333–338. DOI: [10.1038/s10038-020-00829-2](https://doi.org/10.1038/s10038-020-00829-2).
- Lee R.T., Zhao Z., Ingham P.W. 2016. Hedgehog signalling. *Development* 143(3), str. 367–372. DOI: [10.1242/dev.120154](https://doi.org/10.1242/dev.120154).
- Li J., Chen X., Yan Y., Yao K. 2019. Molecular genetics of congenital cataracts. *Experimental Eye Research* 191, nr artykulu 107872. DOI: [10.1016/j.exer.2019.107872](https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.107872).
- Liu H., Mohamed O., Dufort D., Wallace V.A. 2003. Characterization of Wnt signaling components and activation of the Wnt canonical pathway in the murine retina. *Developmental Dynamics* 227, str. 323–334. DOI: [10.1002/dvdy.10315](https://doi.org/10.1002/dvdy.10315).
- Liu I.S., Chen J.D., Ploder L., Vidgen D., van der Kooy D., Kalnins V.I., McInnes R.R. 1994. Developmental expression of a novel murine homeobox gene (Chx10): Evidence for roles in determination of the neuroretina and inner nuclear layer. *Neuron* 13, str. 377–393. DOI: [10.1016/0896-6273\(94\)90354-9](https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90354-9).
- Liu J., Chamberlain C.G., McAvoy J.W. 1996. IGF enhancement of FGF-induced fibre differentiation and DNA synthesis in lens explants. *Experimental Eye Research* 63, str. 621–629. DOI: [10.1006/exer.1996.0156](https://doi.org/10.1006/exer.1996.0156).
- Liu W., Lagutin O., Swindell E., Jamrich M., Oliver G. 2010. Neuroretina specification in mouse embryos requires Six3-mediated suppression of Wnt8b in the anterior neural plate. *The Journal of Clinical Investigation* 120, str. 3568–3577. DOI: [10.1172/JCI43219](https://doi.org/10.1172/JCI43219).
- Logan C.Y., Nusse R. 2004. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 20, str. 781–810. DOI: [10.1146/annurev.cellbio.20.010403.113126](https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.20.010403.113126).
- Lovicu F.J., McAvoy J.W. 1989. Structural analysis of lens epithelial explants induced to differentiate into fibres by fibroblast growth factor (FGF). *Experimental Eye Research* 49, str. 479–494. DOI: [10.1016/0014-4835\(89\)90056-0](https://doi.org/10.1016/0014-4835(89)90056-0).
- Lovicu F.J., McAvoy J.W. 2001. FGF-induced lens cell proliferation and differentiation is dependent on MAPK (ERK1/2) signalling. *Development* 128, str. 5075–5084.
- Lovicu F.J., McAvoy J.W. 2011. Understanding the role of growth factors in embryonic development: insights from the lens. *Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences* 366, str. 1204–1218. DOI: [10.1098/rstb.2010.0339](https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0339).
- Lu Q., Gore M., Zhang Q., Camenisch T., Boast S., Casagrande F., Lai C., Skinner M.K., Klein R., Matsushima G.K., Earp H.S., Poff S.P., Lemke G. 1999. Tyro-3 family receptors are essential regulators of mammalian spermatogenesis. *Nature* 398 (6729), str. 723–728. DOI: [10.1038/19554](https://doi.org/10.1038/19554).
- Lwigale P.Y. 2015. Corneal Development: Different Cells from a Common Progenitor. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 134, str. 43–59. DOI: [10.1016/bs.pmbts.2015.04.003](https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.04.003).
- Ma J., Lwigale P. 2019. Transformation of the transcriptomic profile of mouse periocular mesenchyme during formation of the embryonic cornea. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 60(2), str. 661–676. DOI: [10.1167/iovs.18-26018](https://doi.org/10.1167/iovs.18-26018).

- Macchia P.E., Lapi P., Krude H., Pirro M.T., Missero C., Chiovato L., Souabni A., Baserga M., Tassi V., Pinchera A., Fenzi G., Grüters A., Busslinger M., Di Lauro R. 1998. PAX8 mutations associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nature Genetics* 19, str. 83–86. DOI: [10.1038/ng0598-83](https://doi.org/10.1038/ng0598-83).
