



DERLEME / REVIEW

## Optogenetik ve tıptaki uygulama alanları

### Optogenetics and application areas in medicine

Kayra Baybora Özer<sup>1</sup>, Zehra Göksu Ulusoy<sup>2</sup>, Kübra Akılhoğlu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana, Türkiye

<sup>2</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Adana, Turkey

#### Abstract

Optogenetics is a field that modulates neurons, which regulate cognitive, behavioral and molecular events in living cells and organisms, by means of light and genetics. It is the synthesis of optical and molecular strategies used to monitor certain cellular activities in living tissues and cells using genetically photosensitive receptor proteins. This technology is formed by combining certain neurons or proteins with optical technology based on the role of certain neurons in the neural activities of living things. Optogenetic applications are used to make some changes or corrections in the functions of nerve pathways in various parts of the brain. Neuromodulation is used as a promising technique in the treatment of various neurological disorders. This optogenetic signal transduction, gene expression, cell migration, protein and organelle-related events that have emerged in recent years have enabled the modification and regulation of various molecular and cellular processes using light.

**Keywords:** Optogenetics, medicine, application

#### Öz

Optogenetik; canlı hücre ve organizmalarda bilişsel, davranışsal ve moleküler olayları düzenleyen nöronları ışık ve genetik sayesinde modüle etmeye yarayan bir alandır. Genetik olarak ışığa duyarlı reseptör proteinler kullanılarak canlı doku ve hücrelerde belirli hücresel aktiviteleri izlemek için kullanılan optik ve moleküler stratejilerin sentezidir. Bu teknoloji belirli nöronların veya proteinlerin, canlıların sinirsel aktiviteleri üzerindeki rolünü esas alarak optik teknoloji ile birleştirilmesi sayesinde oluşmuştur. Optogenetik uygulamalar beyin çeşitli bölgelerindeki sinir yollarının işlevlerinde birtakım değişiklikler veya düzeltmeler yapmak için kullanılmaktadır. Nöromodülasyon çeşitli nörolojik rahatsızlıkların tedavisinde gelecek vaat eden bir teknik olarak kullanılmaktadır<sup>1</sup>. Son yıllarda ortaya çıkan bu optogenetik sinyal iletimi; gen ekspresyonu, hücre göçü, protein ve organellerle alakalı olayların ışık kullanılarak çeşitli moleküler ve hücresel süreçlerin değiştirilmesi ve düzenlenmesine imkan sağlamıştır

**Anahtar kelimeler:** Optogenetik, tıp, uygulama

## GİRİŞ

Optogenetik; canlı hücre ve organizmalarda bilişsel, davranışsal ve moleküler olayları düzenleyen nöronları ışık ve genetik sayesinde modüle etmeye yarayan bir alandır. Genetik olarak ışığa duyarlı reseptör proteinler kullanılarak canlı doku ve hücrelerde belirli hücresel aktiviteleri izlemek için kullanılan optik ve moleküler stratejilerin sentezidir. Bu teknoloji belirli nöronların veya proteinlerin, canlıların sinirsel aktiviteleri üzerindeki rolünü esas

olarak optik teknoloji ile birleştirilmesi sayesinde oluşmuştur. Optogenetik uygulamalar beyin çeşitli bölgelerindeki sinir yollarının işlevlerinde birtakım değişiklikler veya düzeltmeler yapmak için kullanılmaktadır. Nöromodülasyon çeşitli nörolojik rahatsızlıkların tedavisinde gelecek vaat eden bir teknik olarak kullanılmaktadır<sup>1</sup>. Son yıllarda ortaya çıkan bu optogenetik sinyal iletimi; gen ekspresyonu, hücre göçü, protein ve organellerle alakalı olayların ışık kullanılarak çeşitli moleküler ve hücresel süreçlerin değiştirilmesi ve düzenlenmesine imkan sağlamıştır<sup>2</sup>

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Kayra Baybora Özer, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana, Türkiye e-mail: k.bybora@gmail.com

Geliş tarihi/Received: 21.01.2021 Kabul tarihi/Accepted: 17.05.2021 Çevrimiçi yayın/Published online: 23.07.2021

