Sayı: 15 (Temmuz-Ağustos-Eylül 2016)

TÜRK FİZYOLOJİK BİLİMLER DERNEĞİ

e-Bülten

İletişim: info@tfbd.org.tr / www.tfbd.org.tr

Editörden...

Değerli Fizyoloji Ailesi,

42. UFK, ülkemizin maruz kaldığı zor şartlara rağmen, fizyoloji bilimine gönül veren üyelerimizin büyük özverisi ve bilim kurulu ve düzenleme kurulunda görev alan arkadaşlarımızın büyük emekleri sayesinde başarıyla tamamlanmıştır. Birçok bilimsel toplantının iptal edildiği bu dönemde fizyoloji ailesi, birlik ve beraberlik içinde hareket ederek yabancı konuşmacıların da katılımıyla bilimin her şartta evrensel bir değer olarak yükseleceğinin kanıtı olmuştur.

Bu sayımızda "42. UFK'nın ardından", "Fizyoloji uygulamaları ne durumda?" konulu yazıları ve bir konu bir yöntem bölümünde "Optogenetik yöntemler" hakkında detaylı bir araştırmayı bulabilirsiniz.

On altıncı sayıda buluşmak dileğiyle.

TFBD 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi 05-08 Eylül tarihleri arasında Düzce Üniversitesi'nde gerçekleştirildi. Yabancı konuklarla birlikte yaklaşık olarak 300 katılımcının yer aldığı kongrede 8 konferans, 3 sempozyum, 3 panel, 46 sözel sunum ve 174 poster sunum yer aldı.

TFBD Yönetim Kurulu ve Bilim Kurulu'nda görev değişimi: İstifa nedeniyle boşalan TFBD Başkan Yardımcılığı görevine TFBD YK üyesi Prof. Dr. Bayram Yılmaz, yine istifa nedeniyle boşalan BK Fizyoloji Eğitimi temsilciliğine Prof. Dr. Selma Arzu Vardar, Hücre Fizyoloji temsilciliğine Prof. Dr. Süleyman Sandal görevlendirilmiştir (TFBD-YK toplantı tarihi: 04.08.2016).

Bir grup Türk fizyoloğun da yer aldığı **FEPS 2016** kongresi 29 Temmuz-1 Haziran tarihleri arasında Paris'te gerçekleştirildi.

İçindekiler

- TFBD 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi'nin ardından, s. 2-3.
- Fizyoloji uygulamaları ne durumda? s.4-5.
- FEPS 2016 Paris Kongresi s.5.
- Optogenetik yöntemler ve fizyolojik araştırmalara uygulamaları, s. 6-14.

Duyurular & Haberler

- 33. Dünya İç Hastalıkları Kongresi'nde, "Fluoxetine Prevents Ischemia Reperfusion Induced Acute Cardiac Inflammation and Injury" başlıklı çalışması ile, 700 bildiri arasında "**En İyi 10 Bildiri Ödülü**"nü alarak bizleri gururlandıran değerli Hocamız Prof. Dr. Gülderen Şahin (İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak.) ve ekibini yürekten kutluyor, başarılarının devamını diliyoruz.
- Bilanço İlanı: İl Dernekler Müdürlüğü'nün talimatı gereği 2016 TFBD Olağan Genel Kurul'da sunulan ve oybirliğiyle onaylanan TFBD ve İktisadi İşletme Bilançoları TFBD.org.tr/duyurular sayfasında ilan edilmiştir.
- TFBD 42. UFK'da sunulan tüm konferans, sempozyum, panel, sözel ve poster sunum bildirilerinin İngilizce özetleri Acta Physiologica'nın Eylül 2016, V218, S709 sayısında yayınlanmıştır.

TFBD 42. ULUSAL FİZYOLOJİ KONGRESİ'NİN ARDINDAN

Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı ve TFBD'nin ortak katkılarıyla 05-08 Eylül 2016 tarihleri arasında gerçekleştirdi. Kongre, genç fizyologlara yönelik teorik ve uygulamalı eğitimlerin yer aldığı kurslar, Prof. Dr. Gürkan Öztürk'e ait "Uzak Yerler, Vahşi Şeyler" temalı fotoğraf sergisi ve açılış programıyla başladı. Açılış programına Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanı Prof. Dr. Fahrettin Keleştemur, Düzce Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Nigar Demircan Çakar, Rektör Yardımcısı Prof. Dr. İdris Şahin, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Gazi Yaşargil ile birlikte yerli ve yabancı konuşmacılar, başta fizyoloji ailesi olmak üzere birçok akademisyen, araştırmacı ve öğrenciler katıldı.

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı ve Kongre Eş Başkanı Prof. Dr. Şerif Demir açılış konuşmasında, kongrenin gerçeklemesinde büyük emekleri olan Düzce Üniversitesi Prof. Dr. Nigar Demircan Çakar başta olmak üzere rektör yardımcısı Prof. İdris Şahin'e, TFBD Başkanı Prof. Dr. Ümmühan İşoğlu Alkaç'a, Düzce Ün. Tıp Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Safinaz Ataoğlu'na, Düzce ve Akçakoca Belediyesi'ne ve kongreye destek veren kişi ve kurumlara teşekkür etti. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği Başkanı ve kongre eşbaşkanı Prof. Dr. Ümmühan İşoğlu Alkaç, "Üzerinde durduğumuz en temel konulardan birisi, kongrelerimizi daha iyi nasıl yapabiliriz, daha fazla bilimsel katkı nasıl sunabiliriz " diyerek alanında söz sahibi bilim insanlarının bir araya getirilmesinin önemini dile getirdi. Prof. Dr. Alkaç, tüm Kongre çıktılarının İngilizce özetlerinin Acta Physiologica'da yayınlanacağını belirtti. Prof. Dr. Gazi Yaşargil ve Prof. Dr. Fahrettin Keleştemur'un kongreyi onurlandırdıklarını ifade eden TFBD Başkanı, büyük destekleri için başta Düzce Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Nigar Demircan Çakar olmak üzere, Düzce Belediyesi'ne, medikal firmalara ve tüm katılımcılara teşekkür etti. Düzce Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Nigar Demircan Çakar, Prof. Dr. Gazi Yaşargil başta olmak üzere uluslararası katılımcıları kongrede misafir etmekten duyduğu memnuniyeti dile getirerek sözlerine başladı. Ülkemizin içinden geçtiği bu zor dönemde geniş kapsamlı bilimsel içeriği olan 42. Ulusal Fizyoloji Kongresi'ni Düzce Üniversitesi ev sahipliğinde düzenlemenin önemli olduğunu, terörü, sadece yönetsel ve askeri alanda değil, ülkelerin sanatsal, bilimsel ve ekonomik ilişkilerini durdurmaya çalışan hain faaliyetler olarak nitelendirdi. Gerçek bilime katkı sağlayan Türk aydınları olarak bu tür hain faaliyetlere hiçbir zaman prim vermediklerini dile getiren Prof. Çakar, bilim insanlarına ve gençlerimize umut vermeye devam edeceklerini sözlerine ekledi. Açılış konuşmalarının sonrasında başkanlığını Prof. Dr. Ümmühan İşoğlu Alkaç ve Prof. Dr. Bayram Yılmaz'ın yaptığı "Ustalara Saygı" başlıklı oturma geçildi. Bu bölümde yaş haddinden emekli olan Fizyoloji Anabilim Dalının Değerli Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Gönül Peker, Prof. Dr. Neşe Tunçel, Prof. Dr. Niyazi Taşçı ve Prof. Dr. Yusuf Ziya Ziylan bilgi ve deneyimlerini katılımcılarla paylaştılar.

TFBD 42. ULUSAL FİZYOLOJİ KONGRESİ'NİN ARDINDAN

Prof. Dr. Fahrettin Keleştemur'un oturum başkanlığını yaptığı açılış konferansında, "Yüzyılın Beyin Cerrahı" olarak adını dünya bilim tarihine yazdıran Prof. Dr. Gazi Yaşargil, *Fizyoloji*'nin tüm insanlık için çok önemli olduğunu belirterek, "Hayat size ne verecek diye düşünmeyin, siz hayata ne katkıda bulunabilirsiniz?" sözleriyle katılımcılara tavsiyelerde bulundu ve tıp bilimine önemli katkılar sunan bilim insanları ve çalışmaları hakkında bilgiler vererek insan beyninin yapısına ilişkin önemli tespitlerde bulundu.

Kongre programında 3 sempozyum, 3 panel, 8 konferans, 46 sözel sunum ve 174 poster sunum yer aldı.

Kongrenin son günü kapanıştan önce ödül töreni düzenlenerek ödül araştırmacılar ilan edildi:

1- 2016 TFBD Genç Araştırıcı Ödülü: Başvuru yapan araştırmacıların eserlerinin TFBD-BK tarafından incelenmesi sonucu "Effects of normobaric oxygen and melatonin on reperfusion injury: role of cerebral microcirculation. Oncotarget, 2016, Vol.6, p 30604-14" başlıklı çalışma ile Medipol Üniversitesi'nden Mustafa Çağlar BEKER ve arkadaşları ödül aldı.

2-TFBD 42. UFK Sözel Sunum Ödülleri: TFBD-Bilim Kurulu Başkanlığının, değerlendirmede yaşanan iletişim sorununu (gönderilen e-posta mesajı ve değerlendirme formlarının jüri üyelerinden bazılarına ulaşmaması) TFBD-Yönetim Kurulu'na bildirmesi sonucu alınan karar gereği, mağduriyet yaşanmaması için Sözel Sunum Ödülleri alanında değerlendirme yapılmadı.

3- TFBD 42. UFK Poster Sunum Ödülleri:

Birincilik Ödülü: Poster sunumu birincilik ödülüne iki çalışma değer bulundu: "CDNF ve MANF nörotrofik faktörlerinin iskemi sonrası beyin plastisitesi ve onarımı üzerine olan etkileri" başlıklı çalışma ile Medipol Üniversitesi & Helsinki niversitesi'nden Ahmet Burak ÇAĞLAYAN ve arkadaşları ile, "P2X7 Reseptör Antagonisti A-43809'un Penisilinle Oluşturulan Epileptiform Aktiviteye Etkisi" başlıklı çalışma ile Cumhuriyet Üniversitesi & Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nden Gökhan ARSLAN ve arkadaşlarının bildirileri poster birincisi olarak seçildi.

