

ОПТОГЕНЕТИКА И ОПТОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.7868/S0869813918060011

**ПРИМЕНЕНИЕ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ
И ПОДАВЛЕНИЯ ЭПИЛЕПТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ (ОБЗОР)**

© Е. Ю. Смирнова,^{1,2} А. В. Зайцев¹

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия

² Физико-технический институт им. А. Ф. Иоффе РАН,
Санкт-Петербург, Россия
E-mail: elena.smirnova@mail.ioffe.ru

Около одного процента населения Земли страдает эпилепсией, причем в 30 % случаев болезнь не поддается медикаментозному воздействию. Чтобы помочь пациентам с фармакорезистентной эпилепсией разрабатываются новые подходы лечения. Одним из перспективных методов считается низкочастотная стимуляция структур мозга. Однако на данный момент механизм противосудорожного действия низкочастотной стимуляции выяснен не до конца. Есть и существенные недостатки этого метода: инвазивный характер и неспецифическое воздействие на ткань мозга, что ведет к ряду побочных эффектов. В связи с возникновением оптогенетики исследования механизмов действия низкочастотной стимуляции на эпилептическую активность получили новый импульс к развитию. Кроме того, появилась надежда существенно уменьшить побочные эффекты стимуляции, так как возникла возможность селективной активации или, наоборот, затормаживания определенных популяций нейронов. В данном обзоре описываются современные достижения в области исследования механизмов генерации и подавления эпилептической активности с помощью оптогенетического подхода в моделях эпилепсии *in vitro* и *in vivo*. Рассматриваются перспективы данного подхода для клинического использования.

Ключевые слова: эпилепсия, низкочастотная стимуляция мозга, оптогенетическая стимуляция мозга, подавление эпилептической активности.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 6. С. 620—629. 2018

E. Yu. Smirnova,^{1,2} A. V. Zaitsev.¹ APPLICATION OF OPTOGENETIC METHODS FOR SUPPRESSION OF EPILEPTIC ACTIVITY (REVIEW). ¹ Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the RAS, St. Petersburg, Russia; ² Ioffe Institute, St. Petersburg, Russia, e-mail: elena.smirnova@mail.ioffe.ru.

Almost 1 % of the general population suffers from epilepsy, and 30 % cases are resistant to antiepileptic drugs. To help patients with pharmacoresistant epilepsy, new approaches are being developed. One of the promising methods is low-frequency stimulation of the brain. However, the mechanism of the antiepileptic effect of the stimulation is still unclear. There are also several limitations of this approach: it is invasive, and the stimulation of the neural tissue is non-specific. Due to developing of optogenetics, the study of the mechanisms of the epileptogenesis and antiepileptic effect of low-frequency stimulation received a new impetus. Also, it is hoped that the use of optogenetic tools for brain stimulation reduces the side effects due to the cell type-specific action. In

the present review, we describe current advances in the study of the mechanisms of the generation and suppression of epileptic activity using the optogenetic approach in models of epilepsy in vitro and in vivo. Moreover, in the present review, we have also considered the prospects of the optogenetic brain stimulation for clinical use.

Key words: epilepsy, low-frequency stimulation of the brain, optogenetic stimulation of the brain, suppression of epileptic activity.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 6. P. 620—629. 2018

Несмотря на длительную историю изучения эпилепсии и поиск лекарственных средств, эффективно предотвращающих возникновение судорожной активности, до сих пор почти треть случаев заболеваний не поддается медикаментозной терапии. Чтобы помочь пациентам с фармакорезистентной эпилепсией нередко проводятся нейрохирургические операции по удалению эпилептогенных областей мозга и рассечению комиссуральных связей, что может сопровождаться достаточно тяжелыми последствиями для их здоровья [6]. Неинвазивный метод транскраниальной стимуляции, используемый при лечении некоторых психоневрологических и психических заболеваний, в том числе шизофрении, депрессии, наркомании, тревожного расстройства, применительно к эпилепсии пока не получил широкого распространения в силу его недоказанной эффективности [15].