## OPTOGENETİĞİN TARİHÇESİ

Yaklaşık yarım yüzyıl önce bilim adamları, bazı bakterilerin ışığa tepki olarak plazma zarı boyunca iyon akışını doğrudan düzenleyen bir takım proteinler içerdiğini keşfettiler. Ardından 1971'de bacteriorodopsinin yeşil ışıkla aktive olan bir proton pompası olarak işlev gördüğü tespit edildi<sup>3</sup>. 1995 yılında, Georg Nagel ve Ernst Bamberg, mikrobiyal rodopsinlerin heterolog ekspresyonunu denedi ve ışıkla indüklenen akımı gösterdi. 2002 yılında *Drosophila*'dan rodopsin ve arrestin genleri ile fotoreseptörler, nöronları ışığa duyarlı hale getirmek için birleştirildi<sup>4</sup>. 2003'te Zemelman ve Miesenböck geçici reseptör potansiyel katyon kanalı alt ailesinden TRPV1 ile TRPM8 ve purinoseptör ailesine ait P2X2'nin kullanıldığı, nöronların ışığa bağlı aktivasyonunu sağlamak amacıyla yeni bir yöntem ortaya koydu<sup>5</sup>. Yapılan çalışmalar sonucunda TRPV1 kanalları kullanılarak geliştirilen tekniğin aydınlatma tetikleyicisi olmadığı ancak sonraları birkaç laboratuvar tarafından hayvanlarda beslenmeyi, hareket yeteneğini ve davranışsal direnci değiştirmek için kullanıldı<sup>6,7,8</sup>. Daha sonraları bu bahsedilen yaklaşımlar sinirsel aktiviteleri değiştirmek için kullanılmadı çünkü kanalrodopsin (ChR) kullanımının daha kolay ve daha uygulanabilir olduğu anlaşıldı ve ChR tekniği uygulamaya başlandı<sup>9</sup>. Opsinlerin nörobilim üzerinde belirgin bir etkisi vardır. Optogenetik sayesinde, ışığın neden olduğu iyon akışı kullanılarak, hedeflenen nöronların zar potansiyelini kontrol edebilirler. Bu teknik, nöronal ağların nasıl çalıştığını ve davranışsal tepkilerle nasıl ilişkili olduklarını anlamamız için çığır açıcı niteliktedir. Aynı zamanda optogenetik teknikler, sinir devrelerinde kodlama ve hesaplama hakkında önemli bilgiler sağlayabilir. Fakat, 2005 yılına kadar opsinlerin bu uygulamasının başarılı olma ihtimalinin düşük olduğu düşünülüyordu çünkü opsin kaynaklı foto akımların memeli nöronlarında bir aksiyon potansiyeli ortaya çıkarmak için çok yavaş ve zayıf olduğu var sayılıyordu. Ancak 2005 yılında, Karl Deisseroth tarafından yapılan çalışmalar, ChR-2'nin kanal iletkenliğinin, memeli nöronlarını aksiyon potansiyeli eşliğinin üzerine çıkarmak için yeterli olduğunu gösterdi<sup>10</sup> ve spesifik nörostimulasyon için "optogenetik" kavramını bilim camiasına kazandırdı.

Bu metod 2010'da "Yılın Metodu" seçildi<sup>11</sup>, bu alanda çalışmalarını sürdüren Karl Deisseroth daha sonra 2017 yılında "optogenetik ve hidrojel doku kimyasındaki keşifleri" nedeniyle "Else Kröner Fresenius Araştırma Ödülü"ne layık görüldü

ardından 2018'de "optogenetik ve nedensel sistemler nörobiliminin geliştirilmesi" ile 2018 Kyoto Ödülü ve 2020'de Hollanda Kraliyet Sanat ve Bilim Akademisi'nden "Heineken Tıp Ödülü" nün sahibi oldu<sup>12,13</sup>. Sonuç olarak optogenetik oldukça yeni bir metod olmasına rağmen bugüne kadar 800 civarı optogenetik çalışma merkezi kurulmuştur ve hakkında yapılan çalışmalar hız kesmeden devam etmektedir<sup>11</sup>.

## OPTOGENETİĞİN MOLEKÜLER TEMELİ VE MEKANİZMASI

Optogenetik; viroloji, optik ve genetik yöntemler kullanılarak nöronların özgül gruplarının aktive edilmesini veya susturulmasını sağlar. Böylece beyin ve sinir sisteminin işleyişi daha iyi anlaşılabilir, kontrolü daha spesifik bir şekilde sağlanabilir. Bu kontrol hücre tiplerine özgü, ışığa duyarlı iyon iletimi düzenleyici proteinler olan 'opsinler' ile sağlanır<sup>14</sup>. Opsinler, opsin genleri tarafından kodlanır. Retina bağlayıcı, G proteini kenetli ve ışığa duyarlı proteinler ailesidir. Opsinler ışığa duyarlı iyon pompaları veya duyuşal reseptör olarak işlev görebilir, bakteriler ve ökaryotlar dahil olmak üzere tüm organizmalarda bulunur. Opsin genlerini iki farklı ailede inceleyebiliriz: Mikrobiyal opsinler (tip 1) ve hayvan opsinleri (tip 2). Mikrobiyal opsinler prokaryotlarda, mantarlarda ve algelerde bulunur; all-trans konfigürasyonunda retinal kullanan proteinleri kodlar. Hayvan opsinleri ise sadece yüksek ökaryotlarda bulunur ve temel olarak görmeden sorumludur. G proteinine bağlı reseptörleri kodlar ve karanlıkta 11-cis konfigürasyonunda retinaya bağlanır. Mikrobiyal opsinler ışık enerjisini yakalayıp bu enerjiyi zardan aktif bir şekilde iyon geçişini sağlayan pompaları uyarmak veya zar boyunca pasif olarak iyon geçişine izin verecek kanalları açmak için kullanır. Mikrobiyal opsinleri ışığa duyarlılığı olmayan hücrelere aktardığımız zaman bu hücrelerin optik kontrolünü sağlamış oluruz. Mikrobiyal opsinler, belki de optogenetiğin temel yaratım amacı olan, kimyasal kullanmadan memeli beyinde hızlı sinirsel aktivasyon ve susturma yapma özelliğini bize sunar. Bu amaçla optogenetikte kullanılan mikrobiyal opsinler ChR'ler ve halorodopsinler (NpHR) gibi ışığa duyarlı pompaları içerir<sup>15,9</sup>.