İkincilik Ödülü: Poster sunumu ikincilik ödülüne yine iki çalışma değer bulundu: "Sıçanlarda Hipotalamik Ventromediyal Nukleus Katekolamin Konsantrasyonları Üzerine Damar İçi Glukoz Uygulamasının Etkisi: Bir Mikrodiyaliz Çalışması" başlıklı çalışma ile Necmettin Erbakan Üniversitesi'nden Hatice SOLAK ve arkadaşları ile "Sıçanlarda ATP-Bağımlı Potasyum Kanal Agonist ve Antagonistlerinin Penisilin ile Oluşturulmuş Epilepsi Üzerine Etkileri" başlıklı çalışma ile Düzce Üniversitesi'nden Ersin BEYAZÇİÇEK ve arkadaşları poster ikinciliği ödülünü aldı.

Üçüncülük Ödülü: Poster sunumu üçüncülük ödülüne üç çalışma değer bulundu:

"Farklı Egzersiz Metodlarının Deneysel Alzheimer Hastalığı Modelinde Anksiyete Benzeri Davranış ve Beyin Plastisitesi'ne olan Etkileri" başlıklı çalışma ile Marmara Üniversitesi'nden Dilek ÖZBEYLİ ve arkadaşları, "Merkezi Olarak Enjekte Edilen Leptinin Posteriyor Hipotalamus ve Nukleus Traktus Solitaryus Ekstraselüler Total Prostaglandin Çıkışına Etkisi" başlıklı çalışma ile Uludağ Üniversitesi'nden Burçin ALTINBAŞ ve arkadaşları ve "Hypericum Scrabrum'un İnsan Prostat, Kolon, Meme Kanseri Üzerine Etkisi" başlıklı çalışma ile Fırat Üniversitesi & İnönü Üniversitesi'nden Süleyman SANDAL ve arkadaşları poster üçüncülüğü için uygun bulundu.

Kongre yerel düzenleme kurulu, TFBD Başkanı Prof. Dr. Ümmühan İşoğlu Alkaç ile birlikte

Bir araştırma

FİZYOLOJİ UYGULAMA EĞİTİMLERİ NE DURUMDA?

Doç. Dr. H. Murat BİLGİN[1], Prof. Dr. S. Arzu VARDAR[2]
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD[1]
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD[2]

Tıp fakültelerindeki fizyoloji uygulama eğitimlerinin durumu son yıllarda mercek altına alınmış olup, öğrenci uygulamalarının içeriği ve nasıl programlanacağı hakkında çeşitli platformlarda tartışmalar devam etmektedir. Fizyoloji uygulama eğitimlerinin esas amacı öğrencinin fizyolojik prensipleri daha iyi anlamasına katkı sağlamaktır. Bununla birlikte, klinik bilgilerin entegrasyonu da amaçlanır. Uygulama eğitiminin öğrencide öğrenmeyi teşvik etmesi ve doğru yönlendirme oluşturması önemlidir.

Fizyoloji uygulama eğitimleri ile ilgili olarak gerek ulusal gerekse uluslar arası toplantılarda çeşitli oturumlar düzenlenmekte ve bu konunun detaylı çözümlemeleri yapılmaktadır. Özellikle son yıllarda teknolojik ve bilimsel gelişmelere bağlı olarak fizyoloji eğitiminde ve laboratuvarda yapılan uygulama derslerinin işlenmesinde önemli revizyonlara ihtiyaç duyulduğu açıktır.

Bu yıl Paris'de yapılan FEPS 2016 kongresinde yer alan "New Challenges in Teaching Physiology to Medical Students" isimli sempozyumda fizyoloji uygulama eğitimi de kapsamlı olarak konuşuldu. Konuşulanlardan genel bir çıkarsama yapmak gerekirse, fizyoloji uygulama derslerinin nasıl planlanması gerektiği ile ilgili farklı yaklaşımlar mevcuttu. Net bir çözüm önerisinin bulunmaması, bu konunun uluslar arası fizyoloji camiasında da güncelliğini koruduğunu gösteriyordu.

Bu sempozyumda konuşulanlar dikkate alındığında, fizyoloji uygulama eğitimlerinin günümüzdeki durumu, uygulama içeriğinin belirlenmesindeki yaklaşım ve değerlendirmenin nasıl yapıldığı ile ilgili genel görüşler kısaca şöyle özetlenebilir. Son yıllarda teorik tıp bilgisindeki devasa artışlarla birlikte, çoğu tıp fakültesinde fizyoloji uygulamalarında azalma mevcuttur.

Özellikle bilgisayar ve sine vizyon gibi görsel ağırlıklı ders anlatımının yaygın olarak yapılabildiği bir devirde, fizyoloji uygulamalarına duyulan ihtiyaç ve ayrıca klasik fizyoloji uygulamalarının belirlenen hedeflere yeterli düzeyde ulaşıp ulaşmadığı sorgulanmaya başlanmıştır. Uygulamaların hazırlık sürecinin uzun zaman alması, alınan sonuçların güvenilirliği, Hollanda gibi ülkelerde eğitim amaçlı deney hayvanı kullanımı yasaklanmış olmasına rağmen deney hayvanlarının kullanıldığı Macaristan gibi ülkelerde hayvan sayısı fazlalığı, artan öğrenci sayısına ve etik kurallara bağlı olarak sadece demonstrasyonla sınırlı kalınması ve böylece küçük gruplarla çalışabilme imkanının ortadan kalkması gibi sorunlar üzerinde daha yoğunlukta durulmaktadır.

Ayrıca uygulamalarda maliyet-fayda ilişkisinin önemli derecede sorgulanıyor olması, son olarak da öğrencilerin kurulan deneysel düzenekleri anlamasının zaman alması ve düzeneklerde deney esnasında sorun çıkması halinde deneyin sonlandırılma riskleri gibi dezavantajlarının olduğu dile getirilmektedir.

Fizyoloji uygulamalarının ders saatinin azaltılmaması ve yararlı şekilde devam etmesi için, uygulama derslerinde teknolojik gelişimlerden nasıl yararlanılabileceği, üzerinde konuşulan bir konudur. Yaygın olarak dile getirilen görüş, uygulama ders süresinin azaltılmaması ancak çağa uygun olarak gözden geçirilmesidir. Burada özellikle simülasyona dayalı programlar üzerinde durulmaktadır. Günümüzde tıp eğitiminde klinik uygulamalara hazırlık amaçlı olarak simülasyondan faydalanılmaktadır. Bazı ülkelerde simülasyon uygulamaları oldukça önemli yer tutmaktadır. Örneğin Fransa'da etik olarak simülasyon uygulaması yapılmadan hastaya yaklaşmanın yasaklandığı belirtilmektedir. Simülasyon ayrıca fizyoloji uygulamalarında da kullanılmaktadır.

Almanya'da Heidelberg Üniversitesi'nde Sim Heart, Harvey, Hollanda'da Maastricht Üniversitesi'nde CircAdapt gibi simülasyon tekniği ve modelleri ile öğrenciler, tıp fakültesinin ilk üç yılında yer alan kalp ve dolaşım sistemi ile ilgili fizyoloji uygulamalarında simülasyonlar üzerinde çalışmaktadır. Bu modellerde, kalp döngüsünde yer alan basınç-volüm ilişkisi, atriyum, ventrikül ya da büyük arteriyel yapılardaki basınç değişimleri, elektrokardiyografi, kalp sesleri incelemeleri gibi konular gerçek zamanlı simülasyon modellerinde öğrencinin interaktif kullanımıyla incelenmektedir.

Bu tür uygulamalarda genelde on öğrenci ve bir eğiticiden oluşan gruplar oluşturulduğu belirtilmektedir. Simülasyonun, klasik uygulamalara göre uygulama kolaylığı sağlama gibi olumlu yönleri olduğu belirtilmektedir. Ancak bu uygulamalarla ilgili öğrenci memnuniyeti azlığı ve öğrenilen hedefleri test etmek açısından sorunlar olduğu da ifade edilmektedir. İzlediğimiz sempozyumda, ilk üç yıldaki simülasyon uygulamalarında öğrenci memnuniyetinin, klinikle daha fazla karşılaşılan son üç yıla göre daha az olduğu belirtilmekteydi.

Bir araştırma

FİZYOLOJİ UYGULAMA EĞİTİMLERİ NE DURUMDA?

Doç. Dr. H. Murat BİLGİN[1], Prof. Dr. S. Arzu VARDAR[2]

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD[1]

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD[2]

Öğrencinin (simülasyon kullansın ya da kullanmasın) yaptığı herhangi bir uygulama dersinden memnuniyeti, üzerinde önemle durulan bir konuydu. Laboratuvar uygulamalarının memnuniyet verici ve öğrencinin ilgisini çekecek şekilde yapılmasının önemi vurgulanıyordu.

Türkiye'de simülasyon modelleri fizyoloji uygulamalarından daha çok klinik beceri eğitimi amacıyla kullanılmakta olup fizyoloji uygulamalarında simülasyon modelleri kullanımı bildiğimiz kadarıyla yaygın değildir. Ancak birçok tıp fakültesinin fizyoloji uygulamalarında, bilgisayar destekli eğitim programlarından (Biopack, Powerlab vb.) yararlanılarak, bir denek üzerinde kalp ve dolaşım sistemi, solunum, sinir ve hareket sistemi ile ilgili kan basıncı, kalp hızı değişimi, elektromiyografi, elektroensefalografi gibi ölçümler ve kayıtlar yapmaktadır.

Sempozyumda bir diğer tartışma konusu da eğer fizyoloji uygulama dersleri günümüzdeki yeni gelişmeler ışığında gözden geçirilerek korunacaksa, içeriğinin nasıl olması gerektiği üzerineydi. İlk üç yıldaki fizyoloji uygulamaları (bilgisayar destekli ya da farklı uygulama yöntemleri ile) fizyoloji bilgisini artırmaya yönelik mi yoksa beceriyi artırmaya yönelik olarak mı planlanmalı sorusu üzerinde durulmaktaydı. Bu açıdan, örneğin elektrokardiyografi (EKG) uygulamalarında neyin öğretilmesinin daha çok dikkate alınması gerektiğinin sorgulandığını gördük. Meslek hayatları boyunca belki de çok az yapacakları EKG çekimi işini öğrenmek için uygulama sırasında zaman ve emek harcanmasındansa, EKG'nin mantığı ve nasıl değerlendirileceğine dair bilgilerin anlaşılmasına yönelik EKG uygulama eğitimi yapılması gerektiği görüşü dile getiriliyordu.

