

Optogenetiğin Temelleri

Muhammed İkbal Alp^{1,2}, Enver Ahmet Demir^{1,2} ve Hasan Serdar Gergerlioğlu^{1,2}

¹Selçuk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı

²Selçuk Üniversitesi Sinirbilim Araştırmaları Birimi (SÜSAB)

Eur J Basic Med Sci 2014;4(2): 37-43

Received: 09-05-2014

Accepted: 03-06-2014

Basics of Optogenetics

ABSTRACT

Optogenetic is a neurostimulation technique which recently becomes common. Optogenetic tools have numerous advantages over conventional neurostimulation techniques in terms of ability of selective neuron stimulation, multifocal and multimodal stimulation, and inhibition. This method which provides valuable contribution for explanation of pathophysiological mechanisms, and treatment of disorders, acquired a wide utilization area in basic medical sciences as well as clinical sciences.

Key Words: Optogenetics, neurostimulation, phototrigger

ÖZET

Optogenetik son yıllarda giderek yaygınlaşan bir nörostimülasyon tekniğidir. Optogenetik araçların klasik nörostimülasyon tekniklerine, seçilmiş nöronların uyarılabilmesi, çok odaklı ve çok yönlü uyarılma ve inhibisyona imkan tanınması gibi bir çok açıdan üstünlükleri vardır. Fizyopatolojik mekanizmaların tarifi ve bozuklukların giderilmesine önemli katkılar sağlayan bu yöntem temel tıbbi bilimlerde olduğu kadar klinik bilimlerde de geniş bir uygulama alanı bulmuştur.

Anahtar kelimeler: Optogenetik, nörostimülasyon, fototetik

Correspondence (Yazışma Adresi):

Dr. Muhammed İkbal ALP

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji

Anabilim Dalı Selçuklu/KONYA

Telefon: +90 (530) 304 2686

E-posta: mikbalp@gmail.com

GİRİŞ

2006 yılında Karl Deisseroth optik ve genetik teknikler bir araya getirilerek gerçekleştirilen spesifik nörostimülasyon için “optogenetik” kavramını ortaya atmıştır (1). Bu kavram dikkatleri Yale Üniversitesi laboratuvarlarında bir süredir sessiz sedasız devam eden fotostimülasyon çalışmalarına çekmiştir. 2010’da “yılın metodu” seçilen optogenetik, her geçen gün çığır açıcı gelişmelerle bilim dünyasını sarsmaya devam etmektedir. Çok yeni bir metot olmasına karşın bugün dünyada toplam 800 civarında optogenetik çalışma merkezi bulunmaktadır ve her geçen gün bunlara yenileri eklenmektedir (2). Gelinek noktada optogenetik çalışmalarını; ışık duyarlı iyon kanalları ile spesifik nörostimülasyon uygulanarak yapılan “Optogenetik Kontrol Çalışmaları” ve floresan proteinlerle sinir hücrelerinin aktivitesini mikroskop altında görmeyi sağlayan “Optogenetik Görüntüleme Çalışmaları” olmak üzere iki temel başlık altında inceleyebiliriz. Bu derlemede optogenetik kontrolün temel uygulamalarını ve farklı çalışma alanlarındaki örneklerini ele aldık.

İnsan beyni hakkında erken dönem bilgiler, beyinde belirli bir bölgenin hasarlanmasını takiben ortaya çıkan fonksiyon kayıplarının gözlenmesi ile elde edilmekteydi. Bu tür klinik gözlemlere dayalı bilgilerin bilinen tarihi Edwin Smith Papürüsü’ne (M.Ö. 16.yy) kadar uzanmaktadır (3). Modern sinirbilim için de durum farklı olmamıştır. Sinirbilimin babası sayılan Penfield bir beyin cerrahıdır. Bu klinik gözlemlerde, söz gelimi hipokampusu hasara uğrayan bir kişide unutkanlığın gelişmesi hipokampusün hafızayla; oksipital bölgesinden yaralanan birinde körlük gelişmesi bu bölgenin görme fonksiyonu ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Bu bilgiler beyinde hangi bölgenin hangi işlevlerde fonksiyon görebileceği hakkında genel bir fikir oluşturmuştur. Hatta 20. yüzyıl başlarında bu fikirler toplanarak histolojik ve elektrofizyolojik yaklaşımla desteklenmiş ve farklı beyin bölgelerinin fonksiyonları hakkında haritalar yapılmıştır (4). Bununla beraber söz konusu fonksiyonel alanlardaki iç döngülerin nasıl gerçekleştiği sorusu günümüzde dahi güncelliğini korumaktadır.