### Kanalrodopsin (CHRS)

Kanalrodopsin; *Chlamydomonas reinhardtii* isimli tek hücreli yeşil bir algde keşfedilmiştir. Bu protein

ışık kapılı bir iyon kanalıdır. Nöronların aktivitelerini kontrol etmek için kullanılan ilk mikrobiyal opsin olan ChR-2, bu organizma tarafından üretilen iki kanalrodopsinlerden biridir<sup>16</sup>. ChR-2, mavi ışıkla uyarıldığında açılarak katyonların geçişine ve bununla birlikte ilgili hücrenin depolarizasyonuna izin veren ışık kapılı bir katyon kanalıdır<sup>9</sup>. ChR-2, 2005 yılında kültürlenmiş hipokampal nöronlara tanıtıldı ve spiking aktivitesini ince zamansal hassasiyetle kontrol etmek için kullanıldı<sup>16</sup>. Bu öncü makalenin gösterdiği gibi, milisaniye ile ifade edilen kısa sürelerdeki mavi ışık darbeleri, ChR-2 ihtiva eden nöronlarda tek hareket potansiyellerini indüklemek amacıyla kullanılabilir. Daha sonraları birçok rapor, nöronal aktivitenin kontrolü için ChR-2'nin işlevselliği ile ilgili olarak yayınlandı<sup>17 18 19 20</sup>. ChR-2 ilerleyen zamanlarda memeli sistemlerinde gen ifadesini ve fotoakımı daha iyi ve kullanışlı hale getirebilmek için tasarlanmıştır.

### Halorodopsin (NPHR)

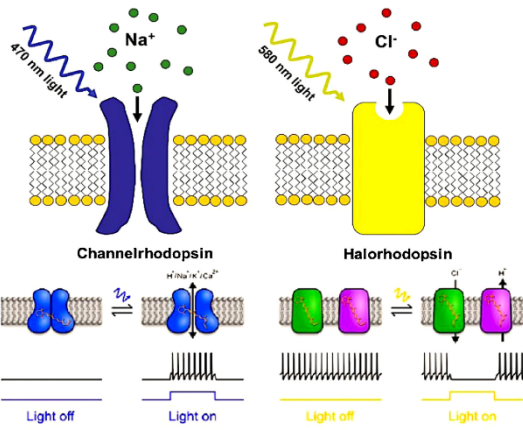
1977 yılında *Halobacterium salinarum*'da tespit edilen sarı ışığa duyarlı bir iyon kanalıdır<sup>11</sup>. Optimum olarak 540 nanometre dalga boyundaki ışığa yanıt verir<sup>21</sup>. Halorodopsinler, bir klorür taşıyıcı içerir<sup>22</sup>. Klor iyonlarını hücre içine taşıyarak hücrenin hiperpolarize olmasına neden olur ve kanalrodopsinin aksine hücrenin susturulmasını sağlar. Natromanas Pharaonis'den izole edilen bir diğer halorodopsin türü de efektif bir şekilde nöronların aksiyon potansiyellerini inhibe etmek için kullanılmaktadır<sup>11</sup>. Kısaca Np HR'ler; sarı ışıkta aktive olur, nöronların inhibisyonunda görev alırlar (hiperpolarizasyon). ChR'ler ise; mavi ışıkta etkinleşip nöronların aktivasyonunda rol oynarlar (depolarizasyon).

### MEKANİZMA

Optogenetik mekanizması temelde kanalrodopsin ve halorodopsin gibi opsinerler sayesinde yürür, bu yüzden optogenetik uygulamalarının yürütülebilmesi için bu opsinerlerin hedef canlıya aktarılması gerekir<sup>24</sup>. Bir proteini doğrudan hedefe aktarmak etkili bir yöntem olmadığı için kullanılan esas yöntem opsini kodlayan genin hedef hücreye aktarılmasıdır. Hedef hücreye opsin geninin aktarılması için zararsız bir virüs vektör kullanılır<sup>25</sup>. Uygulama mekanizması temel olarak iki aşamadan oluşur. Birinci aşama opsin geninin çoğaltıldıktan sonra vektöre aktarılması yani "elektroporasyon" işlemi. İkinci aşama ise vektörün hedef canlının beynine enjekte edilmesidir<sup>26</sup>. Birinci aşamada uygulanan yöntem opsin geninin izole