В настоящее время в клинической практике применяют такие методы воздействия, как низкочастотная электрическая стимуляция блуждающего нерва [30] или очага эпилептической активности, для чего используют вживленные электроды. Низкочастотная глубинная стимуляция мозга (стимуляция посредством вживленных электродов) в ряде случаев оказывает выраженный противосудорожный эффект [14, 31]. Однако у других пациентов она же инициирует судороги [14]. К сожалению, низкочастотная электрическая стимуляция мозга может иметь и ряд побочных эффектов: ухудшение памяти [10], нежелательные эмоциональные реакции [17, 19], нейроэндокринные расстройства [13]. Это обусловлено тем, что электрическая стимуляция оказывает неспецифическое воздействие на ткань мозга, локально возбуждая различные типы нейронов и расположенные рядом волокна.

Решить проблему неспецифического воздействия на мозг, а также глубже понять нейронный механизм действия низкочастотной стимуляции на эпилептическую активность можно при использовании интенсивно развивающегося в последние годы оптогенетического подхода [7]. Цель данного обзора — рассмотреть основные экспериментальные результаты по изучению эффектов фотостимуляции различных групп нейронов энторинальной коры и гиппокампа на иктальную и интериктальную активность, которые получены к настоящему времени, и основные выводы о возможных механизмах наблюдаемых эффектов. Также в обзоре рассмотрены перспективы использования оптогенетического подхода для подавления эпилептической активности в клинической практике.

1. ОПТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД

Оптогенетика — это один из новейших методов исследования работы нейронов и нейронных сетей, основанный на внедрении в мембрану нервных клеток специальных каналов (или помп) — родопсинов, пропускающих ионы через мембрану клетки при воздействии светом [7]. Чтобы экспрессировать светочувствительные каналы используют методы генной инженерии, а для возбуждения или торможения нейронов и их сетей применяют различную оптическую аппаратуру. Оптогенетика позволяет с миллисекундной точностью управлять нейроном, воздействуя на него светом.

1.1. Типы родопсинов

Родопсины — это класс белков, содержащих 7 трансмембранных альфа-спиралей и ковалентно связанный кофактор ретиналь [25]. Ретиналь выполняет функцию хромофора, который ответствен за поглощение света. Родопсины были найдены у архей, зубактерий и эукариот. В зависимости от белковой последовательности все родопсины делятся на два типа, причем родопсины I типа характерны для одноклеточных, тогда как родопсины II типа — для многоклеточных животных. Родопсины I типа являются рецепторами фототаксиса или светоуправляемыми транспортерами протона или аниона хлора. Родопсины II типа являются зрительными рецепторами, такими как колбочки и палочки на сетчатке глаза, или могут быть вовлечены в циркадные ритмы [2, 25]. Родопсины II типа относятся к семейству рецепторов, сопряженных с G-белком.

Среди широко используемых в оптогенетике родопсинов есть катион-неспецифические каналы, анионные каналы и помпы, проводимость которых регулируется светом, а также активируемые светом рецепторы, запускающие внутриклеточные сигнальные каскады (рис. 1). Наибольший интерес в области исследования эпилепсии представляют такие родопсины, как:

- катионные каналородопсины [7], которые под действием синего (465 нм) света пропускают через клеточную мембрану различные катионы (преимущественно ионы натрия), тем самым деполяризуя (возбуждая) нейрон;

- хлорные каналородопсины [32], они под действием синего (465 нм) света селективно пропускают в клетку анионы хлора, гиперполяризуя (шунтируя) нейрон. Подробное описание анионных каналородопсинов можно найти в обзоре Е. Г. Говорунова и соавт. [1];

- галородопсины, или хлорные помпы [37], под действием желтого света (580 нм) пропускают анионы хлора в клетку;

- археродопсины, или протонные помпы [9], под действием зеленого света (532 нм) выводят протоны из клетки, гиперполяризуя ее;

- Cl-out [4] — это гибрид из хлорного каналородопсина и протонной помпы. Воздействие на хлорный каналородопсин лучом длиной 488 нм одновременно с воздействием на протонную помпу лучом 561 нм приводит к выводу анионов хлора при относительно постоянном уровне мембранного потенциала.