Yakın zamana kadar hakim sinirbilim yaklaşımı, beyindeki bütün hücrelerin fonksiyonlarının kayıt altına alınabilmesi halinde beyin nasıl çalıştığının anlaşılabilceğini öngörmekteydi. Bu düşünce beyin görüntülenmesi ve sinir hücrelerinin fonksiyonlarının ölçülmesi ile ilgili tekniklerin oldukça hızlı bir gelişim göstermesini sağladı. Bugün tek bir iyon kanalının elektriksel aktivitesini izle-

memize olanak sağlayan elektrofizyolojik kayıt sistemleri (5), bütün beyin üç boyutlu bir imajını oluşturmayı amaçlayan optik ve dijital görüntüleme teknolojileri (6) sadece bir tek gerçeği ortaya çıkarmış görünüyor: Sinir sistemi hakkında ne kadar az şey bildiğimiz gerçeği.

Artık güncel sinirbilimin geldiği noktada insan beyindeki bütün hücrelere tek tek elektrotlar takıp kayıt alınsa dahi bu kayıtlar sonucunda oluşacak büyük bilgiyi anlamlandırmanın mümkün olmayacağı konuşulmaya başlandı. Beynimizde anatomik bölgelere göre bir görev paylaşımı olduğu hala ön görülebilir. Ancak bu durumu “şu bölge şu fonksiyonu icra eder” gibi mekanistik bir görüşle temellendirmek artık mümkün değildir. Beynimiz bizim şu an tarif edemediğimiz kavramsal parametrelerle işlem yapmaktadır. İlişkiziz bulduğumuz bir çok kavram sinirbilimsel olarak ilişkili iken bunun terside doğrudur. Bir diğer deyişle beyin, kendine ait özel bir kod kullanmaktadır ve bu kodu kırmadan mevcut bütün teknolojik imkanların sunduğu veriler bir araya getirilse bile beyin ne söylediğini anlamamız mümkün olmayacaktır. Hatıralarımız, gelecek planlarımız, hayallerimiz, öğrendiklerimiz, duygularımız... Hepsi bu elektrofizyolojik ölçümlerin, mikroskopik görüntülerin, grafiklerin, değerlerin içinde gizlenmiştir; ancak neresinde?

NÖROSTİMÜLASYON VE OPTOGENETİK

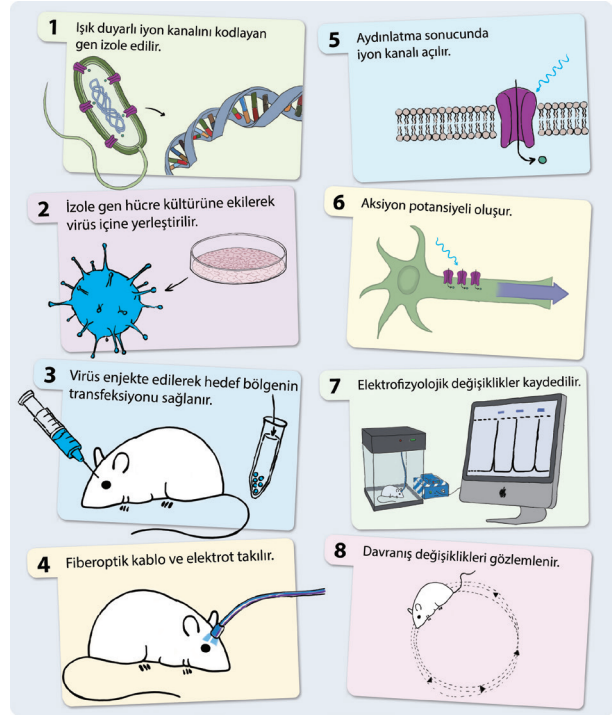
Beynin kullandığı karmaşık kod sistemini nasıl kırarız? Tecrübeli “hacker”lara soracak olursanız, bir kodu çözenin en iyi yolunun onu yeniden yazmak olduğunu söyleyeceklerdir. Yaşam bilimleri açısından bu noktada “nörostimülasyon” kavramı ortaya çıkmaktadır. Nörostimülasyon, bir sinir hücresinin sünü yöntemlerle uyarılması demektir. Tarihteki bilimsel araştırma kurallarına uygun ilk nörostimülasyon çalışması 1780 yılında İtalyan bilimadamı Luigi Galvani tarafından yapılmıştır (7). Galvani, sinir hücrelerindeki iletimin elektriksel bir iletim olduğunu öne süren ilk kişidir. 1798 yılında hayatını kaybeden Galvani’nin nörostimülasyon çalışmalarıyla sinirbilime kazandırdığı perspektif günümüzde dahi geçerliliğini sürdürmektedir.