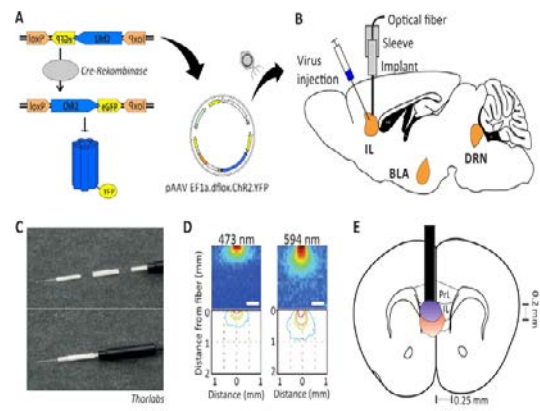
edilmesi ile başlar. Opsin geninin izole edilebilmesi RNA'ya Bağlı DNA Polimeraz ile sağlanabilir. Eğer opsin proteinini izole edebilirsek, bu proteini üretecek mRNA dizisini okuyabiliriz. Translasyon ürünü olan mRNA izole edilirse RNA'ya bağlı DNA Polimeraz enzimiyle cDNA üretilir. Sonra cDNA tamamlanır ve PCR ile çoğaltılır. Böylece elde edilen gen vektöre aktarılmaya hazır hale gelmiş olur. Hücre ve dokulara kısa zamanlı çok kuvvetli elektrik akımı uygulayarak, hücre zarında nanometre boyutunda geçici porlar oluşturulması işlemine elektroporasyon denir. Bu durumda hücre zarı, hücrelerin içine; DNA, enzim, antikor gibi makromoleküllerin geçişine izin verir<sup>27</sup>. Bu yöntemle dayanarak izole hale gelmiş opsin geni vektöre aktarılır. Viral aktarım yönteminin en önemli dezavantajı büyük genetik materyal taşıyamamalarıdır fakat opsinerleri yüksek seviyede ifade edebilirler. Araştırma çalışmalarını kolay hale getirmenin bir yolu da doğuştan opsinerlere sahip olan transgenik hayvanları kullanmaktır fakat bu yöntemin de dezavantajı daha düşük opsin ekspresyon seviyesi göstermesidir<sup>28</sup>. Bugüne kadar, nöronal hücrelere gen transfeksiyonu için bazı yöntemler önerilmiştir. Sıklıkla, hücrelerin toplu elektroporasyonu, biyolistik transfeksiyon ve tam bir transgenik hayvan yaratılmasıyla gen transfeksiyonu sağlanır fakat bu tekniklerde verme yönteminin kendisi herhangi bir hücre seçiciliği veya özgünlüğü sağlamaz; ancak moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak, ilgilenilen genin ekspresyonu, belirli bir hücre tipine veya tanımlanmış küçük bir doku hacmine hedeflenebilir. Ancak tüm bu yaklaşımlarla tek hücre özgüllüğü elde edilemez. Bu sorun modifiye yama sıkıştırma, anel mikroenjeksiyon ve tek hücreli elektroporasyon yöntemleri geliştirilerek kısmen çözülmüştür. fakat hala hepsi hız ve verim açısından problemlidir ve oldukça zahmetlidir. Ayrıca birincil nöron hücrelerine DNA transfeksiyonu uzun bir süre sağlanamamıştır ve zordur. Plazmid DNA sitoplazmaya başarılı bir şekilde iletirse bile, nükleer membranı pasif olarak geçme olasılığı düşüktür<sup>29</sup>. Transfeksiyon işlemi gerçekleştirildikten sonraki son aşama beyne yerleştirilen fiberoptik kablo ve elektrotlar ile aydınlatma yapılarak aksiyon potansiyeli oluşturmak ve istenilen fizyolojik, davranışsal değişikliklerin oluşmasını sağlamaktır. Şu anda ışık kaynağı olarak kullanılan beyne cerrahi olarak implante edilmiş fiber optik kablolar enfeksiyon ve doku hasarı riski taşır. Ayrıca dış ışığın beyinden iletilmesi; dokuların absorpsiyonu ve ışığın saçılması yüzünden yeterince verimli değildir. Örneğin mavi lazer ışını (480 nm) serebral korteksten 200 µm derinlikte %50, 1 mm

derinlikte ise %90 oranında zayıflar. İnvaziv işlemin bu dezavantajlarından dolayı uzaktan kumanda sistemli kablosuz implantlar geliştirilmektedir. Lantanit nanoparçacıkları kanalrodopsinleri aktive eden görünür ışığı yaymak için kullanılır. Mekanizma temel olarak şöyledir: nanoparçacıklar görünen ışığın yüksek enerjili fotonlarını yaymak için düşük enerjili yakın kızılötesi fotonları absorbe ederler. Fiber optik kablolarla bir diğer alternatif de kimyasal genetik ve opsin kombinasyonudur. Bazı araştırmacılar tek bir füzyon proteini biçiminde olan luminopsini geliştirdiler. Bu füzyon proteini aktivatör ChR veya inhibitör NpHR'den ve bu opsinlere bağlanan lusiferaz enziminden oluşmaktadır. Lusiferaz opsinler ile birleştiğinde ışık üreten bir protein görevi görebilir. Bu proteinler Luminopsin (LMO) ve inhibitör LMO olarak adlandırılmıştır. LMO ve inhibitör LMO, coelenterazine'ye yanıt olarak nöral aktiviteyi uyandırabilir veya susturabilir<sup>30</sup>.



Şekil 1.

Optogenetik ile ilgili çalışmalar genelde farelerde güzel bir şekilde çalışsa da, bu tekniklerin daha büyük ve insan gibi karmaşık organizmalar için kullanımı halen büyük eksiklikler içerir. Bu eksikliklerin giderilebilmesi için teknik iyileştirmelerin yapılması gerekir. Mikrobiyal opsinler gibi hidrofobik heterolog proteinlerin yüksek ekspresyon seviyeleri canlılar için toksik olabilir ve hücre zarının içsel özelliklerini değiştirebilir. Bu toksik etkileri ortadan kaldırmak ya da azaltmak membran trafiğini iyileştirmek, daha hızlı kinetik ve daha yüksek fotoakım elde etmek için opsinlerin daha fazla optimizasyonu yapılmalıdır<sup>30</sup>.



This figure has been modified from Berg et al. 2019 PLoS One

**ŞEKİL 2.** A) Opsin geni enjeksiyon için adeno ilişkili virüs (AAV) içine paketlenir. B) Medial prefrontal korteksin IL bölgesine virüsün enjekte edilmesi C) İmplant edilmiş fiber optik, kılıf ve ışık kaynağının görünümü D) Beyin dokusuna mavi ve kırmızı lazer ışıklarının yayılması E) Optik fiber ile doğrudan sol IL'nin üzerindeki tek taraflı implantasyonun koronal görünümü.