- MacDonald B.T., Tamai K., He X. 2009. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Developmental cell* 17, str. 9–26. DOI: [10.1016/j.devcel.2009.06.016](https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.06.016).
- Martinez G., Wijesinghe M., Turner K., Abud H.E., Takeeto M.M., Noda T., Robinson M.L., de longh R.U. 2009. Conditional mutations of beta-catenin and APC reveal roles for canonical Wnt signaling in lens differentiation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 50, str. 4794–4806. DOI: [10.1167/iovs.09-3567](https://doi.org/10.1167/iovs.09-3567).
- McAvoy J.W., Chamberlain C.G. 1989. Fibroblast growth factor (FGF) induces different responses in lens epithelial cells depending on its concentration. *Development* 107, str. 221–228.
- Medina-Martinez O., Amaya-Manzanares F., Liu C., Mendoza M., Shah R., Zhang L., Behringer R.R., Mahon K.A., Jamrich M. 2009. Cell-autonomous requirement for rx function in the mammalian retina and posterior pituitary. *Public Library of Science one* 4, nr artykułu e4513. DOI: [10.1371/journal.pone.0004513](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004513).
- Memi F., Zecevic N., Radonjić N. 2018. Multiple roles of Sonic Hedgehog in the developing human cortex are suggested by its widespread distribution. *Brain Structure and Function* 223(5), str. 2361–2375. DOI: [10.1007/s00429-018-1621-5](https://doi.org/10.1007/s00429-018-1621-5).
- Mglinets V.A. 2015. Genetics of lens development. *Russian Journal of Genetics* 51, str. 939–948. DOI: [10.1134/S1022795415080050](https://doi.org/10.1134/S1022795415080050).
- Mglinets V.A. 2015. Molecular genetics of development of cornea. *Russian Journal of Genetics* 51, str. 1–8.
- Mirzayans F., Gould D.B., Héon E., Billingsley G.D., Cheung J.C., Mears A.J., Walter M.A. 2000. Axenfeld-Rieger syndrome resulting from mutation of the FKHL7 gene on chromosome 6p25. *European Journal of human Genetics* 8(1), str. 71–74. DOI: [10.1038/sj.ejhg.5200354](https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200354).
- Mohamed T.H., Salman A.G., Elshinawy. 2018. Trabeculectomy with Ologen implant versus mitomycin C in congenital glaucoma secondary to Sturge Weber Syndrome. *International Journal of Ophthalmology* 11(2), str. 251–255. DOI: [10.18240/ijo.2018.02.12](https://doi.org/10.18240/ijo.2018.02.12).
- Nguyen M., Arnheiter H. 2000. Signaling and transcriptional regulation in early mammalian eye development: A link between FGF and MITF. *Development* 127, str. 3581–3591.
- Ninkovic J., Steiner-Mezzadri A., Jawerka M., Akinci U., Masserdotti G., Petricca S., Fischer J., von Holst A., Beckers J., Lie C.D., Petrik D., Miller E., Tang J., Wu J., Lefebvre V., Demmers J., Eisch A., Metzger D., Crabtree G., Irmeler M., Poot R., Götz M. 2013. The BAF complex interacts with Pax6 in adult neural progenitors to establish a neurogenic cross-regulatory transcriptional network. *Cell Stem Cell* 13, str. 403–418. DOI: [10.1016/j.stem.2013.07.002](https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.07.002).
- Nizankowska MH. 2010. *Okulistyka. Podstawy kliniczne*. PZWL Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa.
- Nusse R, Fuerer C, Ching W, Harnish K, Logan C, Zeng A, Berge DT Kalani Y. 2008. Wnt signaling and stem cell control. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. 73, str. 59–66. DOI: [10.1101/sqb.2008.73.035](https://doi.org/10.1101/sqb.2008.73.035).
- Nutt S.L., Busslinger M. 1999. Monoallelic expression of Pax5: a paradigm for the haploinsufficiency of mammalian Pax genes?. *Biological Chemistry* 380, str. 601–611. DOI: [10.1515/BC.1999.077](https://doi.org/10.1515/BC.1999.077).
- Paixão-Côrtes V.R., Salzano F.M., Bortolini M.C. 2013. Evolutionary History of Chordate PAX Genes: Dynamics of Change in a Complex Gene Family. *Public Library of Science one* 8(9). DOI: [10.1371/journal.pone.0073560](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073560).