Galvani’dan bugüne bilimadamları çeşitli metotlarla sinir hücrelerini uyararak yapı, fonksiyon ve ilişkileri hakkında bilgi edinmeye çalışmışlardır. Başlangıçta metal problemlerle yürütülen bu çalışmalar daha sonra elektronik teknolojiler kullanılarak yapılmaya başlanmıştır; ancak

söz konusu geleneksel yöntemlerin birtakım kısıtlayıcı yönleri vardır. Beyinde belirli bir alan geleneksel yöntemlerle uyarıldığında o bölgedeki bütün hücrelerde yanıt oluşturulmaktadır. Belirli sinir hücrelerinin spesifik olarak uyarılmaması, içinde buldukları nöral döngüde yürüttükleri fonksiyonun anlaşılmasını olanaksız kılmaktadır. İlaveten, özellikle davranışın değerlendirilmesi gereken çalışmalarda invazif yöntemler kullanabilmek için deneğin hareketinin kısıtlanması objektif analiz imkanını ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca insan sinir sistemi, anatomik açıdan uzak yerleşimli olmasına karşın tek bir fonksiyonu beraberce gerçekleştiren hücre gruplarıyla donatılmıştır; fakat geleneksel yöntemlerle farklı lokalizasyonlardaki bu hücrelerin eş zamanlı uyarılması mümkün olmamaktadır.

DNA'nın çift sarmal yapısını bularak 1979 Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü kazananan ünlü araştırmacı Francis Crick, aynı yıl sinirbilimde ilerleme kaydedebilmek için geliştirilmesini umduğu metotlar listesini yayımlamıştır. Crick, sinirbilimin karşılaştığı ana zorluğun beyindeki diğer hücrelerde bir etki oluşturmaksızın spesifik bir hücrenin kontrol edilebilmesi olduğunu belirtmiştir (8). Acaba hareketi kısıtlamaksızın sadece istenilen birkaç nöronda spesifik etki oluşturabilen ve birden fazla merkezi aynı anda uyararak kombine etkilerin çalışılabileceği bir metot mümkün müdür?

Crick'in hayali 2000li yıllarda gerçek oldu. Özel bir nörostimülasyon yaklaşımı olarak "fotostimülasyon" kavramı ilk defa 2001 yılında yayımlanan bir makalede gündeme gelmiştir (9). Spesifik nörostimülasyon kavramının ilk uygulamalı örneği olarak kabul edilen bu çalışma günümüzde kullanılan optogenetik araçlara nazaran oldukça ilkel olmakla beraber optogenetiğin bütün temel parametelerinin tarif edildiği bir çalışma olması açısından önemlidir. Fotostimülasyon hakkındaki ilk çalışmadan dört yıl sonra Lima ve Miesenbock makalelerinde fotostimülasyon tekniği için ışığa duyarlı paket moleküller kullandıklarını ifade etmişlerdir. Transgenetik yolla aktarılmış iyon kanalları, ışıkla aktive olan paket moleküller tarafından uyarılarak aksiyon potansiyeli tetiklenebilmiştir. Bu sayede transfekte nöronların ışık ile spesifik biçimde uyarılarak kendilerine ait fonksiyonu icra etmeleri sağlanmıştır (10). Claridge-Chang ve ark. çalışmalarında optogenetiğin davranış ve öğrenme gibi bilişsel fonksiyonları yürüten nöronlarda da kullanılabileceğini kanıtlamıştır (11). Optogenetiğin hızlı yükselişinin sebebi yukarıda bahsettiğimiz nörostimülasyon çalışmalarında gördüğümüz üç kısıtlılığı da aşabilmiş olmasıdır. Optogenetik sayesinde sinirbilim alanında

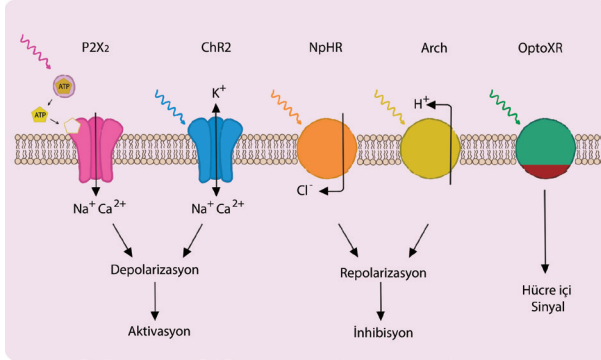


Şekil 1. Optogenetik uygulama aşamaları

şimdiye kadar bilindiği kabul edilen hemen her konunun yeniden çalışılarak doğrulanabilme imkanı yöntemin önemini daha da artırmaktadır.