FEPS 2016'daki eğitim sempozyumunda üzerinde konuşulan bir diğer önemli konu ise genel olarak öğrenciye verilen eğitimin değerlendirilmesinin en uygun şekilde nasıl yapılacağıydı. Bu konu uygulama eğitimleri açısından düşünüldüğünde de değerlendirilmede sıkıntılar olabildiği bildirilmekteydi. Bu açıdan, öğrenciye kendisinden ne beklendiğinin belirtilmesi, bekleneni ne kadar derinlikte öğrenmesi istendiğinin iyi anlatılması gerektiği vurgulandı. Uygulama eğitimleri açısından aklımızda şu sorular belirdi. Biz değerlendirmeyi neden yapıyoruz? Öğrenim hedeflerimizi gerçekten değerlendirme ölçütlerimizle ölçebiliyor muyuz? FEPS 2016'daki sempozyumda tıp alanında uzmanlaşmanın kolay ve kısa bir yolu olmadığı hatırlatılıyordu. Bu durum verdiğimiz eğitimler ile öğrenciden uzmanlaşmak açısından ne kadar ilerleme bekleyebiliriz sorusunu aklımıza getirdi. Bu uzmanlaşmayı nasıl değerlendireceğiz? Bu durumda belki de farklı değerlendirme yöntemleri üzerinde de düşünmek gerekebilir.

Uygulamalarda verilmesi planlanan bilgi, beceri ve davranışlar üzerinde belki de daha ayrıntılı şekilde düşünmemiz gerekiyor. Ayrıca verilmesi planlanan eğitim materyalinin gerçekten öğrencinin ileride etkin şekilde kullanacağı düzeyde olup olmadığı üzerinde düşünmek de yararlı olabilir. Fizyoloji uygulamalarını, öğrencinin hasta ile karşılaştığında fizyoloji bilgisini daha iyi kullanabilmesi ve yetkinliğinin artırılması için yardımcı olarak düşünebiliriz.

Tıp kariyeri bütünlüğü içerisinde, gelişim beklentilerini karşılayabilecek yeni düzenlemelere ihtiyaç duyulduğuna dikkat çeken, FEPS 2016'da izlediğimiz eğitimle ilgili bu sempozyum bize fizyoloji uygulama eğitimlerinde öğretme ve değerlendirme sistemimizi sıklıkla gözden geçirmemiz gerektiğini düşündürdü.

Kaynak: FEPS Teaching Symposium:New Challenges in Teaching Physiology to Medical Students Acta Physiol 2016, 217 (Suppl. 708), 4-5.

29 Temmuz - 1 Haziran 2016 tarihleri arasında Paris'te düzenlenen **FEPS Kongresine** katılan Türk fizyologlar FEPS Genel Sekreteri Prof. Dr. Bayram Yılmaz ile birlikte.

OPTOGENETİK YÖNTEMLER VE FİZYOLOJİK ARAŞTIRMALARA UYGULAMALARI

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]

İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

ÖZET

Optogenetik; optik yöntemleri ve genetik mühendisliğini kullanarak canlı dokularının spesifik hücre gruplarında hızlı ve geri dönüşebilir bir şekilde kontrolünü sağlayan biyoteknolojik bir yöntemdir. Yöntem, spesifik uyarılabilir hücre gruplarının genetik olarak ışığa duyarlı hale getirilerek bu hücrelerin çeşitli dalga boylarındaki ışıklarla aktive veya inhibe edilmesi temeline dayanır. Optogenetik, özellikle sinirbilim camiasına tanıtıldığından bu yana devrimsel bir etki yarattı ve geçmişte yanıtlanması mümkün olmayan birçok problemi deneysel olarak incelenebilir hale getirdi. Bununla birlikte ilerleyen yıllarda birçok tıbbi araştırma alanında kullanıma elverişli olması sayesinde; canlı sistemleri ile alakalı olarak kardiyovasküler sistem, diyabet, periferik sinir sistemi, yağ metabolizması hastalıklarında aydınlatıcı veriler elde etmemizi ve çeşitli hastalıkların tedavisinde önemli adımlar atmamızı sağladı. Bugün yapılan çalışmalar ışığında optogenetik yöntemi; başta sinirbilim olmak üzere çeşitli bilim dallarında da kullanımı yaygınlaşarak karmaşık nöronal ağların haritalanması, hastalık mekanizmalarının aydınlatılması ve farklı tedavi alternatiflerine olanak sağlaması bakımından gelecek vaat eden bir keşif olarak her geçen gün bilim dünyasında yerini sağlamlaştırmaktadır. Bu yazıda da optogenetik yönteminin tanımından, hangi takniklerle kullanıldığından, yöntemle yapılan farklı alanlardaki çalışmalardan bahsedeceğiz.

GİRİŞ

Sinirbilimin başlıca hedeflerinden birisi, sinir hücrelerinin ve oluşturdukları karmaşık ağların aktivitesi ile fizyoloji ve davranış arasındaki ilişkiyi çözümlemektir. Bu da belli sinir hücrelerinin aktivitesiyle oynayabilmeyi ve bunu yaparken de hep aynı sinir hücrelerini tutarlı bir şekilde birden fazla denekte tekrar edebilmeyi gerektirir. Son yıllarda gelişen genetik yöntemler sayesinde her bir sinir hücresinde o hücreye özel bir gen ifadesi olduğunu öğrenmiş bulunmaktayız. Her ne kadar tüm nöronlarda aynı gen dizilimi bulunuyorsa da her bir nöronun kullandığı gen seti birbirinden farklı ve spesifik olarak o nöronun yaptığı işle ilintilidir. Örneğin susama davranışını kontrol eden nöronların vazopressin hormonu reseptörünü ifade eden geni diğer nöronlara göre daha fazla kullanmasını bekleyebiliriz. Bu şekilde gen ifadesi özgünlüğünden faydalanarak nöronları gruplara ayırmak mümkündür. Bu yaklaşım nöronları sınıflandırmak için yapılan diğer yaklaşımlardan, örneğin anatomik yaklaşımlardan daha kullanışlıdır çünkü hemen hemen her zaman doğrudan doğruya bir nöron grubunun özelleşmiş olarak yaptığı işle ilintili bir gen bulup bu nöronlara "genetik erişim" sağlamak mümkündür. Optogenetik yöntemlerdeki "genetik" yaklaşım işte bu avantajın kullanılması ihtiacından ortaya çıkmıştır.

Şimdiye dek nörobilim araştırmalarını zorlaştıran ve ivmesini azaltan engellerin başında spesifik nöron gruplarının aktivitesini hızlı ve o hücrelere özel olacak şekilde kontrol edebilecek yöntemlerin bulunmaması geliyordu. Şimdiye kadar kullanılan tekniklerin başında farmakolojik ve lezyona dayalı yöntemler yer almaktaydı ki bu yöntemler hiçbir zaman spesifik aktivasyonu sağlayamadığı için yarattığı yan etkilerden dolayı hem tanı ve keşifleri zorlaştırıyor hem de tedavi sürecinde istenilmeyen yan etkilere sebep oluyordu. Her ne kadar çeşitli hastalıklardaki temel sorunlar hakkında bazı bulgular olsa da, hücresel devrenin içine girip, farklı hücreleri devre dışı bırakmak ve sonradan hangi nöron gruplarının ne tür fonksiyonlara sahip olduğunu ve bunlardan hangilerinin çeşitli beyin hastalıklarında önemli bir rol oynadığını kesin bir şekilde gösterebilmek, nörobilim araştırmalarında yeni bir çağ açabilirdi. Yaklaşık 10 yıl önce tüm bu engelleri ortadan kaldırıp nörobilim araştırmalarında sıçrama yaşatan optogenetik yöntem spesifik hücre gruplarını genetik metodların da yardımıyla daha önce hiç olmadığı kadar spesifik olarak manipule etmeye olanak sağlıyordu [1]. Yöntemin keşfinde en önemli rolü 1970'li yılların başında tek hücreli canlılardan elde edilen ışığa duyarlı membran proteinlerinin (opsin) keşfi oynamaktadır. Daha sonra bu ışığa duyarlı membran proteinleri Nagel ve ark. tarafından belli hücre gruplarında ifade edilmiştir [2]. Diğer yandan ilerleyen yıllarda Zhang ve ark. tarafından daha farklı opsin grupları hücrede farklı fonksiyonlar için kullanılmak için geliştirilmiştir [3]. Opsin gruplarının hücrelerde eksprese ettirilebilmesinin keşfinin yanında viral aktarım yöntemleri ve optik fiber yardımıyla ışık iletimindeki ilerlemeler optogenetik yönteminin C.elegeans, zebrafish, transgenik fareler, primatlar üzerinde kullanımına olanak sağlamıştır. Tüm bu gelişmelerle birlikte günümüzde dünya çapında 2000'den fazla laboratuvarda optogenetik yöntemiyle çeşitli alanlarda çalışmalar yapılmaktadır.

OPTOGENETİK TEKNİKLERİ

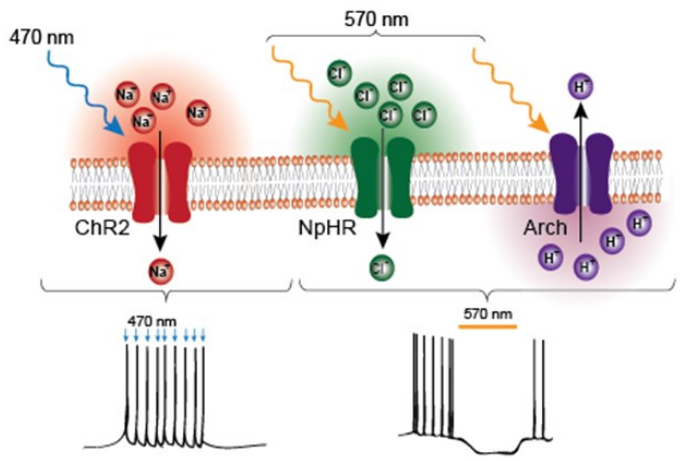
Optogenetik yönteminin uygulanabilirliği birçok temel komponentin birlikte kullanılıp işlenmesiyle mümkün olabilmektedir. Bu temel komponentlerden biri tek hücreli canlılardan elde edilen ışığa duyarlı proteinlerin spesifik hücre gruplarında eksprese ettirilmesidir. Bu proteinlerden en bilinenleri

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]

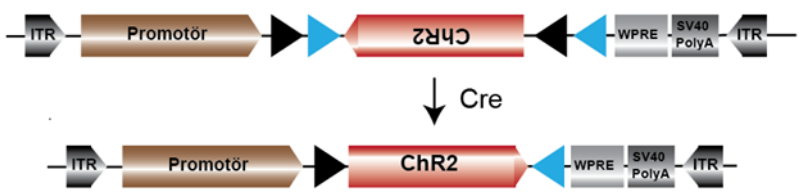
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]
İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