- Piatigorsky J. 1981. Lens differentiation in vertebrates. A review of cellular and molecular features. *Differentiation* 19, str. 134–153. DOI: [10.1111/j.1432-0436.1981.tb01141.x](https://doi.org/10.1111/j.1432-0436.1981.tb01141.x).
- Plaisancié J., Ceroni F., Holt R., Zazo Seco C., Calvas P., Chassaing N., Ragge N.K. 1998. Genetics of anophthalmia and microphthalmia. Part 1: Non-syndromic anophthalmia/microphthalmia. *Human Genetics* 138(8–9), str. 799–830. DOI: [10.1007/s00439-019-01977-y](https://doi.org/10.1007/s00439-019-01977-y).
- Quintana-Urzaínqui I., Rodríguez-Moldes I., Candal E. 2014. Developmental, tract-tracing and immunohistochemical study of the peripheral olfactory system in a basal vertebrate: insights on Pax6 neurons migrating along the olfactory nerve. *Brain Structure and Function* 219, str. 85–104. DOI: [10.1007/s00429-012-0486-2](https://doi.org/10.1007/s00429-012-0486-2).
- Ragge N.K., Brown A.G., Poloschek C.M., Lorenz B., Henderson R.A., Clarke M.P., Russell-Eggitt I., Fielder A., Gerrelli D., Martínez-Barbera J.P., Ruddle P., Hurst J., Collin R.O., Salt A., Cooper S.T., Thompson P.J., Sisodiya S.M., Williamson K.A., FitzPatrick D.R., van Heyningen V., Hanson I.M. 2005. Heterozygous mutations of OTX2 cause severe ocular malformations. *American Journal of Human Genetics* 76, str. 1008–1022. DOI: [10.1086/430721](https://doi.org/10.1086/430721).
- Reza H.M., Yasuda K. 2004. Roles of maf family proteins in lens development. *Developmental Dynamics* 229(3), str. 440–448. DOI: [10.1002/dvdy.10467](https://doi.org/10.1002/dvdy.10467).
- Richardson N.A., Chamberlain C.G., McAvoy J.W. 1993. IGF-1 enhancement of FGF-induced lens fiber differentiation in rats of different ages. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 34, str. 3303–3312.
- Ring B.Z., Cordes S.P., Overbeek P.A., Barsh G.S. 2000. Regulation of mouse lens fiber cell development and differentiation by the Maf gene. *Development* 127, str. 307–317.
- Sadler T.W. 2018. *Langman's Medical Embryology*. Wolters Kluwer Health. Filadelfia, Pennsylvania.
- Saha A., Kizaki S., De D., Endo M., Kim K.K., Sugiyama H. 2016. Examining cooperative binding of Sox2 on DC5 regulatory element upon complex formation with Pax6 through excess electron transfer assay. *Nucleic Acids Research* 44(14), nr artykułu e125. DOI: [10.1093/nar/gkw478](https://doi.org/10.1093/nar/gkw478).
- Sang L., Collier H.A. 2009. Fear of commitment: Hes1 protects quiescent fibroblasts from irreversible cellular fates. *Cell Cycle* 8, str. 2161–2167. DOI: [10.4161/cc.8.14.9104](https://doi.org/10.4161/cc.8.14.9104).
- Saravanamuthu S.S., Gao C.Y., Zelenka P.S. 2009. Notch signaling is required for lateral induction of Jagged1 during FGF-induced lens fiber differentiation. *Developmental Biology* 332, str. 166–176. DOI: [10.1016/j.ydbio.2009.05.566](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2009.05.566).
- Sarfrazi M., Stoilov I. 2000. Molecular genetics of primary congenital glaucoma. *Eye* 14, str. 422–428. DOI: [10.1038/eye.2000.126](https://doi.org/10.1038/eye.2000.126).
- Sasamoto Y., Hayashi R., Park S.J., Saito-Adachi M., Suzuki Y., Kawasaki S., Quantock A.J., Nakai K., Tsujikawa M., Nishida K. 2016. PAX6 Isoforms, along with reprogramming factors, differentially regulate the induction of cornea-specific. *Scientific Reports* 6, nr artykułu 20807. DOI: [10.1038/srep20807](https://doi.org/10.1038/srep20807).