OPTOGENETİK KONTROL

Optogenetik kontrol için öncelikle uyarılması hedeflenen hedef hücre tipi belirlenir. Belirlenen hedef hücrede aktif olup diğerlerinde olmayan bir gen tespit edilir ve ardından hedef hücrede oluşturulmak istenen etkiye göre kullanılması gereken ışığa duyarlı iyon kanalı (fototetik) seçilir. Doğada ışığa duyarlı iyon kanalları barındıran bir çok organizma vardır. Bu canlılarda fototetik proteinleri kodlayan genler izole edilerek çoğaltılır ve bir taşıyıcı vektöre yüklenerek belirlenen hedef hücrelere transfekte edilir. Böylece hücre yüzeylerinde ışığa duyarlı protein kanalları olan hedef hücreler oluşturulur (12). Kullanılan fototetiklerin çeşitliliği ve etki mekanizması ile uygulanan ışığın frekansı gibi faktörler optogenetik modülasyonun çeşitliliğini sağlamaktadır. Uygulamaya dair şematik gösterime Şekil 1'de yer verilmiştir.



Şekil 2. Başlıca fototetik mekanizmalar

TRANSFEKSİYON

Optogenetik çalışmalarda kullanılan transfeksiyon metodu opsilerin spesifik hücrelerde sentezine yönelik vektör ve promoter geliştirilmesi üzerinden kurgulanmıştır. Belirlenen bir opsine ait genin istenilen hedef dokuya transfeksiyonuna kadar süreç şu şekilde işler:

Öncelikle hedeflenen genin izole edilmesi gerekir. Bu izolasyon işlemi için hedeflenen gen tesbit edilmeli ve takiben yalıtılmalıdır. Genetik mühendisliğinde anlamlı bir gen bulmak için kullanılan birkaç metot vardır. Birincisi “ters transkripsiyon” metodudur. Eğer bir proteini izole edebiliyorsak bu protein dizisini üretecek mRNA dizisini okuyabilir ve bu diziyi kodlamış olabilecek DNA bölgelelerinin bir kümesini çıkarabiliriz. Tespit edilen genin izolasyonu için en sık kullanılan yöntem PCR’dir (polimeraz zincir reaksiyonu). Bu tekniğin uygulanabilmesi için hedeflenen genin en azından bir kaç nükleik asitlik bölümü bilinmelidir. Böylece klonlanması amaçlanan genin transkripsiyon ürünü olan mRNA izole edilir ve bu mRNA dan ters transkriptaz enzimi sayesinde cDNA üretilir. Daha sonra cDNA tamamlanarak izole gen elde edilir ve PCR ile çoğaltılır. Çoğaltılan genin vektöre aktarılması işlemi için “elektroporasyon” tekniği kullanılır. Bu teknikle izole edilip çoğaltılan genetik materyal hücre kültürü ortamına ekilir ve kültürdeki hücrelerin zarlarında geçici porlar oluşturularak genetik materyalin hücre içine alınması sağlanır (13). Virüs aracılı gen aktarımı için belirlenen virüsler ortama ekilir. Böylece hedeflenen genleri taşıyan virüsler çoğaltılabilir (14). Gen taşıyıcısı olarak farklı virüsler kullanılmakla beraber optogenetik çalışmalarda genellikle Lentivirus ve Adeno Associated Virus (AAV) tercih edilmektedir (15).

FOTOTETİKLER

Erken dönem optogenetik çalışmalarda ışığa duyarlı paket prekürsörler kullanılmaktaydı. Son yıllarda doğada çeşitli canlılar üzerinde yapılan araştırmalar bir çok fototetik aday protein keşfedilmesini sağlamıştır. Günümüzde bir dizi fototetik üzerine araştırmalar yürütülüyor olmasına karşın başlıcaları şunlardır;

a) Bakteriyorodopsin: Dieter Oesterhelt ve Walther Stoeckenius’un 40 sene kadar önce yeşil alglerde keşfettikleri ışığa duyarlı ilk proteindir (16). Yeşil ışık ile aktive olduğunda hücre içine katyon girişine yol açar ve transfekte edildiği nöronda aksiyon potansiyeli oluşturur. Yeterince etkin olmadığı ve halorodopsinle birlikte kullanılmadığı için kullanımından vazgeçilmiştir.

b) Halorodopsin: 1977 yılında Halobacterium salinarum’da tespit edilen sarı ışığa duyarlı bir iyon kanalıdır. Aktive olduğunda Cl⁻ iyonlarının hücre içine taşınmasını ve hücre membranı potansiyelini azaltarak aksiyon potansiyelinin inhibe olmasını sağlar (17). Natronomonas Pharaonis’den izole edilen bir diğer halorodopsin türü (NpHR) 2008 yılında etkin bir şekilde nöronlarda aksiyon potansiyelinin inhibisyonu için kullanılmaya başlanmıştır. Protein mühendisliği ile modifiye edilmiş eNpHR reseptörleri de benzer bir etki oluşturur (18).