## TIPTAKİ UYGULAMA ALANLARI

### Retinitis pigmentosa

Retinitis Pigmentosa (RP), 71'den fazla genin mutasyonuna dayanan, kalıtsal ve ilerleyen bir hastalıktır. Fotorseptör hücrelerin kaybına bağlı olarak gelişir ve ilerleyen zamanlarda körlüğe yol açabilir. RPE65 geninin mutasyonunun sebep olduğu bir RP formu için gen replasman tedavisi haricinde herhangi bir tedavi bulunmamaktadır. Son zamanlarda bu hastalığın tedavisi için yapılan optogenetik araştırmalar sonucu birtakım gelişmeler elde edildi. Bu tedaviye "optogenetik görme restorasyonu" adı verilir ve RP'nın geç evrelerinde, görme kaybından sonra görme işlevinin tekrardan sağlanabilmesi için mutasyondan bağımsız olan bir tedavi şeklidir.

Tedavinin ilk aşamasında kötü gören göze kırmızı floresan protein tdTomato ile birleştirilmiş channelrhodopsin içeren viral vektör, intravitreal enjeksiyonla uygulandı.

Tedavide çevredeki görüntüyü toplamak için ışık uyarıcı "gözlükler" denen, farklı yoğunluklardaki değişiklikleri pikseller halinde algılayan, nöromorfik kameralar kullanarak çevreden görüntüler alan gözlükler kullanılır. Gözlüklerin kullanılma amacı RP'da retinanın ışığa verdiği tepkinin değişerek ışığın

görüldüğünün zorlaşmasıdır. Bu gözlükler daha sonra olayları monokromatik görüntülere çevirerek görüntüleri ışık darbeleri halinde optogenetikle dönüştürülmüş retina gangliyon hücrelerine yansıtır.

Tedavi uygulandıktan sonra, görme keskinliği sadece ışık algısıyla sınırlı bir hastanın görme yetisinin kısmi bir şekilde tekrardan yüklenildiği bildirildi. Bu hasta daha sonra vektör enjekte edilerek tedavi edilen gözüyle, gözlük takılı iken cisimleri buldu, algıladı ve saydı<sup>32</sup>.

### Parkinson hastalığı hayvan modeli

Bir grup araştırmacı Halorhodopsin (NpHR) genini substantia nigra compacta'ya transfekte ederek optik uyarı yoluyla hastalığın şiddetini modüle edebilen bir optogenetik Parkinson Hastalığı modeli geliştirdi. İki farklı sıçan grubu oluşturuldu. Birinci sıçan grubunun beyinin substantia nigra bölümüne içine NpHR – YFP geni aktarılmış AAV plazmidini enjekte edildi ve frekans genişliği 5 Hz-10 ms (n= 5), 5 Hz-100 ms (n= 5), 50 Hz- 10 ms (n= 5) olan 3 optik uyarı koşuluyla 590 nm ışık dalga boylarında aydınlatmaya maruz bırakıldı. İkinci sıçan grubuna ise geleneksel Parkinson Hastalığı modelini oluşturmak için 6-hidroksidopamin enjeksiyonu uygulandı. Sonuçta Optogenetik modeller, geleneksel modellere benzer karakteristik Parkinson belirtileri gösterdi. Düşük aydınlatma değerine (5 Hz-10 ms) maruz bırakılan sıçanlar geleneksel kısmi modelle benzerlik gösterdi, yüksek aydınlatma değerine maruz bırakılan (5 Hz-100 ms ve 50 Hz-10 ms) sıçanlar ise geleneksel modele tam benzedi. Bu çalışma sonucunda optogenetik yöntemiyle sıçanlar üzerinde Parkinson hastalığı oluşturulmuş oldu<sup>33</sup>.

### İnme sonrası iyileşme

İnme, zayıflayan beyin kan akımının beyin hücre ölümüne sebep olması durumudur<sup>34</sup>. İnme, infarkt çevresindeki fonksiyonel nöronal bağlantıları bozar. İnmeden sonra fonksiyonel iyileşmeler gerçekleşebilir. Bu iyileşme enfarktüse bitişik veya bağlantılı alanlardaki nöral bağlantıların yeniden kurulmasıyla gerçekleşir. Stanford Üniversitesi'nden Michelle Y. Cheng ve ekibi Optogenetiği kullanarak belirli sinir devrelerini ve hücre tiplerini milisaniyeler içinde spesifik olarak etkinleştirmek ve inhibe etmek suretiyle nöral devrelerin yeniden haritalanması ve onarımı sayesinde inme sonrası iyileşme üzerine çalışmalarını sürdürmektedirler<sup>35</sup>.

### Otizm

Nöronal stimülasyon ve inhibisyon (E:I dengesi) arasındaki denge değişimlerinin otizmle ilgili olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada E:I dengesinin azaltılmasının farelerin sosyal davranışlarındaki eksikliği düzeltip düzeltilemeyeceği araştırıldı. Deneyde otizmle ilişkilendirilen CNTNAP2 geninden yoksun fareler kullanıldı ve inhibitör parvalbumin nöronlarının uyarılabilirliği optogenetik ile değiştirilerek E:I dengesinin kontrollü bir şekilde artırılıp azaltılması sağlandı. Sonuçta E:I dengesi azaltılmış farelere hiperaktivite ve sosyal davranış eksiklikleri akut olarak düzeltildi<sup>36</sup>.