OPTOGENETİK YÖNTEMLER VE FİZYOLOJİK ARAŞTIRMALARA UYGULAMALARI

ve günümüzde en çok kullanılanları *Chlamydomonas reinhardtii* adı verilen tek hücreli yeşil algden elde edilen Channelrhodopsin(ChR2), bir arkebakteri olan *Natronomonas pharaonis* den elde edilen Halorhodopsin (NpHR) ve yine mikrobiyal kökenli Archaerhodopsin'dir (Arch, Şekil-1). Temel olarak incelediğimizde ChR2 bir hücrede eksprese olduğunda 480 nanometrelik (biz bu ışığı mavi ışık olarak algılarız) dalga boyundaki ışığa kapılı bir şekilde çalışır ve konformasyonu değişerek açılır. Bunun sonucunda Na^+ ve K^+ geçebilen bir kanal haline gelir, yani pozitif iyon girişi sağlanır ve bu da hücrenin depolarize olarak hücre aktivasyonu ile sonuçlanır [2]. Diğer bir yandan NpHR hücrede eksprese ettirildiğinde de 580 nm'lik dalga boyunda ışığa (biz bu ışığı sarı ışık olarak görürüz) yanıt vererek hücreye daha fazla Cl^- yani negatif iyon girişi sağlanır ve hücre hiperpolarize olarak hücrenin inhibisyonu sağlanır[3]. Benzer şekilde Arch ise sarı dalga boyundaki ışık ile açılıp hücre dışına proton pompalayarak hücrenin net yük potansiyelinin hiperpolarize hale gelmesini sağlar ve hücrenin aksiyon potansiyel eşiğinden uzaklaşmasını sağlayarak ateşlemesini engeller. İlerleyen teknolojiyle birlikte çok çeşitli membran kanalları daha fazla spesifite, farklı ışık dalga boylarına duyarlılık bakımından geliştirilmiştir ve çeşitli hücre gruplarında kullanılmaktadır [4]. Temel komponentlerden bir diğeri tek hücreli canlılardan elde edilen ışığa duyarlı proteinlerin spesifik hücrelere entegrasyonunu sağlamak için ihtiyacımız olan gen aktarım yöntemleridir. Öncelikle tek hücreli canlıdan izole edilmiş opsin proteini içeren genlerin daha önceden belirlenmiş spesifik hücre grubuna gitmesini sağlayacak hedef hücrelere tanımlanmış promoter eklenerek elde ettiğimiz genomun iletimde kullanacağımız viral vektörlere aktarılması gerekmektedir. Oluşturduğumuz genomun spesifik hücrelere aktarım işlemi genellikle Adeno Associated Virus(AAV) ve Lentivirus(LV) gibi viral vektörler yardımıyla gerçekleştirilir. Daha sonra kendi oluşturduğumuz genoma sahip viral vektörlerin istediğimiz hücre grubunun bulunduğu bölgeye stereotaktik çerçeve ile enjekte edilmesi gerekmektedir. Daha önceden belirlediğimiz hücre grubuna enjekte edilen viral vektörler yardımıyla opsin içeren genomun spesifik hücre grubuna entegrasyonu sağlanır. Günümüzde opsin içeren genomun istediğimiz hücre grubunda daha spesifik bir şekilde eksprese olabilmesi için Cre- rekombinaz bazlı genetik aktarım yöntemleri kullanılmaktadır (Şekil-2 [5]. Son yıllarda birçok nöron grubunu hedeflemek için Cre-rekombi-naz ifade eden transgenik hatlarını ticari olarak elde etmek mümkündür. Hücrelerde entegre ettiğimiz opsin grubuna göre aktivasyonu veya inhibisyonu sağlayacak temel komponentlerden biri de ışığa duyarlı membran kanalarının geçirgenliğini sağlayacak çeşitli dalga boylarında ışık oluşturan optik araçlardır. İlk başlarda deney canlısının başına implante ettiğimiz optik fiberler aracılığıyla çeşitli dalga boyların-



Şekil-1: Çeşitli bakteriyel ve alg kaynaklı opsinleri ifade eden genlerin nöronlara aktarılması ışık yardımıyla nöronal aktivite manipülasyonlarına olanak sağlamıştır.



Şekil-2: Spesifik hücre gruplarında optogenetik proteinlerinin viral bazlı genetik teknikler kullanılarak ifade edilmesi. FLEX (Flip-excision) adı verilen bir genetik anahtarı sadece ve sadece Cre-rekombinaz varlığında gen ifadesine izin verir. Bu anahtarı virüs içine yerleştirerek, Cre-rekombinaz enzimi ifade eden nöronlarda spesifik olarak FLEX reaksiyonunun yani optogenetik proteini ifade eden genin kodlayan sekansının anlamlı bir yöne çevrilmesi işinin gerçekleşmesi sağlanır. Böylece spesifik olarak Cre-ifade eden nöronlar ışığa duyarlı hale getirilir.

OPTOGENETİK YÖNTEMLER VE FİZYOLOJİK ARAŞTIRMALARA UYGULAMALARI

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]

İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

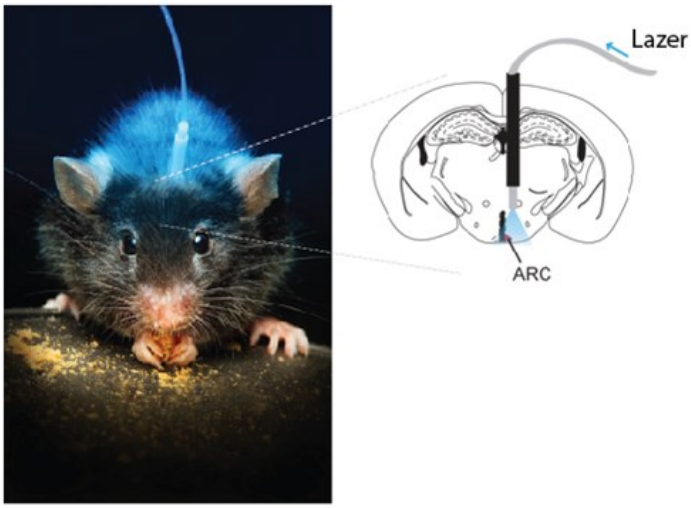
daki ışıklar belirli bölgeye ulaştırılırken, günümüzde kablosuz optik araçlar yardımıyla ışıkla uyarım sağlanabilir (Şekil-3) [5].

OPTOGENETİK UYGULAMALAR

A) Merkezi Sinir Sistemi

A i. Epilepsi

Epilepsi nöronların ani ve aşırı uyarılabilirliğinin artması sonucu beyindeki anormal elektriksel aktiviteden kaynaklanan tekrarlayan spontan nöbetlerle kendini gösteren klinik bir durumdur. Epileptik nöbet ise beyindeki bu ani ve anormal elektriksel değişikliğin klinik olarak motor kontrolde, davranışlarda, otonomik fonksiyonda, duyusal algıda çeşitli değişiklikler olarak kendini göstermesidir[6]. Günümüzde 50 milyondan fazla epilepsi hastası bulunmaktadır [7]. Bu hastaların %20 den fazlası da uygun ilaç tedavilerine rağmen nöbetlerin devam ettiğini belirtmektedir [8]. Bu durum ilaca dirençli epilepsi kavramını da desteklemektedir [9].Epilepsi de uygulanan diğer bir tedavi yöntemi ise nöbet kaynağı olan bölgeyi cerrahi yöntemlerle rezeke etmektir. Ancak bu yöntemde motor fonksiyonlarda istenmeyen etkilerin gözükmesine neden olabilir. Uygulanan tüm konservatif, medikal ve cerrahi yöntemler epilepsi hastalığının tedavisi konusunda beklentiyi tam olarak karşılayamamaktadır. Bu durum epilepsi tedavisinde farklı arayışlara neden olmaktadır. Ketojenik diyet, vagal, kortikal, subkortikal uyarım gibi yeni sayılabilecek tedavi yöntemleri şimdilik sınırlı bir başarıya sahiptir [10]–[12]. Optogenetik ise şu an hâlihazırda araştırmaları devam eden epilepsi tedavisinde umut olabilecek yöntemlerden biridir. Optogenetik metoduyla epilepsi çalışmalarındaki temel iki yaklaşım ya sinaptik eksitasyonun azaltılması ve/veya sinaptik inhibisyonun artırılması şeklinde özetlenebilir. Optogenetik yöntemi kullanılarak epilepsiye yönelik yapılan ilk çalışmada 2009 yılında Tonnesen ve ark. NpHR içeren lentivirüsleri CamKIIa promoteri yardımıyla ilaca dirençli epilepsi model doku olarak kullanılan hipokampal organotipik kesitlere aktardılar. Bu promotör spesifik olarak eksitasyon yaratan hücrelerde çalışmaktadır. Daha sonra halorodopsin(NpHR) eksprese eden hücreler turuncu ışıkla aydınlatıldığında halorodopsinlerin ışığa duyarlılık özelliği sayesinde hiperpolarizasyon gerçekleşti ve buradaki aksiyon potansiyeli oluşumu engellendi. Sonuç olarak hipokampal nöronlardaki epileptiform aktivite baskılanmış oldu [13]. Yapılan bu ilk çalışma bize epileptik deşarjlara neden olan uyarımların optogenetik yöntemler kullanarak *in vitro* ortamda engellenebileceğini gösterdi. Tabi ki daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardı. Wykes ve ark. motor kortekse tetanos toksini enjekte edilerek fokal neo-kortikal epilepsi modeli oluşturulan sıçanlarda optogenetik yöntemi ve gen terapisini kullanarak spontan nöbetlerin azaltılabileceğini *in vivo* ortamda gösterdiler[14].



Şekil-3: Optogenetik proteinlerin ifade edildiği nöronlar implante edilen fiber optik yardımıyla intrakranial olarak verilen ışık sayesinde milisaniyeler seviyesinde bir zamansal çözünürlükte kontrol edilebilirler.