Есть два принципиальных отличия канала от помпы: во-первых, ток ионов через канал зависит от градиента концентраций этого типа ионов внутри и снаружи

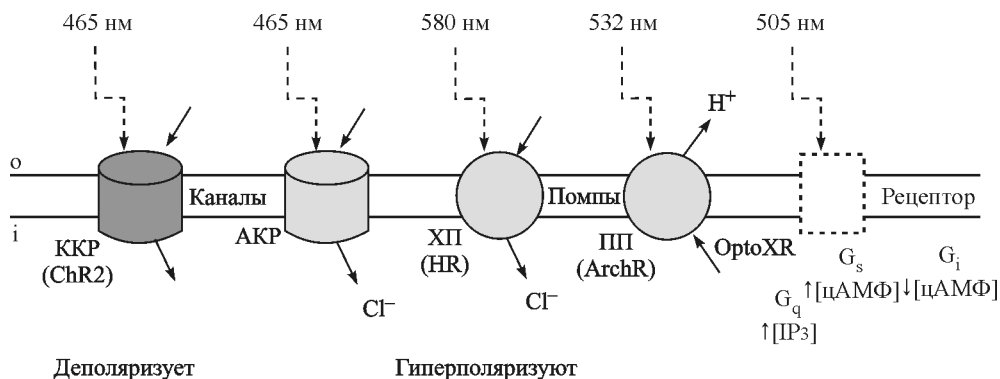


Рис. 1. Типы родопсинов, применяемых в оптогенетике: каналы, помпы и рецепторы.

ККР — катион-неспецифический каналородопсин, АКР — анионный каналородопсин, OptoXR — группы рецепторов, которые под действием зеленого света запускают аденилатциклазный (цАМФ) или инозитолтрифосфатный (IP3) путь.

клетки, а в случае помпы не зависит; во-вторых, в ответ на поглощение одного кванта света, помпа пропускает через мембрану лишь один ион, тогда как проводимость канала значительно выше. При патологическом состоянии (к примеру, в случае эпилепсии) ток ионов через канал может изменить свое направление. Эти особенности важно учитывать при подборе родопсинов для исследования. И каналы, и помпы относятся к родопсином I типа; родопсины II типа, используемые в оптогенетике, относятся к подгруппе ОртоXR [3], они позволяют светом запускать аденилатциклазный (цАМФ) или инозитолтрифосфатный (IP3) пути.

У каждого типа родопсина есть свои преимущества и недостатки, поэтому конкретный родопсин необходимо подбирать строго под задачу. Группа катионных каналов родопсинов представлена широким спектром отличающихся по динамике каналов [2]. При выборе родопсина гиперполяризующего действия необходимо обращать внимание на такие особенности, как проводимость, побочные эффекты. К примеру, проводимость канала много выше проводимости помпы [1]. Длительная работа хлорных каналов и помп, подобно ГАМК-рецепторам, могут приводить к накоплению внутриклеточного хлора и возбуждающему действию ГАМК [24]. Длительная работа протонной помпы приводит к защелачиванию межклеточного пространства, увеличению концентрации кальция и как следствие выбросу дополнительного медиатора из везикул [20, 29].

1.2. Доставка и специфичность экспрессии родопсинов

Клетка способна экспрессировать родопсин при наличии его гена и необходимого промотора, поэтому оптогенетический эксперимент можно проводить только на трансгенном животном и/или после инъекции лентивирусной или аденоассоциированной вирусной конструкции. Значительно реже доставка необходимых генов осуществляется с помощью плазмид методом электропорации *in utero* [21, 36]. Хотя вирусная инъекция является более простым и дешевым способом доставки нужных генов, к сожалению, при использовании данного метода есть ограничения по размеру переносимых генов. Кроме того, в этом случае эффективность экспрессии родопсина невелика.