c) Kanalrodopsin: 2002 yılında Chlamydomonas Reinhardtii’de keşfedilmiş mavi ışığa duyarlı bir Na⁺ iyon kanalıdır ve ışıqla uyarıldığında hücre içine Na⁺ girişini sağlayarak aksiyon potansiyeli oluşturur (19).

d) OptoXR: Rodopsinin intrasellular parçasının diğer adrenerjik reseptörlerin hücre içi parçaları ile değiştirilmesi fantastik reseptörlerin geliştirilmesini sağladı. Böylece hücre içi sinyal yollarını spesifik olarak kontrol edilecek optogenetik bir mekanizma geliştirilmiştir. (20).

Aynı zamanda çok farklı lokalizasyonlardaki farklı hücre tiplerinden bazılarını eksite ederken diğerlerinin inhibisyonunu sağlayabilecek multifokal, multimodal etkileşimleri mümkün kılan bir tekniktir. Zhang ve ark. multimodal etkileşimleri oluşturmak üzere çok renkli optik aktivasyon kullanmıştır (21). Başlıca fototetik mekanizmalar Şekil 2’de gösterilmiştir.

IŞIK SİSTEMLERİ

İlk çalışmalarda drosophila ya da zebra balığı larvaları gibi şeffaf dokular tercih edilmekteydi. Erişkin

drosophila'larda yapılan deneylerde de kısa dalga boyu nedeniyle ışık dokuya invaze olarak gerekli etkiyi oluşturabilmiştir; ancak ilerleyen zamanlarda yüksek organizmalarda yapılan çalışmalar ışığın daha invazif metotlarla hedef dokuya ulaştırılması zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Bu bağlamda fiber optik kablolarla aktarılan lazer ışığı kullanılmıştır (22). Günümüzde uygulanan optogenetik metotlarda katı-hâl lazer sistemleri ile elde edilen lazer ışığı yaygın olarak kullanılmaktadır.

Son dönemde yüksek doku çözünürlüğüne sahip bir ışık olan LED (Light-emitting diode) teknolojisi de optogenetikte kullanılmaya başlanmıştır (23). LED sistemlerin temelinde üzerinden akım geçen bir silikon maddenin ışık vermesi prensibi yatmaktadır. Bu teknoloji sayesinde vücut dışında oluşturulan ışığın fiber optik kablolar vasıtasıyla hedef beyin dokusuna yönlendirildiği konvansiyonel yöntem yerine ışığın doğrudan in vivo şartlarda, hedef beyin dokusu içerisinde oluşturulabilmesi sağlanmıştır. Optogenetikte kullanılan ışığın mahiyeti ve hedef bölgeye ulaştırılma şekli optogenetik kontrolün çeşitliliğini belirleyen parametrelerdendir.

OPTOGENETİK UYGULAMALAR

Lima ve Miesenbock'ün yürüttüğü kas aktivitesinin kontrolüne dair en çarpıcı öncü çalışmalardan birinde drosophila'lara P2X2 kanalları transfekte edilmiştir. Işıklı aktive olan paket adozin molekülleri aracılığıyla bu iyon kanalları açılarak hücre içine Ca^{2+} girişi sağlanmıştır. Böylece Ca^{2+} girişine bağlı membran potansiyelindeki değişim neticesinde aksiyon potansiyeli oluşmuştur. Sonuç olarak transfekte hücrenin bulunduğu bölgeye göre lokomotor ya da davranışsal bir etki elde edilmiştir (10). Aynı çalışmada dekapitasyon uygulanmış sineklerin optogenetik stimülasyonla uçmalarının sağlanabilmesi optogenetik yöntemin etkinliği konusunda etkileyici bir örnek teşkil etmektedir.

Nörolojik patolojilerin en iyi bilinenlerinden biri Parkinson hastalığıdır ve bu hastalıkta derin beyin stimülasyonu (DBS) tedavi seçenekleri arasında sayılır. Elektrotların yerleştirildiği beyin dokusunun heterojenitesi sebebiyle DBS ile spesifik, kontrollü bir etki oluşturmak güçtür ve bu nedenle klinik pratikte sık tercih edilen bir yöntem değildir. Gradinaru ve ark.'ın Parkinson fare modelinde çeşitli beyin bölgelerini spesifik olarak uyararak ve inhibe ederek yaptıkları bir çalışmada, Parkinson hastalığından

sorumlu tutulan subtalamik nükleus (STN) ve ilişkili sistemler incelenmiştir. Bu amaçla STN'nin kendisi, ilişkili astrositler ve STN'nin afferentlerine stimülasyon ve inhibisyon uygulanmıştır. Sonuçta STN'nin inhibisyonu ve afferentlerinin yüksek frekanslı stimülasyonu ile parkinsonizmin baskılandığı gösterilmiştir (24). Bu ve benzeri çalışmalar günümüzde Parkinson hastalığının tedavisine yönelik yürütülen optogenetik yaklaşımlara temel oluşturmuştur.