- Schwarz M., Cecconi F., Bernier G., Andrejewski N., Kammandel B., Wagner M., Gruss P. 2000. Spatial specification of mammalian eye territories by reciprocal transcriptional repression of Pax2 and Pax6. *Development* 127, str. 4325–4334.
- Slavotinek A. 2019. Genetics of anophthalmia and microphthalmia. Part 2: Syndromes associated with anophthalmia–microphthalmia. *Human Genetics* 138, str. 831–846. DOI: [10.1007/s00439-018-1949-1](https://doi.org/10.1007/s00439-018-1949-1).
- Slingsby C., Wistow G.J. 2014. Functions of crystallins in and out of lens: Roles in elongated and post-mitotic cells. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 115(1), str. 52–67. DOI: [10.1016/j.pbiomolbio.2014.02.006](https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2014.02.006).

- Smith O.S., Robinson M.L., Taketo M.M., Lang R.A., Ashery-Padan R. 2009. Pax6 is essential for lens fiber cell differentiation. *Development* 136(15), str. 2567–2578. DOI: [10.1242/dev.032888](https://doi.org/10.1242/dev.032888).
- St-Onge L., Sosa-Pineda B., Chowdhury K., Mansouri A., Gruss P. 1997. Pax6 is required for differentiation of glucagon-producing alpha-cells in mouse pancreas. *Nature* 387, str. 406–409. DOI: [10.1038/387406a0](https://doi.org/10.1038/387406a0).
- Stuard W.L., Titone R., Robertson D.M. 2020. The IGF/Insulin-IGFBP Axis in corneal development, wound healing, and disease. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)* 11, nr artykułu 24. DOI: [10.3389/fendo.2020.00024](https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00024).
- Sun M.R., Chung H.M., Matsuk V., Fink D.M., Stebbins M.J., Palecek S.P., Shusta E.V., Lipinski R.J. 2020. Sonic hedgehog signaling in cranial neural crest cells regulates microvascular morphogenesis in facial development. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 8, nr artykułu 590539. DOI: [10.3389/fcell.2020.590539](https://doi.org/10.3389/fcell.2020.590539).
- Tadjuidje E., Hegde R.S. 2013. The eyes absent proteins in development and disease. *Cellular and Molecular Life Sciences* 70(11), str. 1897–1913. DOI: [10.1007/s00018-012-1144-9](https://doi.org/10.1007/s00018-012-1144-9).
- Tassabehji M., Read A.P., Newton V.E., Harris R., Balling R., Gruss P., Strachan T. 1992. Waardenburg's syndrome patients have mutations in the human homologue of the Pax-3 paired box gene. *Nature* 355, str. 635–636. DOI: [10.1038/355635a0](https://doi.org/10.1038/355635a0).
- Tateishi Y., Matsumoto A., Kanie T., Hara E., Nakayama K., Nakayama K.I. 2012. Development of mice without Cip/Kip CDK inhibitors. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 427(2), str. 285–292. DOI: [10.1016/j.bbrc.2012.09.041](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.09.041).
- Tetreault N., Champagne M.P., Bernier G. 2009. The LIM homeobox transcription factor Lhx2 is required to specify the retina field and synergistically cooperates with Pax6 for Six6 trans-activation. *Developmental Biology* 327, str. 541–550. DOI: [10.1016/j.ydbio.2008.12.022](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2008.12.022).
- Titone R., Zhu M., Robertson D.M. 2019. Mutual regulation between IGF-1R and IGFBP-3 in human corneal epithelial cells. *Journal of Cellular Physiology* 234, str. 1426–1441. DOI: [10.1002/jcp.26948](https://doi.org/10.1002/jcp.26948).
- Titone R., Zhu M., Robertson D.M. 2018. Insulin mediates de novo nuclear accumulation of the IGF-1/insulin Hybrid Receptor in corneal epithelial cells. *Nature Scientific Reports* 8, nr artykułu 4378. DOI: [10.1038/s41598-018-21031-7](https://doi.org/10.1038/s41598-018-21031-7).
- Torres M., Gomez-Pardo E., Gruss P. 1996. Pax2 contributes to inner ear patterning and optic nerve trajectory. *Development* 122, str. 3381–3391.