В настоящее время на животных наиболее эффективным способом доставки представляется использование Cre-loxP системы, когда Cre-белок осуществляет такую рекомбинацию генов, помеченных loxP-сайтами, которая позволяет считывать ген родопсина [36]. Для реализации этой схемы трансгенное животное с геном Cre-рекомбиназы скрещивается с трансгенным животным, у которого есть молчащий ген родопсина, помеченный loxP-сайтами, альтернативно может быть использована вирусная доставка такого гена родопсина.

Специфичность экспрессии родопсина в определенном типе клеток обеспечивается используемым промотором: CAF (во всех клетках); Syn, hSyn, hSyn1 (во всех нейронах); CaMKII α , hThy1 (в возбуждающих глутаматергических нейронах); GFAP (в глиальных клетках). Для специфической экспрессии родопсина в парвальбуминовых или соматостатиновых ГАМКергических интернейронах обычно используют как раз Cre-loxP систему. Таким образом, выбор способа доставки и промотора зависит от задачи.

2. ФОТОСТИМУЛЯЦИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ГРУППЫ НЕЙРОНОВ С ЦЕЛЬЮ ПОДАВЛЕНИЯ ЭПИАКТИВНОСТИ

Оптогенетический подход в настоящее время успешно применяется для изучения механизма подавления эпилептической активности сети в различных моделях эпилепсии. Нейрофизиологи, как правило, выделяют 2 основные формы эпилептической активности [22]. Это иктальная, или собственно эпилептическая,

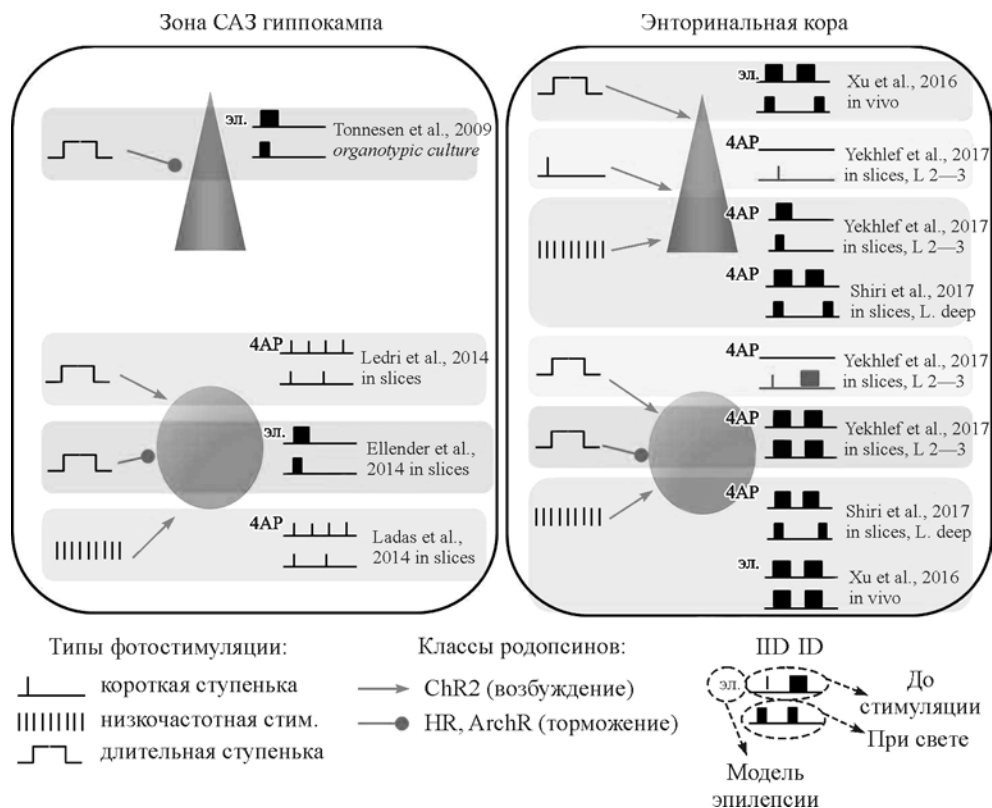


Рис. 2. Эффект фотостимуляции на иктальную и интериктальную активности в моделях височной эпилепсии.