Yaygınlığı, yaşam kalitesi üzerine etkileri ve hatta yaşam süresini kısaltması nedenleriyle önem arz eden bir diğer nörolojik patoloji "epilepsi"dir. Jeneralize epileptik nöbetler bir bölgeden başlayarak beynin her iki hemisferine yayılım sergilerken fokal epileptik nöbetler kaynaklandığı hemisferde sınırlı kalır (25). Fokal epilepsiler, erişkin epilepsilerinin yarıdan fazlasını teşkil ederken en sık görülen ve antiepileptik tedaviye yanıtızsızlığı nedeniyle epilepsi cerrahisine en sık ihtiyaç duyulan tipi "temporal lob epilepsi"dir (TLE) (26). TLE'lerin % 90'ını epileptik odağın başlıca hipokampüste yer aldığı mezial TLE (mTLE) oluşturmaktadır (27). Optogenetik teknoloji, fotostimülasyon uygulanan probun eşzamanlı in vivo ekstrasellüler elektrofizyolojik kayıt (ör: ECoG) almasına imkan sağlayan bir yöntemdir ve böylece, özellikle mTLE'den muzdarip hastalarda fokal nöbet odağının fotostimülasyonu epilepsi cerrahisine alternatif olabilir (28,29). Bu bağlamda deney hayvanlarında epileptik odaktaki eksitator nöronların inhibitor bir opsin olan halorodopsin (30,31) veya inhibitor nöronların eksitator bir opsin olan kanalrodopsin (31) aracılığıyla fotostimülasyonuna dayanarak yürütülen çalışmaların başarıyla sonuçlanmış olması umutları arttırmaktadır. mTLE'den farklı olarak genellikle bir predispozan faktörün bulunmadığı; ancak daha gürlütlü bir klinik tablo ile ortaya çıkan neokortikal TLE'de (nTLE) dahi halorodopsin vasıtasıyla davranışı etkilemeksizin epileptik aktivitenin baskılanabilmiş olması (32) farklı epilepsi türlerinin tedavisi amacıyla optogenetik yöntemlerin kullanılabilceğini ortaya koymaktadır.

Optogenetiğin farklı patolojik durumların tanı ve tedavisinde kullanımına dair örnekleri arttırmak mümkündür. Buna karşın bir patolojinin tam olarak kavranılması, allta yatan fizyolojik bozukluğun anlaşılmasına bağlıdır. Casey ve ark. fonksiyonel manyetik rezonans görüntülemenin (fMRI) prensiplerini anlattıkları derlemlerinde manyetik rezonans görüntülemenin, anatomik ve morfometrik beyin çalışmaları açısından beyin yapısal görüntülerinin üretilmesinde kullanıldığını, fonksiyonel manyetik rezonans görüntülemenin ise beyin aktivite-

sinin in vivo ölçümüne imkan sağladığını (33) belirttikleri sırada fonksiyonu tartışılan nöron gruplarının spesifik stimülasyonu henüz mümkün değildi. O zamanlar emekleme aşamasında olan optogenetik teknikler bugün daha etkili fMRI çalışmalarını mümkün kılmıştır. Örneğin; Abe ve ark.'ın hipokampal bağlantılar üzerine odaklanan çalışmalarında, fMRI ve optogenetik teknikler beraber kullanılarak dentat girusun, hipokampal CA3 alanı, kaudat nükleus, putamen ve somatosensöriyal korteks ile bağlantıları ortaya konulmuştur (34). Bu çalışma fizyolojik mekanizmaların netleştirilmesi amacıyla optogenetiğin başarıyla kullanılabileceğini göstermiştir.