Yapılan diğer bir in vivo çalışmada da Krook-Magnuson ve ark. ilk olarak nöbetlere neden olan uyarıcı hücrelerin inhibisyonunu sağlayarak nöbetleri engellemeye çalıştılar. Bunun için kainik asid enjekte ederek oluşturduları temporal lob epilepsili transgenik fare modellerinde optogenetik yöntemiyle nöbetleri 1 saniye içinde %57 engellediler ve nöbet süresini yaklaşık %70 azaltmayı başardılar. Aynı çalışmada ikinci olarak nöbet oluşumunda inhibitör rolü olan GABA'erjik nöronların alt hücre gruplarının aktivitesini channelrhodopsin ile uyarmak suretiyle artırarak nöbetleri durdurmaya çalıştılar. Bunun içinde hippokampal nöron grubunda %5'ten daha az yoğunluğa sahip olan parvalbumin (PV) içeren alt grubu seçtiler. PV-ChR2 fare modellerinde yine kainik asit kullanılarak temporal lob epilepsili model oluşturuldu. Daha sonra ChR2 yardımıyla GABA'erjik nöronların

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]
İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

etkinliği artırılarak nöbetleri 5 saniye içinde %59 oranında durdurabilirken nöbet süresinde de %43'lük bir azalma kaydedildi. Bu sonuç hem inhibitör nöronların aktivasyonuyla nöbet oluşumunun engellenebileceğine kaynak oldu hem de optogenetik yönteminin geleneksel yöntemlere karşı en önemli üstün özelliği olan spesifik hücre manipulasyonunu bir kez daha kanıtladı. Çalışmada dikkat çeken diğer bir ayrıntı ise Krook-Magnuson ve ark. nöbetleri algılayıp tanımlayabilen ve buna gerçekle eş zamanlı bir şekilde yanıt verebilen ayarlanabilir bir kapalı devre (closed-loop) kullandılar. Kullanılan bu kapalı devre sayesinde öngörülemeyen nöbetlerin oluşumunu gerçekle eş zamanlı olarak algılayıp hızlı bir biçimde ışık göndemiyle yanıtlayarak spesifik hücrelerde inhibisyon veya aktivasyon yoluyla nöbetleri durdurmayı ve nöbet süresini azaltmayı başardılar [15].

Tedaviye yönelik yapılan çalışmaların yanı sıra epilepsinin hala tam olarak aydılatılamamış patofizyolojisini aydınlatmak, antiepileptik ilaçların etkinliğinin ve yan etkilerini daha iyi anlayabilmek, diğer tedavi seçeneklerini değerlendirmek için de epileptik hayvan modellerine ihtiyaç vardır. Optogenetik yöntemini kullanarak epileptik hayvan modelleri oluşturma işleminde dikkat edilmesi gereken noktalar bugüne kadar yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Wagner ve ark. somatosensoriyel korteksde absans epilepsi gözlenen WAG/Rij rat modellerinde yaptıkları çalışmalarda optogenetik yöntemini ve mikroelektrod dizi kayıt yönemini birleştirdiler. Çalışmada bölgesel neokortikal ritmik deşarjların oluşması içi uyarıcı nöronların yaklaşık 10 Hz. Lik frekanslarla stimule edilmesi gerektiğini gösterdiler [16]. Yekhlef ve ark. epilepsinin interiktal ve iktal olaylarının tetiklenmesinde önemli rolü olan internöronlar üzerine odaklandılar. Bunun için paravalbumin (PV) ve somatostatin eksprese eden internöronları seçtiler. Çalışmada PV ve somatostatin internöronlarından ChR2 eksprese ettrildi. 4-aminopiridin perfüzyonu uygulanan örneklere kısa aralıklarla (300 ms) yapılan stimulasyon sonucu epileptiform aktivite gözlendi. Çalışmanın sonucunda da medial entorinal kortekste bulunan paravalbumin ve somatostatin eksprese eden internöronların nöbetle ilgili ve nöbetler arası gerçekleşen deşarjların tetiklenmesindeki rolünün neredeyse birbirine eşit olduğunu buldular [17].

A ii. Parkinson Hastalığı

Parkinson Hastalığı (PH) bazal gangliyonlardaki substansiya pars kompaktada dopamin salgılayan hücrelerin yıkımına bağlı ortaya çıkan bir hareket bozukluğu hastalığıdır. Bazal gangliyonlardaki bu yıkım hastalarda istirahat anında tremor, bradikinezi, postural refleks kaybı ve rijidite bulguları olarak ortaya çıkar [18]. Parkinson hastalığı dünya üzerinde yaklaşık 7.5 milyon insanın etkilendiği bir nörolojik hastalıktır[19]. Yapılan diğer bir epidemiyolojik çalışma sadece 2030 yılında 50 yaş üstü Parkinson Hastalarının 9 miyon kişiyi bulacağını göstermektedir[20]. Bu olumsuz öngörülerle birlikte şu an PH hakkındaki bilgilerimiz bölgesel beyin lezyonuna sahip, cerrahi lezyonları olan ya da elektriksel stimulasyonla uyarılmış hastalardan elde ettiğimiz klinik gözlemlere dayalıdır. PH'da çok farklı mekanizmalara etki eden farmakolojik ajanlar ile nöroprotektif ve semptomatik olarak tedavi sağlanılmaya çalışılmaktadır. Ancak uygulanan farmakolojik tedavilerin ilerleyen günlerde hastalarda ortaya çıkardığı halusilasyon, uykusuzluk, psikozis gibi durumlar tedavi yöntemini sorgulatmaktadır. Egzersiz, beslenme gibi nonfarmakolojik yöntemler de destek tedavisi yönünden önemlidir. Günümüzde ise PH'da uygulanan etkin invaziv tedavi yöntemlerden biri Derin Beyin Stimulasyonu (DBS) yöntemidir. DBS Parkinson hastalarında günümüzde etkin olarak kullanılmaktadır ve tremorların azalmasında çok hızlı etki gösterir. Bununla birlikte tedavi sırasında ortaya çıkan kognitif ve davranışsal problemler uygulama konusunda düşündürücüdür. Diğer yandan DBS yoluyla yapılan tedavinin de etki mekanizmasının tam anlaşılmaması ve elde edilen spesifikliğin yetersizliği PH'da başka tedavi yöntemlerinin de gerekliliğini gösterir. PH'da DBS yapılırken kullanılan yöntem subtalamik nükleusun veya globus pallidus interna nın yüksek frekanslı uyarımıdır.

Optogenetikle yapılan ilk çalışmalardan biri de PH da kullanılan DBS nin etki mekanizmasında rol oynayan nöral bağlantıları anlamaya yöneliktir. Gradinaru ve ark. kullandıkları hemiparkinson modelli sıçanların STN'unun eksitator nöronlarında susturucu opsin olan NpHR eksprese ettirdiler. Çalışmada STN'nin aktivasyonu veya inhibisyonu ratlarda görülen semptomların gerilemesini sağlamadı. Bu sonuç DBS nin etki mekanizmasını açıklayan; lokal nöronların yüksek frekanslı uyarımıyla inhibisyonu görüşüne uymuyordu. Bununla birlikte DBS lokal nöronların yanı sıra onların aferent liflerini de uyararak etki ediyor olabilirdi. Çalışmanın diğer adımında STN'nin aferent liflerinin yüksek frekanslı fotostimulasyonla uyarımı PH semptomlarını önemli biçimde azalttı.

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]
İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

Aynı çalışmada motor korteksin 5. seviyesindeki piramidal nöronların ve STN aferentlerinin ChR2 ile aktivasyonu PH semptomlarını anlamlı ölçüde arttırdı [21]. Bu ilk çalışma, PH üzerine optogenetik yöntemiyle yapılacak diğer çalşmaların önünü açmış oldu. Aynı zamanda STNnin direk uyarımına göre aferent liflerinin uyarımının PHdaki semptomların engellenmesinde daha etkili olduğunu vurguladı.

Burada dikkat etmemiz gereken bir nokta da optogenetik yönteminin geleneksel yöntemlere nazaran beyin içi projeksiyonların anlaşılmasında çok daha yüksek spesifiteye sahip oluşudur. Diğer bir çalışmada ise hareket ve öğrenme eyleminin başlamasında ve sonlandırılmasında bazal gangliyonların katkısını Jin ve ark. optogenetik yöntemleri kullanarak öğrenmeye çalıştılar. İlk çalışmada substansiya nigra pars kompaktadaki dopamin nöronlarının optogenetik yöntemiyle uyarılabilir hale getirdiler. Daha sonra bu dopamin nöronlarının eylemin başlangıç silsilesindeki aksiyon potansiyeli artışını gösterdiler. Bu çalışma ile eylem başlangıcındaki fonksiyonel organizasyonun anlaşılmasında ve bazal gangliyon hastalıklarındaki hareket dizisinin kavranmasında önemli bulgular elde edildi. İkinci çalışmada ise Jin ve ark. optogenetik yöntemiyle hızlı hareket dizillerinde eylem başlangıcında ve sonlandırılmasında striatonigratal ve striatopallidal yolak nöronlarının aktif olduğunu gösterdiler[22]. Bu bulgu da PH gibi hareket bozukluklarının etyolojisinde rol oynayan bazal gangliyonların ve onun direk ve indirek yolaklarının daha iyi anlaşılması açısından önemlidir.

PH üzerine yapılan ilk çalışmadan bugüne PH patofizyolojisini anlamaya ve tedavi etkinliğini artırmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bununla birlikte ileri PH üzerinde viral vektörler yardımıyla gen terapisi yönteminin denenmeye başlamış olması ve bu yöntemin kısa vadede olumlu sonuçlar vermesi, optogenetik yönteminin de ileride PH tedavisinde kullanılmasının gerçekleşmesi için çok önemli bir gelişme olarak kabul edilmelidir [23].

A iii. Retinitis Pigmentosa

Retinitis pigmentosa (RP) kalıtımsal ve progresif retinal dejenerasyon hastalığıdır. Erken dönemde gece körlüğü gibi semptomları olan hastalık ileri dönemde tam körlüğe neden olur. Dünya üzerinde RP li hasta sayısı 2 milyondan fazladır. Hastalar şu an mümkün olan tedavi yöntemleri ile -örneğin yüksek doz A vitamini uygulaması gibi- yeterince tedavi edilememektedir. Nadir görülen bir genetik hastalık olmasıyla beraber tedavi için gen terapisi seçeneğini akla getirmektedir. Ancak RP nin 100'den fazla mutasyona sahip olması sebebiyle direkt protein yerleştirilmesi yoluyla yapılacak geleneksel tedavi yöntemi çok az sayıda hastaya yardım edebilecektir. RP nin birden çok mutasyona sahip olması tedavi arayışımızı gen terapisinden faklı yönlere çekmektedir. RP ile ilgili keşfinden bugüne kadar çeşitli optogenetik yaklaşımlar rapor edilmiştir. İlk yaklaşımda bipolar hücreler ya da retinal gangliyon hücreleri olarak adlandırılan hücreler ChR2ler yardımıyla optik yöntemlerle depolarize edilmiştir. Hücrelerdeki bu değişimle retina yeniden ışığa duyarlı hale gelmiş ve bunu beynin algılayabileceği sinyallere dönüştürmüştür [24]. Diğer bir yaklaşım ise fonksiyonunu yirtirmiş ama hala canlı koni hücrelerini optogenetik yöntemler kullanarak hiperpolarize duruma getirmek. Bu da koni hücrelerinin ışığa duyarlılığını yeniden artıracaktır [25].