### Ağrı yolları

Ağrı, birçok hastalığın en sık semptomu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle ağrı tedavisi çözülmesi gereken büyük bir sağlık problemi haline gelmiştir. Ağrı tedavisinin çoğu ilaçlara, davranış rehabilitasyonuna, rizotomi ve nörotomi gibi beyin cerrahisi yöntemlerine bağlıdır. Fakat bu tedavi yöntemleri, normal nöral aktiviteye zarar vermemek için spesifik bir alanı hedefleyemez<sup>37</sup>. Bu yüzden bilim insanları nosiseptif sinyallerin nevraksinin her seviyesinde nasıl kodlandığını ve sistemin nasıl işlediğini açığa çıkarmak için optogenetik sayesinde ışığı farklı kilit bölgelere ulaştırıp ağrı yollarının çözümlenmesi ve tedavisi için çalışmalar yapmaktadırlar<sup>38</sup>.

### Hafızanın kontrolü

Anıların, LTP(Long Term Potentiation) ve LTD(Long Term Depression) gibi mekanizmalar sayesinde sinaptik değişimlerle kodlandığı düşünülmektedir. Bu sebeple bu çalışmayla birlikte belleğin optogenetik teknikler sayesinde LTP ve LDP kullanılarak inaktivasyonu ve tekrardan aktivasyonu desteklenmiştir. LDP uyarısının optogenetik ile birlikte işitsel uyarıya karşı verilmesi şokun etkisiz hale getirilmesine sebep olur. LTP'nin verilmesi ise şokun hafızasını yeniden etkinleştirir<sup>39</sup>.

### Anksiyete

Anksiyete ya da kaygı, stresli ya da tehdit edici durumlara karşı karşıya kalındığında ortaya çıkan bir korku hissidir. Tehlikeyle karşı karşıya kalındığında normal bir tepkidir ve çok doğaldır ancak bunalıtcıysa, duygu devam ederse ve tehlikeden bağımsız olarak ortaya çıkmaya başladıysa anksiyete bozukluğu olarak kabul edilebilir<sup>40</sup>. Bazolateral

amigdala (BLA) ve ventral hipokampus (vHPC), anksiyete ile ilgili davranışlara etki etmektedir. Fakat BLA girdilerinin vHPC'ye fonksiyonel katkısı doğrudan yeterince araştırılmamıştır. Optogenetik sayesinde, NpHR ile Vhpc'ye BLA girdilerinin inhibisyonunun kaygı ile ilgili davranışları azalttığı ortaya konulmuştur. Bunun tam zıttı da aynı şekilde çalışmalarda ortaya konulmuştur. Chr2 ile Vhpc'ye BLA girdilerinin optogenetik aktivasyonu anksiyete ile ilgili davranışları arttırmaktadır<sup>41</sup>.

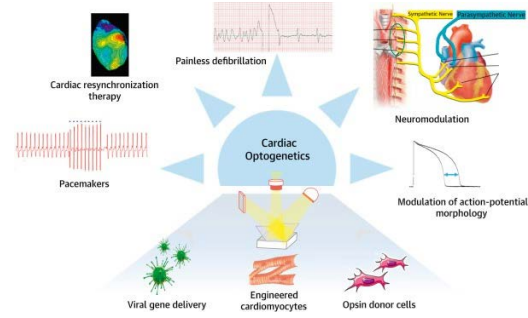
### Yeme dürtüsünün düzenlenmesi

Fare zona incerta gama aminobütirik asit(ZIGABA) nöronlarının optogenetik ile aktivasyonu farelerde hızla tıkanır şekilde yemek yeme dürtüsünü uyandırır, bu da vücut ağırlığında hızlı bir artış sağlar. Aynı şekilde ZI ile uyarılan fareler normal yiyecekleri tercih etmek yerine yüksek yağ içerikli ve tatlı yiyecekleri tercih etmişlerdir<sup>42</sup>.

### Kardiyoloji

Uyarılabilir kalp dokusunun opsinler kullanılarak ışığa duyarlı hale getirilip elektriksel fonksiyonunun düzenlenmesine "kardiyak optogenetiği" adı verilir. İlaçlar ya da elektriksel aygıtlar kalp atışını durdurabilir veya kalbin kontrolünü sağlayabilir. Ancak bunu yaparken hemen hemen tüm kalpte bir sarsıntı yaratırlar. Kardiyak optogenetiği ise kalpte sorunlu olan bölgeyi spesifik olarak etkileyerek sorunun çözümüne olanak sağlar. Kardiyak optogenetiği ile ilgili 2010 yılında Chr-2 enjekte edilmiş fare kardiyak miyositlerinde yapılan bir araştırmada mavi ışık stimülasyonu ile aksiyon potansiyeli oluşturuldu ve kalbin hızlanmasına neden oldu. Aynı zamanda başka bir çalışmada ise zebra balığında NpHR bulunduran miyositlerde turuncu ışık yardımıyla inhibisyon yapıldı ve kalp geçici olarak durduruldu<sup>43</sup>.