Треугольники — глутаматергические клетки, овалы — ГАМКергические клетки, эл. — модель электрического киндинга, 4AP — 4-аминопиридиновая модель эпилепсии, ChR2 — катионные каналородопсины, HR — галородопсины, ArchR — археродопсины, IID — интериктальный разряд, ID — иктальный разряд, in slices — в срезах, L. — слой энторинальной коры.

активность, при которой большая часть нейронов сети практически постоянно находится в возбуждении и генерирует потенциалы действия, такая активность продолжается от десятков секунд до нескольких минут. Иктальный разряд начинается с тонической деполяризации мембранного потенциала, которая сопровождается повторяющимися потенциалами действия (тоническая фаза). За этим периодом тонической активности часто следует период нерегулярных периодических пачек потенциалов действия (клоническая фаза) [22].

Вторая форма — это интериктальная активность, при которой нейроны сети синхронно генерируют потенциалы действия в течение доли секунды или нескольких секунд. Поскольку механизм возникновения, распространения и угасания интериктальных и иктальных событий различается, то результаты оптогенетических исследований этих двух форм эпилептической активности будут рассмотрены по отдельности (рис. 2).

2.1. Эффект фотостимуляции на иктальные разряды

Первая опубликованная работа в этой области исследований была выполнена на органотипической культуре гиппокампа [28]. Было показано, что непрерывная гиперполяризация глутаматергических CaMKII α -нейронов путем фотостимуля-

ции галородопсинов во время эпилептоподобной активности, вызванной высокочастотной электрической стимуляцией, приводит к сокращению ее длительности.

В дальнейшем большинство исследований было выполнено на переживающих срезах мозга. Т. J. Ellender и соавт. [11] наблюдали ослабление клонической фазы иктальных разрядов при фотостимуляции парвальбуминовых интернейронов гиппокампа, экспрессирующих археродопсин. Данный эффект был продемонстрирован при использовании четырех различных моделей эпилепсии *in vitro*. Авторы предполагают, что длительность клонической фазы определяется внутриклеточной концентрацией хлорид-ионов в пирамидных нейронах гиппокампа. Гиперполяризация интернейронов за счет активации протонной помпы способствует ослаблению их спайковой активности, уменьшению ГАМКергического синаптического тока, что ведет к восстановлению нормальной концентрации хлорид-ионов и как следствие прекращению иктального разряда. L. Yekhlef и соавт. [34] на 4-аминопиридиновой модели эпилепсии *in vitro* показали, что спровоцировать возникновение интериктальных и иктальных событий может 300-миллисекундная фотостимуляция парвальбуминовых или соматостатиновых интернейронов энторинальной коры, экспрессирующих каналородопсины. Эти эпилептические события сопровождаются повышением внеклеточной концентрации ионов калия. При этом ни непрерывная активация путем воздействия на каналородопсины, ни гиперполяризация посредством воздействия на галородопсины или археродопсины интернейронов не оказывали противосудорожного эффекта во время тонической и клонической фаз иктального разряда. Таким образом, эффективность фотостимуляции парвальбуминовых интернейронов, расположенных в энторинальной коре и гиппокампе для подавления иктальной активности, существенно различается.

В работе 2017 г. той же группой авторов [35] показано, что кратковременная фотостимуляция глутаматергических нейронов 2—3-го слоев энторинальной коры вызывает интериктальные разряды, тогда как длительная фотостимуляция этих же нейронов во время иктальных разрядов сокращает продолжительность разрядов.