Burada önemli olan nokta şudur ki bu farklı RP tedavi yaklaşımları farklı hasta popülasyonunu hedeflediği ve tedavi dejenerasyonun evresine bağımlı olduğu için birbirini tamamlayıcı nitelik taşımaktadır. Busskamp ve ark. RP nın halorodopsin bazlı terapisine yönelik yaptıkları çalışmada RPli fare modellerinde ışığa duyarlılığını kaybetmiş koni hücrelerini ışığa duyarlı hale getirdiler. Yeniden duyarlı hale gelen fotoreseptörler tüm retinal koni yolağını aktive etti; retinal ve kortikal ağ fonksiyonları gerçekleşti. Sonunda RP modelli fareler görsel yeteneklerine yeniden kavuştular ve davranışlarını buna göre yönlendirmeye başladılar[25].

A iv. Depresyon

Depresyon hastalığına bağlı ortaya çıkan klinik semptomların heterojenitesi ile korele olarak hastalığa neden olan biyolojik mekanizma da oldukça kompleks ve -şimdilik- büyük oranda anlaşılmazdır. Dünya üzerindeki yaşayan populasyonun %13 ten fazlasının major depresyonla ilişkili problemler yaşamasına rağmen depresyon hastalığının altında yatan patofizyolojik mekanizma hala tam olarak anlaşılamamıştır. Depresyon kortikolimbik, dorsal rafe, hipokampal, amigdalar, striatal mezolimbik ağların farklı nöral yolaklarına bağlı olarak gelişebilir. Bununla birlikte depresyon mekanizmasında serotonin, noradrenalin, dopamin gibi mediyatörlerin rolü büyüktür. Günümüzde depresyon tedavisi için kullanılan farmakolojik ajanlar bu mekanizmalar üzerinden semptomların giderilmesi prensibiyle çalışır. Ancak bu ajanlar beklenen etkiyi göstermemekle beraber etkisinin görülmesi için en az 4 -6 haftalık bir tedavi zamanına ihtiyaç vardır. Buna ek olarak

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]
İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

antidepresan ilaçların etki mekanizmasının da tam olarak bilinememesiyle beraber uykusuzluk, uyuşukluk, konstipasyon, bulantı, kusma, diyare gibi birçok yan etkisi bulunmaktadır. Diğer bir tedavi yöntemi olan derin beyin stimulasyonu major depresyonlu hastalarda invaziv bir yöntem şeklinde kullanılmaktadır. DBS yöntemi farmakolojik tedavi ajanlarına göre daha az zarar verici ve daha hedefe yöneliktir. Ancak yanlış ve yüksek frekanslı uyarım tedaviye direçli depresif hastalarda semptomları ilerletebilir hatta bu vakalarda intihar olayları bile gözlenebilir. Ayrıca DBS yöntemiyle uyarılan bölgenin kompleks beyin ağı içerisinde yer alan farklı projeksiyonlarla başka bölgelerin de bu uyarımdan etkilenebilecek olması istenmeyen sonuçlar doğurabilir. Sonuç olarak depresyon tedavisinde kullanılan farmakolojik ajanların, DBS yönteminin etki mekanizmasının altında yatan fizyolojik mekanizmaları anlamak hem yan etkileri en aza indirecek hem de yanlış tedavi kullanımlarından kaçınılmasını sağlayacaktır.

Depresyon çalışmalarında optogenetik yöntemi etkisini gösterirken alan, bölge ve hücre spesifikliği sağlamasıyla farmakolojik ajanların etkisinde ve DBS tedavisinin etkinliğinde dramatik bir artışı sağlayabilir. Ek olarak optogenetik yönteminde kullanılan hücre tipi spesifik promoterlar ve Cre-bağımlı hedef stratejilerinin kullanımı hücresel ve bölgesel spesifiteyi artırabilir [26].

Depresyonla ilgili yapılan optogenetik çalışmalarda da odak noktası genellikle prefrontal korteks, ventral tegmental alan, nükleus akumbens gibi yapılar ve bunların hem birbirleri arasında hem de diğer bölgelerle yaptığı projeksiyonlar olmuştur. Covington ve ark. kronik sosyal yenilme (defeat) stresi protokolü uygulayarak oluşturdukları duyarlı farelerde mediyal prefrontal korteksin (mPFK) fotostimülasyonuyla uyarımı sonucu güçlü antidepresan etki gözlemlediler [27]. Bununla birlikte yapılan ileri bir çalışmada da Vialou ve ark. mPFK'in uyarımı sonunda ortaya çıkan davranışsal durumlarında mPFK in beynin diğer bölümlerine yaptığı projeksiyonların ulaştığı bölgedeki etkilenimin de rolü olduğunu gösterdiler. Bunun için sosyal yenilme stres modelli hayvanların nükleus akumbensindeki mPFK projeksiyonun terminallerini aktive ettikleri hayvanlarda antidepresan etki gözlemlediler [28].

Ventral tegmental alana (VTA) odaklı çalışmalardan birinde Chaudhury ve ark. VTA-nükleus akumbens nöronlarının fazik aktivasyonu depresif davranışların başlamasına neden olurken aynı nöronların fazik inhibisyonu depresif davranışların oluşumunu engelledi [29]. Bütün bu çalışmalar ve daha birçoğu beynimizin farklı bölgelerindeki projeksiyonların görevlerini açıklarken depresyon hastalığına yol açan nöral ağ kompleksindeki değişiklileri de anlamamıza ışık tutmaktadır.

B) Diğer Sistemler

B i. Kalp Ritm Bozuklukları

Optogenetik metod evrensel bir mekanizma ile çalışarak hücre yüzeyindeki iyon geçirgenliğini keyfimizce kontrol edebilmemize olanak sağlamaktadır. Sonuç itibariyle sinir hücrelerinin yanı sıra membran potansiyeli olan ve uyarılabilen tüm hücreleri ilgilendiren çalışmalarda optogenetik yöntem uygulanabilir. Bu bağlamda optogenetik yöntemiyle sinirbilimin uğraştığı alanlarda yapılan çalışmalara ek olarak farklı alanlarda da çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu alanlardan biri de canlılardaki dolaşım sisteminin ana elemanı olan kalp ve onu oluşturan çeşitli hücresel yapılardır. 1980 li yıllarının başından beri kalp ritim bozukluklarında tedavide altın standart olarak implante edilebilir pacemaker'lar, defibrilatörler gibi elektriksel terapi araçları güvenli ve etkili biçimde kullanılmaktadır. Bununla birlikte günümüz pacemakerlarının implante edildiği bölgede dışa bağımsız olarak çalışması için enerjilerini sağlayan pil ömrü yaklaşık 4 ve 7 yıl arası sürelerle sınırlıdır [30]. İntrakardiyak defibrilatörlere baktığımızda ise taşiaritmileri durdurmak için yüksek enerjili şok hem kardiyak alanda hem de kardiyak bölgenin komşuluğunda ağrı oluşturmaktadır. Ayrıca intrakardiyak defibrilatör kullanan kişilerde genel populasyona göre depresyon ve anksiyeteye eğilim arttığı gözlemlenmiştir [31].

Optogenetik yönteminde kullanılan optik yöntemlerin daha az enerjiye ihtiyaç duyması, uygulanımında daha konforlu bir yaşam sağlayabileceği düşüncesi yöntemin ileride kardiyak ritim bozukluklarında kullanılan elektriksel araçların yerine geçebileceği öngörüsünü sağlamaktadır. Bu öngörüyü gerçeğe dönüştürebilmek için kalp hücrelerinin optogenetik manipülasyonunu sağlamaya çalışan birçok önemli çalışma yapılmış bu konuda önemli bir mesafe kısa zamanda kat edilmiştir. Arrenberg ve ark. zebra balığı modellerinin kardiyomiyosit hücrelerinde ChR2 ve NpHR eksprese ettirerek optik yöntemlerle kontrol edilebilen *pacemaker* benzeri hücresel yapı oluşturdular. Bu hücreler farklı dalga boylarındaki ışıklar kullanılarak stimüle edildiğinde in vitro ortamda zebra balığı kalbinde taşikardi, bradikardi, atriyoventrikuler blok ve kardiyak arrest gibi durumları gözlemlediler [32]. Bruegmann ve ark. ise 2010 yılında optogenetik yöntemini ilk defa memeli

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]
Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]
İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

kalbinde kullandılar. Çalışmada fare kök hücrelerindeki CAG promoteri yardımıyla elde edilen ChR2 ekspresyonu ile embriyonik kök hücrelerden purifiye edilen kardiyomiyosit hücrelerini birleştirerek in vitro ortamda optik olarak bu hücrelerin ritmini kontrol etmeyi başardılar. Ek olarak kardiyak ChR2 eksprese eden transgenik fare ürettiler ve bu fareler üzerinde ışık sinyalleriyle normal kalp ritmini düzensizleştirdiler. Aynı fareler üzerinde uyguladıkları uzun ışık sinyalleriyle bölgesel aritmiler elde ettiler [33].

Bu çalışmalar optogenetik yöntemiyle kardiyak fonksiyonların düzeni üzerine yapılan ilk çalışmalardır. Bu çalışmalarda kullanılan transgenik canlıların kalplerinde yapılmıştı. Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise Vogt ve ark. in vivo ortamda optogenetik yöntemiyle oluşturulacak *pacemaker* aktivitesinin klinik uygulamada güvenli kullanımına yönelik olarak AAV vektörleriyle normal kalp hücrelerindeki *gap junction'*larında yeterli aksiyon potansiyeli oluşturacak ChR2 üretmeyi başardılar [34]. Yapılan çalışmalar bizleri optogenetik *pacemaker'*lara ve bunların klinik uygulamalarına bir adım daha yaklaştırmıştır.