Yapılan başka bir çalışmada ise optogenetikle susturulmuş sol stellat gangliyonu (LSG) baskılanmasının miyokardiyal iskemiye bağlı oluşan ventriküler aritmilere (VA) karşı bağışıklık sağladığı gösterildi<sup>44</sup>. Stellat gangliyonu boynun her iki tarafında da bulunan ve bedenin üst kısımlarında düzenlemeler yapan sempatik bir gangliyondur<sup>45</sup>. Çalışma sonucunda optogenetik sayesinde LSG'nin aktivitesi geri dönüştürülebilir bir şekilde inhibe edilmiştir ve miyokardiyal iskemi sonucu oluşan VA'ların önüne geçilebildiği gösterilmiştir<sup>44</sup>.



Şekil 3.



Şekil 4. Optogenetik Stimülasyon Cihazı

## SONUÇ

Birçok hastalığın tedavisinin geliştirilmesinde optogenetik büyük gelecek vaat eden bir tekniktir. Kısa zamanda özellikle yukarıda bahsedilenler olmak üzere birçok alanda kesin tedavi yöntemleri sunacağı öngörülmektedir.

**Yazar Katkıları:** Çalışma konsepti/Tasarımı: KBÖ, ZGU, KA; Veri toplama: KBÖ, ZGU, KA; Veri analizi ve yorumlama: KBÖ, ZGU, KA; Yazı taslağı: KBÖ, ZGU, KA; İçeriğin eleştirilip incelenmesi: KBÖ, ZGU, KA; Son onay ve sorumluluk: KBÖ, ZGU, KA; Teknik ve malzeme desteği: KBÖ, ZGU, KA; Süpervizyon: KBÖ, ZGU, KA; Fon sağlama (mevcut ise): yok.

**Etik Onay:**

**Hakem Değerlendirmesi:** Dış bağımsız.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

**Finansal Destek:** Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

**Author Contributions:** Concept/Design : KBÖ, ZGU, KA; Data acquisition: KBÖ, ZGU, KA; Data analysis and interpretation: KBÖ, ZGU, KA; Drafting manuscript: KBÖ, ZGU, KA; Critical revision of manuscript: KBÖ, ZGU, KA; Final approval and accountability: KBÖ, ZGU, KA; Technical or material support: KBÖ, ZGU, KA; Supervision: KBÖ, ZGU, KA; Securing funding (if available): n/a.

**Ethical Approval:**

**Peer-review:** Externally peer-reviewed.

**Conflict of Interest:** Authors declared no conflict of interest.

**Financial Disclosure:** Authors declared no financial support

**KAYNAKLAR**

1. Wykes RC, Kullmann DM, Pavlov I, Magloire V. Optogenetic approaches to treat epilepsy. *J Neurosci Methods*. 2016;260:215-20.
2. Liu Q, Tucker QC. Engineering genetically-encoded tools for optogenetic control of protein activity. *Curr Opin Chem Biol*. 2017;40:17-23.
3. Oesterhelt WS. Rhodopsin-like protein from the purple membrane of *Halobacterium halobium*. *Nat New Biol*. 1971;233:149-52.
4. Zemelman BV, Lee GA, Ng M, Miesenböck G. Selective photostimulation of genetically chARGed neurons. *Neuron*. 2002;33:15-22.
5. Zemelman BV, Nesnas N, Lee GA, Miesenböck G. Photochemical gating of heterologous ion channels: remote control over genetically designated populations of neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:1352-7.
6. Arenkiel BR, Klein ME, Davison IG, Katz LC, Ehlers MD. Genetic control of neuronal activity in mice conditionally expressing TRPV1. *Nat Methods*. 2008;5:299-302.
7. Güler AD, Rainwater A, Parker JG, Jones GL, Argilli E, Arenkiel BR et al. Transient activation of specific neurons in mice by selective expression of the capsaicin receptor. *Nat Comm*. 2012;3:746.
8. Wang M, Perova Z, Arenkiel BR, Li B. Synaptic modifications in the medial prefrontal cortex in susceptibility and resilience to stress. *J Neurosci*. 2014;34:7485-92.
9. 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 U S A*. 2003;100:13940-5.
10. Shirai F, Hayashi-Takagi A. Optogenetics: Applications in psychiatric research. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2017;71:363-72.
11. Alp Mİ, Demir EA, Gergerliođlu HS. Basics of Optogenetics. *Eur J Basic Med Sci*. 2014;4:37-43.
12. Kyoto Prize, Inamori Foundation". Kyoto Prize, Inamori Foundation. Retrieved 13 March 2019. "karl-deisseroth-wins-kyoto-prize-for-optogenetics.html". "heineken-prize-for-medicine-2020-awarded-to-karl-deisseroth"
13. Zhang F, Vierock J, Yizhar O, Fenno LE, Tsunoda S, Kianianmomeni A et al. The microbial opsin family of optogenetic tools. *Cell*. 2011;147:1446-57.
14. Boyden ES, Zhang F, Bamberg E, Nagel G, Deisseroth K. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat Neurosci*. 2005;8:1263-8.
15. Li X, Gutierrez DV, Hanson MG, Han J, Mark MD, Chiel H et al. Fast noninvasive activation and inhibition of neural and network activity by vertebrate rhodopsin and green algae channelrhodopsin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:17816-21.
16. Schroll C, Riemensperger T, Bucher D, Ehmer J, Völler T, Erbguth K et al. Light-induced activation of distinct modulatory neurons triggers appetitive or aversive learning in *Drosophila* larvae. *Curr Biol*. 2006;16:1741-7.
17. Bi A, Cui J, Ma YP, Olshevskaya E, Pu M, Dizhoor AM et al. Ectopic expression of a microbial-type rhodopsin restores visual responses in mice with photoreceptor degeneration. *Neuron*. 2006;50:23-33.
18. Shizuka T, Kakuda M, Araki R, Yawo H. Kinetic evaluation of photosensitivity in genetically engineered neurons expressing green algae light-gated channels. *Neurosci Res*. 2006;54:85-94.
19. Jiang J, Cui H, Rahmouni K. Optogenetics and pharmacogenetics: principles and applications. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2017;313:R633-45.
20. Pedersen NP, Gross RE. Neuromodulation using optogenetics and related technologies. In *Neuromodulation (Second Edition)* (Eds ES Krames, PH Peckham, AR Rezaei):487-500. Cambridge, MA, Academic Press, 2018
21. Natasha G, Tan A, Farhatnia Y, Rajadas J, Hamblin MR, Khaw PT et al. Channelrhodopsins: visual regeneration and neural activation by a light switch. *N Biotechnol*. 2013;30:461-74.
22. Boyden ES. A history of optogenetics: the development of tools for controlling brain circuits with light. *F1000 Biol Rep*. 2011;3:11.
23. Pama EA, Colzato LS, Hommel B. Optogenetics as a neuromodulation tool in cognitive neuroscience. *Front Psychol*. 2013;4:610.
24. Schneider-Warme F. The power of optogenetics: Potential in cardiac experimental and clinical electrophysiology. *Herzschrittmacherther Elektrophysiol*. 2018;29:24-9.
25. Dike ö İ.Ü. Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
26. Pama EA, Colzato LS, Hommel B. Optogenetics as a neuromodulation tool in cognitive neuroscience. *Front Psychol*. 2013;4:610.
27. Antkowiak M, Torres-Mapa ML, Witts EC, Miles GB, Dholakia K, Gunn-Moore FJ. Fast targeted gene transfection and optogenetic modification of single neurons using femtosecond laser irradiation. *Sci Rep*. 2013;3:3281.
28. Shirai F, Hayashi-Takagi A. Optogenetics: Applications in psychiatric research. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2017;71:363-72.
29. Berg L, Gerdey J, Masseck OA. Optogenetic Manipulation of Neuronal Activity to Modulate Behavior in Freely Moving Mice. *J Vis Exp*. 2020 Oct 27;(164).
30. Sahel JA., Boulanger-Scemama, E., Pagot, C. et al. Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nat Med* (2021).<https://doi.org/10.1038/s41591-021-01351>
31. Lee E.J, Yoon H.H., Park E.S, Min J, Jeon S.R. A novel animal model of Parkinson's disease using