Lima ve Miesenböck'ün dopaminerjik sinir hücreleri üzerine yapmış oldukları fotostimülasyon çalışması (10), optogenetik davranış çalışmalarının ilki olarak kabul edilebilir. Bu çalışmada dopaminerjik sinir hücreleri uyarılan drosophila'ların hareket kalıpları değişerek daha korkusuz davrandıkları gösterilmiştir. Optogenetik yöntemler sinir sisteminin hemen tüm elemanlarının ve fonksiyonlarının incelenmesi amacıyla kullanılabilirliği için davranış araştırmalarındaki yeri giderek daha fazla dikkat çekmektedir. Hatta Lui ve ark. optogenetik araçlarla farelerin belleklerinde sını hatıralar oluşturmayı bile başarmıştır (35). Hipotalamustaki iki farklı nöron grubu tarafından yönetildiği bilinen yeme davranışı üzerine gerçekleştirdikleri bir çalışmada Aponte ve ark. söz konusu hücrelere spesifik fotostimülasyon uygulayarak dakikalar içinde deneklerde hızlı ve etkili bir yeme davranışı ortaya çıkarmayı başarmıştır (36). Bağımlılığı ele alan fizyopatolojik ve terapötik yaklaşımlar davranış bilimin önemli konularındandır ve yakın zamanda optogenetik metot, bağımlılık davranışının altında yatan moleküler mekanizmaların aydınlatılmasında kullanılmaya başlanmıştır (37,38). Klinik olarak gözlemlenebildiği halde moleküler ve hücresele düzeyde kanıt ortaya koyulamayan psikiyatrik durumlar sinirbilim açısından merak uyandırıcı olmuştur. Anderson'ın üreme ve saldırganlık davranışlarının geleneksel modelini ele alan araştırmasında, bu modelden farklı olarak üreme davranışıyla ilişkilendirilen ventromedial hipotalamik nükleusun ventrolateral parçasının tek başına erkek fareler arasında saldırganlık davranışı için yeterli olduğu gösterilmiştir (39). Bu çalışma optogenetiğin psikiyatrik araştırma sonuçlarının yeniden tartışılabilmesi için imkan sunduğunu kanıtlaması nedeniyle ayrıca önemlidir.

SONUÇ

Optogenetik, yalnızca temel biyolojik araştırmaların konusu olmanın çok ötesinde klinik uygulamalar açısından da ciddi vaatleri bulunan bir yöntemdir. Tarih öncesine kadar uzanan tıbbi pratiğe kıyasla oldukça yeni bir kavram olmasına karşın optogenetik, bilimin geleceğini şekillendirecek yaklaşımlara olanak sunmaktadır. Bu noktada optogenetik yöntemlerin yalnızca sinirbilim araştırmalarında değil, diğer bir çok tıbbi alanda da kullanılabilir olması dikkat çekicidir. Bununla beraber dünya genelinde son yıllarda ciddi düzeyde artış gösteren optogenetik çalışmalarına karşın ülkemizde bu tekniğin hak ettiği ilgiyi görmemiş olması üzüntü vericidir.

KAYNAKLAR

1. Deisseroth K, Feng G, Majewska AK, Miesenböck G, Ting A, Schnitzer MJ. Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *J. Neurosci.* 2006;26(41):10380-6.
2. Williams SC, Deisseroth K. Optogenetics. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2013;110(41):16287.
3. Breasted JH. *The Edwin Smith surgical papyrus.* Chicago: Univ. of Chicago Press, 1930.
4. Brodmann K, Gary LJ. *Brodmann's localization in the cerebral cortex, The principles of comparative localisation in the cerebral cortex based on cytoarchitectonics.* New York: Springer, 2006.
5. Neher E, Sakmann B, Steinbach JH. The extracellular patch clamp: a method for resolving currents through individual open channels in biological membranes. *Pflugers Arch* 1978;375(2):219-28.
6. Sporns O, Tononi G, Kötter R. *The Human Connectome: A Structural Description of the Human Brain.* *PLoS Comp Biol* 2005;1(4):e42.
7. Kipnis NS. *Luigi Galvani and the debate on animal electricity, 1791-1800.* London, 1987.
8. Crick FH. *Thinking about the brain.* *Sci Am* 1979;241(3):219-32.
9. Zemelman BV, Miesenböck G. Genetic schemes and schemata in neurophysiology. *Curr Opin Neurobiol* 2001;11(4):409-14.
10. Lima SQ, Miesenböck G. Remote control of behavior through genetically targeted photostimulation of neurons. *Cell* 2005;121(1):141-52.
11. Claridge-Chang A, Roorda RD, Vrontou E, Sjulson L, Li H, Hirsh J et al. Writing memories with light-addressable reinforcement circuitry. *Cell* 2009;139(2):405-15.