B ii. Yağ Metabolizması

İnsan vücudunun yaklaşık %20'lik kısmını yağ doku oluşturur. Yağ dokusunun enerji depolama, çeşitli hormonların salınımı gibi görevleri vardır. Ek olarak son yapılan çalışmalarda yağ dokusunun immun sistem düzenlenmesinde de rol oynadığı gösterilmiştir. Canlılarda vücut ağırlığının dengesini sağlayan en önemli hormonlardan biri leptin hormonudur. Leptin hormonu yağ hücreleri tarafından sentezlenir ve leptin miktarı vücuttaki yağ kitlesiyle orantılıdır. Leptinin kandaki seviyesinin düşmesi iştahı artırırken bazal metabolizma hızını düşürür. Tam tersine leptin hormonunun kandaki seviyesinin artışı iştahı azaltır ve yağ yıkımını tetikler. Leptin hakkındaki bu bilgilerimize rağmen çok yakın zamanlara kadar leptinin direk yağ dokusuna etkisinin nasıl olduğuna dair yeterli bilgiye sahip değildik.

Yakın zamanda Ana Domingos ve ekibi tarafından yapılan çalışmada beyaz yağ dokusunun nöronlar tarafından direk uyarıldığı ve bu uyarının yağ yıkımını başlatmaya yetecek düzeyde olduğu keşfedildi. Bu araştırmada Ana Domingos ve ekibi öncelikle yağ dokusundan diseke ettikleri sinir liflerinin sempatik nöronlar içerdiğini gösterdiler. Bu sinirleri optogenetik yöntemlerle uyardılar. Uyarım sonucu sinir terminallerinde norepinefrin salınımı gerçekleşti. Sinir teminallerinden salınan nörepinefrin, yağ dokusunda yağ hücrelerinin lipolizini sağlayan kaskadı başlattı. Çalışmada bu nöronal sistemin çalışmamasının leptinin yağ yıkımı fonksiyonunu gerçekleştiremeyeceğini buldular. Ana Domingos ve ekibinin yaptığı bu ilgi çekici ve önemli çalışma gelecekte keşfedilecek yeni obezite tedavilerine zemin hazırladı.

B iii. Periferik Sinir Sistemi

Periferik sinir sistemi (PSS) içerdiği motor, duysal ve otonomik sinir liflerine göre vücudun farklı bölgelerinde farklı görevler üstlenir. PSS hasarlanmalarında sinir aksonlarının distalinde akson ve ardından gelen miyelin kılıflar dejenere olur. Optogenetik yöntemiyle periferik sinir sistemi ile ilgili yapılan çalışmalar motor kontrol, somatosensöriyel transdüksiyon, ağrı konsepsiyonu durumlarında üstünlük sağlayabilir. Ancak bu üstünlüğün gerçekleşebilmesi için yeni metotlar gereklidir. Towne ve ark. siyatik sinirle ile ilgili yaptıkları çalışmada ChR2 içeren AAV-6 vektörlerini intramusküler olarak farelerin gastroknemius ve tibialis anterior kaslarına enjekte ettiler. Vektörlerin yardımıyla sadece bu kası uyaran siyatik sinir liflerinin motor nöronlarında ChR2 ekspresyonu sağladılar. Çalışmada ChR2 eksprese eden motor nöronları spesifik olarak stimüle edebilmek için yeni bir optik sinir kılıfı kullandılar. Geleneksel non-spesifik elektriksel uyarım metodunun aksine hedeflenmiş motor nöronlar, optik sinir kılıfını kullanarak uyarıldığında bu motor nöronların uyardığı kas grubunda spesifik aktivasyon gözlendi [35]. Spesifik kas gruplarının uyarımında sağlanan bu avantaj ilerleyen yıllarda inme ve diğer nörolojik hasarlanmaların tedavisinde kullanılabilir.

B iv. Respiratuvar Sistem

Normal ve stabil solunum hareketleri oluşturabilmek için beyin sapındaki solunum çekirdeklerindeki sinaptik inhibisyonun hayati olduğu farmakolojik çalışmalarla daha önceden gösterilmiştir. GABA'erjik ve glisinerjik nöronlar bu solunumla ilişkili çekirdeklerin yapısında bulunur. Bazı farmakolojik çalışmalar göstermiştir ki, ekspirasyonun erken evrede hızlı inhibisyonu glisinerjik nöronlar sağlarken; ekspirasyonun geç evresindeki inhibisyonu GABA'erjik nöronlar sağlamaktadır. Ancak bu bulgular hala tartışılmaktadır. Beyin sapında bulunan preBötzinger ve Bötzinger nöron toplulukları içinde bulunan eksitatör ve inhibitör nöronlar arasındaki etkileşimler sayesinde stabil bir inspirasyon ve ekspirasyon paterni oluşur. Ancak bu nöron gruplarının solunum mekanizmasındaki fonksiyonları, özellikle preBötzinger ve Bötzinger çekirdeklerinin respiratuvar basınç ve havayolu kaslarının fazik kontrolü üzerindeki etkileri aydınlatılamamıştır.

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]
İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

OPTOGENETİK YÖNTEMLER VE FİZYOLOJİK ARAŞTIRMALARA UYGULAMALARI

Bu belirsizlik araştırmacıları daha önceden yapılan farmakolojik çalışmaları referans alarak solunum mekanizmasında rol oynayan kompleks ağların incelenmesinde optogenetik yöntemini kullanmaya yöneltmiştir [36]. Günümüzde optogenetik yöntemiyle bu konu hakkında yapılan çok az çalışma vardır. Fakat yine de optogenetik yaklaşım eksitasyon ve inhibisyona yol açan nöronlara hızlı ve spesifik olarak erişim sağladığı için geleneksel yöntemlerden çok daha avantajlıdır.

Bu çalışmalardan birinde Sherman ve ark. (GlyT2)-Cre transgenik farelerinde preBötzinger kompleksteki glisinerjik nöronlarda ChR2 ve Arch ekspresyonunu sağladılar. ChR2 eksprese eden farelerin preBötzinger kompleksi bölgesi hedeflenerek yapılan bilateral fotostimülasyonu erken evrede inspirasyonu durdurdu. Bununla birlikte aynı farelerde ekspiratuvar faz fotostimülasyonu sonucunda bir sonraki insprasyon başlangıcı gecikmiş ve uzamış fotostimulasyon sonucunda da stimulasyon boyunca devam eden apne üretimi gözlendi. Diğer yandan Arch eksprese eden fareler inspiratuvar fazın ışıkla uyarımı sonucunda inspirasyon süresi değişmeden tidal volümün artığı gözlenmiştir. Bunun yanında ekspiratuvar faz ışık ile uyarıldığında bir sonraki inspirasyona kadar süren latent dönemin kısaldığı gözlemlenmiş. Araştırmacılar bu bulgular sonucunda preBötzinger bölgesindeki glisinerjik nöronların inspirasyon olayını düzenlediğini ve özellikle refleks apneler üzerinde önemli bir rol oynadığını sonucuna varmışlar [37]. Yapılan bu çalışmalar sonucunda preBötzinger ve Bötzinger çekirdeklerinde yer alan inhibitör nöronların solunum esnasındaki inspiryum ve ekspiryum fazlarının kontrolünün mekanizması anlaşılmaya başlanmasıyla beraber hala tam olarak çözümlenememiştir ve yeni araştırmalara ihtiyaç duymaktadır.

B v. Kök Hücre

Kök hücreler canlı gelişiminde ve hayatın erken dönemlerindeki doku farklılaşmasında rol oynayan birçok farklı hücre tiplerine dönüşme potansiyeline sahip hücrelerdir. Son yıllarda kök hücrelerle yapılan çalışmalardan birçok hastalığın tedavisinde umut olabilecek birçok önemli bulgu elde edilmiştir. Kök hücre bazlı terapiye ek olarak kök hücrelerin rejeneratif tıp alanında da kullanımı bu hücrelerin tedavideki potansiyelini artırmıştır. Yapılan yeni çalışmalarda da kök hücre bazlı terapi yöntemi ve optogenetik yöntemi birbirini tamamlayıcı tedavi protokolü olarak farklı hayvan modelleri üzerinde çalışılmıştır. Bryson ve ark. fare embriyonik kök hücrelerinden oluşturulan motor nöronları ışığa duyarlı hale getirdiler. Bu kök hücreleri siyatik sinir lifleri denerve edilmiş farelere aktardılar. Aktarımı yapılan kök hücreler hasarlanan bölgedeki sinir uyarımını yeniden sağlarken; ışığa duyarlı motor nöronlar optik metotlar kullanılarak uyarıldı ve uyarı sonucunda farelerde istemli hareketler geri kazanıldı [38].

Cunningham ve ark. çalışmalarında insan pluripotent kök hücrelerinden geliştirilen GABA'erjik internöronların epilepsi modelli fare beyninde fonksiyonel bozukluğa neden olan bölgeye göç edişlerini ve orada bulunan diğer hücrelerle etkileşime girdiklerini gözlemlediler. Daha sona optogenetik yöntemini kullanarak hipokampüs bölgesine enjekte ettiğimiz GABA'erjik internöronların postsinaptik inhibitör oluşturduğu sonucunu elde ettiler. Çalışmada ilgi çeken diğer bir nokta ise bu nakledilen nöronlar matürleşmeden de epileptik nöbetleri baskılama özelliğine sahip olmalarıdır [39]. Optogenetik yönteminin ve kök hücre bazlı terapinin kombine edilerek ugulandığı bu öncü çalışmalar yıllardır etkin tedavisi olmayan hastalıkların çözümü için şimdiden sahneyi hazırlamaktadır.

Sonuç: Optogenetik ilk keşfinden bugüne gerek in vitro ortamlarda yapılan gerekse canlı sistemlerinde yapılan çalışmalarla birlikte çığır açmış ve bilim dünyasında yerini sağlamlaştırdı. Ayrıca yüksek kesinlikte ölçüm özelliğine sahip olması daha önce yapılan deneysel çalışmaların sorgulanabilirliğini artırmasıyla birlikte, onlar için bir referans kaynağı haline de gelmiş oldu. Günümüzde bu yöntem, çeşitli laboratuvarlarda çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Gelecekte hem hastalıkların oluş mekanizmalarını çözmesi beklenmekte ve tedavi aracı olarak kullanılması da planlanmaktadır.

Kaynaklar:

[1] A. S. Chuong, M. L. Miri, V. Busskamp, G. a C. Matthews, R. C. Bandler, B. D. Allen, C. R. Forest, B. Y. Chow, X. Han, Y. Lin, K. M. Tye, B. Roska, J. a Cardin, and E. S. Boyden, "NIH Public Access," vol. 17, no. 8, pp. 1123–1129, 2014.