- optogenetics: representation of various disease stages by modulating the illumination parameter. *Stereotact Funct Neurosurg* 2018;96:22–32
32. What Is a Stroke?!. [www.nhlbi.nih.gov/](http://www.nhlbi.nih.gov/).
33. Michelle Y. Cheng, Markus Aswendt, Gary K. Steinberg Optogenetic Approaches to Target Specific Neural Circuits in Post-stroke Recovery Neurotherapeutics. 2016 Apr; 13(2): 325–340
34. Aslihan Selimbeyoglu, Christina K. Kim, Masatoshi Inoue, Soo Yeun Lee, Alice S. O. Hong, Isaac Kauvar, Charu Ramakrishnan, Lief E. Fenno, Thomas J. Davidson, Matthew Wright and Karl Deisseroth. Modulation of prefrontal cortex excitation/inhibition balance rescues social behavior in CNTNAP2-deficient mice *Sci Transl Med.* 2017 Aug 2; 9(401): eaah6733.
35. Sufang Liu, Changsheng Li, Ying Xing, Yanqing Wang, Feng Tao Role of Neuromodulation and Optogenetic Manipulation in Pain Treatment *Curr Neuropharmacol.* 2016 Aug; 14(6): 654–661.
36. Feng Wang, Erik Bélanger, Marie-Eve Paquet, Daniel C. Côté, Yves De Koninck Probing pain pathways with light <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.09.035>
37. Sadegh Nabavi, Rocky Fox, Christophe D. Proulx, John Y. Lin, Roger Y. Tsien, Roberto Malinow Engineering a memory with LTD and LTP *Nature.* 2014 Jul 17; 511(7509): 348–352.
38. Erin Dean *Anxiety Nurs Stand* 2016 Jul 13;30(46):15
39. Ada C Felix-Ortiz, Anna Beyeler, Changwoo Seo, Christopher A Leppla, Craig P Wildes, Kay M Tye BLA to vHPC inputs modulate anxiety-related behaviors *Neuron* 2013 Aug 21;79(4):658-64.
40. Xiaobing Zhang and Anthony N. van den Pol Rapid binge-like eating and body weight gain driven by zona incerta GABA neuron activation *Science.* 2017 May 26; 356(6340): 853–859.
41. Franziska Schneider-Warme The power of optogenetics, Potential in cardiac experimental and clinical electrophysiology *Herzschr Elektrophys* 2018 · 29:24–29
42. Lior Gepstein, Amit Gruber Optogenetic Neuromodulation of the Heart <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.10.003>
43. Mehmet Ali Elmacioğlu NEURAL THERAPY APPROACH TO THE HYPERTENSION AND PAIN EXACERBATION AFTER STELLATE GANGLION BLOCKADGE
44. <https://www.noldus.com/applications/optogenetics>