12. Boyden ES. A history of optogenetics: the development of tools for controlling brain circuits with light. *F1000 Biol Rep* 2011;3:11.
13. Potter H. Transfection by electroporation. *Curr Protoc Neurosci* 2001;Appendix 1:Appendix 1E.
14. Howarth JL, Lee YB, Uney JB. Using viral vectors as gene transfer tools (Cell Biology and Toxicology Special Issue: ETCS-UK 1 day meeting on genetic manipulation of cells). *Cell Biol Toxicol* 2010;26(1):1-20.
15. Yao J, Hou W, Yin Z. Optogenetics: a novel optical manipulation tool for medical investigation. *Int J Ophthalmol* 2012;5(4):517-22.
16. Oesterhelt D, Stoerkenius W. Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*. *Nature New Biol* 1971;233(39):149-52.
17. Matsuno-Yagi A, Mukohata Y. Two possible roles of bacteriorhodopsin; a comparative study of strains of *Halobacterium halobium* differing in pigmentation. *Biochem Biophys Res Commun* 1977;78(1):237-43.
18. Gradinaru V, Thompson KR, Deisseroth K. eNpHR: a *Natronomonas halorhodopsin* enhanced for optogenetic applications. *Brain Cell Biol* 2008;36(1-4):129-39.
19. Nagel G, Szellas T, Huhn W, Kateriya S, Adeishvili N, Berthold P et al. Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(24):13940-5.
20. Airan RD, Thompson KR, Fenno LE, Bernstein H, Deisseroth K. Temporally precise in vivo control of intracellular signalling. *Nature* 2009;458(7241):1025-9.
21. Zhang F, Wang L, Brauner M, Liewald JF, Kay K, Watzke N et al. Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature* 2007;446(7136):633-9.
22. Gradinaru V, Thompson KR, Zhang F, Mogri M, Kay K, Schneider MB et al. Targeting and Readout Strategies for Fast Optical Neural Control In Vitro and In Vivo. *Journal of Neuroscience* 2007;27(52):14231-8.
23. Iwai Y, Honda S, Ozeki H, Hashimoto M, Hirase H. A simple head-mountable LED device for chronic stimulation of optogenetic molecules in freely moving mice. *Neurosci Res* 2011;70(1):124-7.
24. Gradinaru V, Mogri M, Thompson KR, Henderson JM, Deisseroth K. Optical deconstruction of parkinsonian neural circuitry. *Science* 2009;324(5925):354-9.
25. Berg AT, Berkovic SF, Brodie MJ, Buchhalter J, Cross JH, van Emde Boas, Walter et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 2010;51(4):676-85.
26. Téllez-Zenteno JF, Hernández-Ronquillo L. A Review of the Epidemiology of Temporal Lobe Epilepsy. *Epilepsy Research and Treatment* 2012;2012(5):1-5.
27. Cataldi M, Avoli M, Villers-Sidani E de. Resting state networks in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2013;54(12):2048-59.
28. Zhang F, Aravanis AM, Adamantidis A, Lecea L de, Deisseroth K. Circuit-breakers: optical technologies for probing neural signals and systems. *Nat Rev Neurosci* 2007;8(8):577-81.
29. Kokaia M, Andersson M, Ledri M. An optogenetic approach in epilepsy. *Neuropharmacology* 2013;69:89-95.
30. Tonnesen J, Sorensen AT, Deisseroth K, Lundberg C, Kokaia M. Optogenetic control of epileptiform activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009;106(29):12162-7.
31. Krook-Magnuson E, Armstrong C, Oijala M, Soltesz I. On-demand optogenetic control of spontaneous seizures in temporal lobe epilepsy. *Nat Commun* 2013;4:1376.
32. Wykes RC, Heeroma JH, Mantoan L, Zheng K, MacDonald DC, Deisseroth K et al. Optogenetic and Potassium Channel Gene Therapy in a Rodent Model of Focal Neocortical Epilepsy. *Science Translational Medicine* 2012;4(161):161ra152.
33. Casey BJ, Davidson M, Rosen B. Functional magnetic resonance imaging: basic principles of and application to developmental science. *Developmental Science* 2002;5(3):301-9.
34. Abe Y, Sekino M, Terazono Y, Ohsaki H, Fukazawa Y, Sakai S et al. Opto-fMRI analysis for exploring the neuronal connectivity of the hippocampal formation in rats. *Neurosci Res* 2012;74(3-4):248-55.
35. Liu X, Ramirez S, Tonegawa S. Inception of a false memory by optogenetic manipulation of a hippocampal memory engram. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2014;369(1633):20130142.
36. Aponte Y, Atasoy D, Sternson SM. AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. *Nat Neurosci* 2011;14(3):351-5.
37. Tsai H, Zhang F, Adamantidis A, Stuber GD, Bonci A, Lecea L de et al. Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning. *Science* 2009;324(5930):1080-4.
38. Witten IB, Lin S, Brodsky M, Prakash R, Diester I, Anikeeva P et al. Cholinergic interneurons control local circuit activity and cocaine conditioning. *Science* 2010;330(6011):1677-81.
39. Anderson DJ. Optogenetics, sex, and violence in the brain: implications for psychiatry. *Biol Psychiatry* 2012;71(12):1081-9.