- Treton J.A., Jacquemin E., Courtois Y., Jeanny J.C. 1991. Differential localization by in situ hybridization of specific crystallin transcripts during mouse lens development. *Differentiation* 47, str. 143–147. DOI: [10.1111/j.1432-0436.1991.tb00232.x](https://doi.org/10.1111/j.1432-0436.1991.tb00232.x).
- Valverde P., Obin M.S., Taylor A. 2004. Role of Gas6/Axl signaling in lens epithelial cell proliferation and survival. *Experimental Eye Research* 78(1), str. 27–37. DOI: [10.1016/j.exer.2003.10.002](https://doi.org/10.1016/j.exer.2003.10.002).
- van Amerongen R., Nusse R. 2009. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development* 136, str. 3205–3214. DOI: [10.1242/dev.033910](https://doi.org/10.1242/dev.033910).
- Van Raamsdonk C.D., Tilghman S.M. 2000. Dosage requirement and allelic expression of Pax6 during lens placode formation. *Development* 127, str. 5439–5448.
- Vegunta S., Patel B.C. 2020. *Optic Nerve Coloboma*. StatPearls Publishing. Dostępne online: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532877/ (dostęp: 13.03.2021).
- Vincent A.M., Feldman E.L. 2002. Control of cell survival by IGF signaling pathways. *Growth Hormone and IGF Research* 12, str. 193–197. DOI: [10.1016/S1096-6374\(02\)00017-5](https://doi.org/10.1016/S1096-6374(02)00017-5).

- Vogel-Hopker A., Momose T., Rohrer H., Yasuda K., Ishihara L., Rapaport D.H. 2000. Multiple functions of fibroblast growth factor-8 (FGF-8) in chick eye development. *Mechanisms of Development* 94, str. 25–36. DOI: [10.1016/s0925-4773\(00\)00320-8](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(00)00320-8).
- Walker H., Akula M., West-Mays J.A. 2020. Corneal development: Role of the periorbital mesenchyme and bidirectional signaling. *Experimental Eye Research* 201, nr artykułu 108231. DOI: [10.1016/j.exer.2020.108231](https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108231).
- Wallin J., Eibel H., Neubüser A., Wilting J., Koseki H., Balling R. 1996. Pax1 is expressed during development of the thymus epithelium and is required for normal T-cell maturation. *Development* 122, str. 23–30.
- Wang Q., McAvoy J.W., Lovicu F.J. 2010. Growth factor signaling in vitreous humor-induced lens fiber differentiation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 51(7), str. 3599–3610. DOI: [10.1167/jovs.09-4797](https://doi.org/10.1167/jovs.09-4797).
- Wang Q., Stump R., McAvoy J.W., Lovicu F.J. 2009. MAPK/ERK1/2 and PI3-kinase signalling pathways are required for vitreous-induced lens fibre cell differentiation. *Experimental Eye Research* 88, str. 293–306. DOI: [10.1016/j.exer.2008.08.023](https://doi.org/10.1016/j.exer.2008.08.023).
- Wawersik S., Maas R.L. 2000. Vertebrate eye development as modeled in Drosophila. *Human Molecular Genetics* 9, str. 917–925. DOI: [10.1093/hmg/9.6.917](https://doi.org/10.1093/hmg/9.6.917).
- Wawrocka A., Krawczynski M.R. 2018. The genetics of aniridia – simple things become complicated. *Journal of Applied Genetics* 59, str. 151–159. DOI: [10.1007/s13353-017-0426-1](https://doi.org/10.1007/s13353-017-0426-1).
- Weigle J., Bohnsack B.L. 2020. Genetics Underlying the Interactions between neural crest cells and eye development. *Journal of Developmental Biology* 8(4), nr artykułu 26. DOI: [10.3390/jdb8040026](https://doi.org/10.3390/jdb8040026).
- Wilson S.W., Houart C. 2004. Early steps in the development of the forebrain. *Developmental Cell* 6, str. 167–181. DOI: [10.1016/s1534-5807\(04\)00027-9](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(04)00027-9).
- Wistow G. 2012. The human crystallin gene families. *Human Genomics* 6, nr artykułu 26. DOI: [10.1186/1479-7364-6-26](https://doi.org/10.1186/1479-7364-6-26).
- Wistow G.J., Piatigorsky J. 1988. Lens crystallins: the evolution and expression of proteins for a highly specialized tissue. *Annual Review of Biochemistry* 57, str. 479–504. DOI: [10.1146/annurev.bi.57.070188.002403](https://doi.org/10.1146/annurev.bi.57.070188.002403).