[2] G. Nagel, T. Szellas, W. Huhn, S. Kateriya, N. Adeishvili, P. Berthold, D. Ollig, P. Hegemann, and E. Bamberg, "Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 100, no. 24, pp. 13940–5, 2003.

[3] F. Zhang, L.-P. Wang, M. Brauner, J. F. Liewald, K. Kay, N. Watzke, P. G. Wood, E. Bamberg, G. Nagel, A. Gottschalk, and K. Deisseroth, "Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry," *Nature*, vol. 446, no. April, pp. 633–639, 2007.

[4] C. Towne and K. R. Thompson, "Overview on Research and Clinical Applications of Optogenetics.," *Curr. Protoc. Pharmacol.*, vol. 75, no. December, pp. 11.19.1–11.19.21, 2016.

[5] K. Deisseroth, "Optogenetics," *Nat. Methods*, vol. 8, no. 1, pp. 26–29, 2011.

Tayfun ATEŞ[1], Deniz ATASOY[2]

Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıp Fak[1]

İstanbul Medipol Üniversitesi Tıp Fak. Fizyoloji AD[2]

[[7] A. K. Ngugi, C. Bottomley, I. Kleinschmidt, J. W. Sander, and C. R. Newton, "Estimation of the burden of active and life-time epilepsy: A meta-analytic approach," *Epilepsia*, vol. 51, no. 5, pp. 883–890, 2010.

[8] C. Concepts, P. Kwan, S. C. Schachter, and M. J. Brodie, "Drug-Resistant Epilepsy," pp. 919–926, 2011.

[9] P. Kwan, A. Arzimanoglou, A. T. Berg, M. J. Brodie, W. Allen Hauser, G. Mathern, E. Perucca, S. Wiebe, and J. French, "Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies," *Epilepsia*, vol. 51, no. 6, pp. 1069–1077, 2009.

[10] P. Boon, R. Raedt, V. De, T. Wyckhuys, and K. Vonck, "Electrical Stimulation for the Treatment of Epilepsy," *Neurotherapeutics*, vol. 6, no. 2, pp. 218–227, 2009.

[11] P. Kahane and A. Depaulis, "Deep brain stimulation in epilepsy: what is next?," *Curr. Opin. Neurol.*, vol. 23, 2, pp. 177–182, 2010.

[12] E. H. Kossoff and A. L. Hartman, "Ketogenic diets: new advances for metabolism-based therapies.," *Curr. Opin. Neurol.*, vol. 25, no. 2, pp. 173–8, 2012.

[13] J. Tønnesen, A. T. Sørensen, K. Deisseroth, C. Lundberg, and M. Kokaia, "Optogenetic control of epileptiform activity.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, no. 29, pp. 12162–12167, 2009.

[14] R. C. Wykes, J. H. Heeroma, L. Mantoan, K. Zheng, C. Douglas, K. Deisseroth, K. S. Hashemi, M. C. Walker, and D. M. Kullmann, "Europe PMC Funders Group Optogenetic and Potassium Channel Gene Therapy in a Rodent Model of Focal Neocortical Epilepsy," vol. 4, no. 161, 2013.

[15] E. Krook-Magnuson, C. Armstrong, M. Oijala, and I. Soltesz, "On-demand optogenetic control of spontaneous seizures in temporal lobe epilepsy.," *Nat. Commun.*, vol. 4, p. 1376, 2013.

[16] F. B. Wagner, W. Truccolo, J. Wang, and A. V Nurmikko, "Spatiotemporal dynamics of optogenetically induced and spontaneous seizure transitions in primary generalized epilepsy.," *J. Neurophysiol.*, vol. 113, no. 7, pp. 2321–41, Apr. 2015.

[17] L. Yekhlef, G. L. Breschi, L. Lagostena, G. Russo, and S. Taverna, "Selective activation of parvalbumin- or somatostatin-expressing interneurons triggers epileptic seizurelike activity in mouse medial entorhinal cortex.," *J. Neurophysiol.*, vol. 113, no. 5, pp. 1616–30, Mar. 2015.

[18] J. G. Nutt and G. F. Wooten, "Diagnosis and Initial Management of Parkinson ' s Disease," pp. 1021–1027, 2005.

[19] G. W. Ross and R. D. Abbott, "Living and dying with Parkinson's disease.," *Mov. Disord.*, vol. 29, no. 13, pp. 1571–3, 2014.

[20] E. R. Dorsey, R. Constantinescu, J. P. Thompson, K. M. Biglan, R. G. Holloway, K. Kieburtz, F. J. Marshall, B. M. Ravina, G. Schifitto, and C. M. Tanner, "Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030," *Neurology*, vol. 68, no. 5, pp. 384–386, 2007.

[21] V. Gradinaru, M. Mogri, K. R. Thompson, J and K. Deisseroth, "Optical Deconstruction of Parkinsonian Neural Circuitry," *Science (80-.).*, vol. 324, no. 5925, pp. 354–359, 2009.

[22] X. Jin, F. Tecuapetla, and R. M. Costa, "Basal ganglia subcircuits distinctively encode the parsing and concatenation of action sequences.," *Nat. Neurosci.*, vol. 17, 3, pp. 423–30, 2014.

[23] M. G. Kaplitt, A. Feigin, C. Tang, P. a. Lawlor, R. J. Bland, D. Young, K. Strybing, D. Eidelberg, and M. J. During, "Safety and tolerability of gene therapy with an adeno-associated virus (AAV) borne GAD gene for Parkinson's disease: an open label, phase I trial," *Lancet*, vol. 369, no. 9579, pp. 2097–2105, 2007.

[24] B. Y. Chow and E. S. Boyden, "Optogenetics and translational medicine.," *Sci. Transl. Med.*, vol. 5, 177, p. 177ps5, 2013.

[25] V. Busskamp and B. Roska, "Optogenetic approaches to restoring visual function in retinitis pigmentosa," *Curr. Opin. Neurobiol.*, vol. 21, no. 6, pp. 942–946, 2011.

[26] K. M. Tye and K. Deisseroth, "Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 13, no. 4, pp. 251–266, 2012.

[27] H. E. Covington, M. K. Lobo, I. Maze, V. Vialou, J. M. Hyman, S. Zaman, Q. LaPlant, E. Mouzon, S. Ghose, C. A. Tamminga, R. L. Neve, K. Deisseroth, and E. J. Nestler, "Antidepressant Effect of Optogenetic Stimulation of the Medial Prefrontal Cortex," *J. Neurosci.*, vol. 30, no. 48, pp. 16082–16090, 2010.

[28] V. Vialou, R. C. Bagot, M. E. Cahill, D. Ferguson, A. J. Robison, D. M. Dietz, B. Fallon, M. Mazei-Robison, S. M. Ku, E. Harrigan, C. a Winstanley, T. Joshi, J. Feng, O. Berton, and E. J. Nestler, "Prefrontal cortical circuit for depression- and anxiety-related behaviors mediated by cholecystokinin: role of ΔFosB.," *J. Neurosci.*, vol. 34, no. 11, pp. 3878–87, 2014.

[29] D. Chaudhury, J. J. Walsh, A. K. Friedman, B S. M. Ku, J. W. Koo, D. Ferguson, H.-C. Tsai, L. Pomeranz, D. J. Christoffel, A. R. Nectow, M. Ekstrand, A. Domingos, M. S. Mazei-Robison, E. Mouzon, M. K. Lobo, R. L. Neve, J. M. Friedman, S. J. Russo, K. Deisseroth, E. J. Nestler, and M.-H. Han, "Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons.," *Nature*, vol. 493, no. 7433, pp. 532–6, 2013.

[30] R. G. Hauser, D. L. Hayes, L. M. Kallinen, D. S. Cannom, A. E. Epstein, A. K. Almquist, S. L. Song, G. F. O. Tyers, S. C. Vlay, and M. Irwin, "Clinical experience with pacemaker pulse generators and transvenous leads: An 8-year prospective multicenter study," *Hear. Rhythm*, vol. 4, no. 2, pp. 154–160, 2007.

[31] J. Baumert, C. Schmitt, and K. Ladwig, "Psychophysiologic and affective parameters associated with pain intensity of cardiac cardioverter defibrillator shock discharges," *Psychosom. Med.*, vol. 68, no. 4, pp. 591–597, 2006.

[32] A. B. Arrenberg, D. Y. R. Stainier, H. Baier, and J. Huisken, "Optogenetic Control of Cardiac Function," *Science*, vol. 330. pp. 971–974, 2010.

[33] T. Bruegmann, D. Malan, M. Hesse, T. Beiert and P. Sasse, "Optogenetic control of heart muscle in vitro and in vivo.," *Nat. Methods*, vol. 7, no. 11, pp. 897–900, 2010.

[34] C. C. Vogt, T. Bruegmann, D. Malan, a. Ottersbach, W. Roell and P. Sasse, "Systemic gene transfer enables optogenetic pacing of mouse hearts," *Cardiovasc. Res.*, pp. 338–343, 2015.

[35] C. Towne, K. L. Montgomery, S. M. Iyer, K. Deisseroth, and S. L. Delp, "Optogenetic Control of Targeted Peripheral Axons in Freely Moving Animals," *PLoS One*, vol. 8, no. 8, p. e72691, 2013.

[36] A. P. Abdala, J. F. R. Paton, and J. C. Smith, "Defining inhibitory neurone function in respiratory circuits: opportunities with optogenetics?," *J. Physiol.*, vol. 593, 14, pp. 3033–3046, 2015.

[37] S. V Sambasivarao, "NIH Public Access," vol. 18, no. 9, pp. 1199–1216, 2013.

[38] J. B. Bryson, C. B. Machado, M. Crossley, D. Stevenson, V. Bros-Facer, J. Burrone, L. Greensmith, and I. Lieberam, "Optical control of muscle function by transplantation of stem cell-derived motor neurons in mice.," *Science*, vol. 344, no. 6179, pp. 94–7, 2014.

[39] M. Cunningham, J.-H. Cho, A. Leung, G. Savvidis, S. Ahn, M. Moon, P. K. J. Lee, J. J. Han, N. Azimi, K.-S. Kim, V. Y. Bolshakov, and S. Chung, "hPSC-derived maturing GABAergic interneurons ameliorate seizures and abnormal behavior in epileptic mice.," *Cell Stem Cell*, vol. 15, no. 5, pp. 559–73, 2014.