- Wu F., Zhang Y., Sun B., McMahon A.P., Wang Y. 2017. Hedgehog signaling: from basic biology to cancer therapy. *Cell Chemical Biology* 24 (3), str. 252–280. DOI: [10.1016/j.chembiol.2017.02.010](https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2017.02.010).
- Yamamoto Y. 1976. Growth of lens and ocular environment: role of neural retina in the growth of mouse lens as revealed by an implantation experiment. *Development, Growth and Differentiation* 18, str. 273–278. DOI: [10.1111/j.1440-169X.1976.00273](https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.1976.00273).
- Yamashiro Y., Sasaki H., Ibara N. 2011. Cyclin-dependent kinase inhibitor p16 and p21 expression, and cell cycle change in human lens epithelial cell line SRA 01/04 following contact inhibition in normal culture. *Ophthalmic Research* 46(1), str. 38–43. DOI: [10.1159/000322805](https://doi.org/10.1159/000322805).
- Yang X.J. 2004. Roles of cell-extrinsic growth factors in vertebrate eye pattern formation and retinogenesis. *Seminars in Cell Developmental Biology* 15, str. 91–103. DOI: [10.1016/j.semcd.2003.09.004](https://doi.org/10.1016/j.semcd.2003.09.004).
- Yun S., Saijoh Y., Hirokawa K.E., Kopinke D., Murtaugh L.C., Monuki E.S., Levine E.M. 2009. Lhx2 links the intrinsic and extrinsic factors that control optic cup formation. *Development* 136, str. 3895–3906. DOI: [10.1242/dev.041202](https://doi.org/10.1242/dev.041202).
- Zaghloul N.A., Yan B., Moody S.A. 2005. Step-wise specification of retinal stem cells during normal embryogenesis. *Biology of the Cell* 97, str. 321–337. DOI: [10.1042/BC20040521](https://doi.org/10.1042/BC20040521).

- Zamora E.A., Salini B. 2020. Axenfeld-Rieger Syndrome. StatPearls Publishing. Dostępne online: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538504/ (dostęp: 13.03.2021).
- Zandy A.J., Lakhani S., Zheng T., Flavell R.A., Bassnett S. 2005. Role of the executioner caspases during lens development. *The Journal of Biological Chemistry* 280(34), str. 30263–30272. DOI: [10.1074/jbc.M504007200](https://doi.org/10.1074/jbc.M504007200).
- Zhang J., Upadhy D., Lu L., Reneker L.W. 2015. Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) is required for corneal epithelial cell proliferation and differentiation during embryonic development. *Public Library of Science one* 10(1), nr artykułu e0117089. DOI: [10.1371/journal.pone.0117089](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117089).
- Zhang S., Bell E., Zhi H., Brown S., Imran S.A.M., Azuara V., Cui W. 2019. OCT4 and PAX6 determine the dual function of SOX2 in human ESCs as a key pluripotent or neural factor. *Stem Cell Research & Therapy* 10, nr artykułu 122. DOI: [10.1186/s13287-019-1228-7](https://doi.org/10.1186/s13287-019-1228-7).
- Zhang X., Huang C.T., Chen J., Pankratz M.T., Xi J., Li J., Yang Y., Lavaute T.M., Li X.J., Ayala M., Bondrenko G.I., Du Z.-W., Jin Y., Golos T.G., Zhang S.-C. 2010. Pax6 is a human neuroectoderm cell fate determinant. *Cell Stem Cell* 7, str. 90–100. DOI: [10.1016/j.stem.2010.04.017](https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.04.017).
- Zhao G., Bailey C.G., Feng Y., Rasko J., Lovicu F.J. 2018. Negative regulation of lens fiber cell differentiation by RTK antagonists Spry and Spred. *Experimental Eye Research* 170, str. 148–159. DOI: [10.1016/j.exer.2018.02.025](https://doi.org/10.1016/j.exer.2018.02.025).
- Zuber M.E., Gestri G., Viczian A.S., Barsacchi G., Harris W.A. 2003. Specification of the vertebrate eye by a network of eye field transcription factors. *Development* 130, str. 5155–5167. DOI: [10.1242/dev.00723](https://doi.org/10.1242/dev.00723).