Интересно, что длительность фотостимуляции и выбранный момент времени для стимуляции могут менять ее эффект. Некоторые группы вместо непрерывной стимуляции применяли низкочастотную оптическую стимуляцию, поскольку низкочастотная электрическая стимуляция зарекомендовала себя еще до появления оптогенетики. Например, Z. Shiri и соавт. [26] на 4-аминопиридиновой модели эпилепсии *in vitro* показали, что низкочастотная активация парвальбуминовых и соматостатиновых интернейронов энторинальной коры или CaMKII α -нейронов приводит к сокращению и разрежению иктальных разрядов. Используя модель эпилепсии электрического киндлинга *in vivo*, Z. Xu и соавт. [33] обнаружили, что низкочастотная активация светом CaMKII α -нейронов энторинальной коры, но не тормозных ГАМКергических интернейронов, оказывает антиэпилептический эффект, подобный низкочастотной электрической стимуляции. В то же время гиперполяризация светом пирамидных нейронов блокирует антиэпилептическое действие низкочастотной электрической стимуляции.

Чтобы сократить время воздействия и повысить эффективность фотостимуляции было предложено использовать систему биологической обратной связи, когда оптическая стимуляция проводится только в периоды, критические для возникновения эпилептической активности. J. T. Paz и соавт. [23] впервые реализовали принцип обратной связи для подавления таламокортикальной эпилепсии путем воздействия светом на галородопсины, экспрессированные в таламических нейронах. В этой модели эпилептическая активность в коре распространяется от гипервозбужденных нейронов таламуса. Подавить такой тип эпилептической активности можно, погасив гиперактивность нейронов таламуса. J. T. Paz и соавт. [23] подавали длительную ступеньку света, определяя начало эпилепти-

ческого события с помощью метода Line Length [12] по ЭЭГ сигналу с частотой оцифровки 6 кГц. Суть этого метода заключается в том, что эпилептическое событие детектируется по превышению порогового значения разброса сигналов сразу по нескольким ЭЭГ-каналам. Применив систему обратной связи, авторам статьи удалось добиться исчезновения электрографических и поведенческих эпилептических приступов. Отметим, что принцип обратной связи может быть использован для более эффективного подавления приступов и при других формах эпилепсии. Мы также разработали систему обратной связи для подавления эпилептической активности в модели височной эпилепсии на крысах с мониторингом эпилептической активности по внутриклеточному сигналу репрезентативного нейрона энторинальной коры (см. статью Е. Ю. Смирновой и соавт. в этом номере журнала).

2.2. Эффект фотостимуляции на интериктальную активность

В 4-аминопиридиновой модели эпилепсии иктальные события зарождаются в энторинальной коре, тогда как источником интериктальной активности, вероятнее всего, является зона СА3 гиппокампа [5], поэтому эффект фотостимуляции на интериктальные события изучался именно в этой зоне гиппокампа. M. Ledgi и соавт. [18] на 4-аминопиридиновой модели в срезах гиппокампа, сравнили эффект непрерывной высокочастотной фотостимуляции парвальбуминовых и соматостатинных интернейронов на интериктальную активность, пришли к заключению, что такая фотостимуляция хотя и вызывает сначала короткую пачку спайков пирамидных нейронов, но затем длительное время не позволяет возникнуть спонтанным интериктальным событиям. Причем эффект сильнее, если стимулировать одновременно оба типа интернейронов.

Тогда как Т. Р. Ladas и соавт. [16], используя 4-аминопиридиновую модель эпилепсии *in vitro* и *in vivo*, сравнили эффекты низкочастотного возбуждения всех нейронов зоны СА3 гиппокампа и только интернейронов. Оказалось, что низкочастотное оптическое возбуждение ГАМКергических интернейронов сильнее подавляет интериктальную активность сети.

Таким образом, на основе имеющихся на сегодняшний день данных можно отметить принципиальное отличие действия фотостимуляции на иктальную и интериктальную активность: интериктальные разряды сильнее подавляются фотостимуляцией ГАМКергических интернейронов (зоны СА3 гиппокампа), тогда как иктальные разряды сильнее подавляются фотостимуляцией пирамидных нейронов (энторинальной коры). Если сравнивать эффект стимуляции глутаматергических нейронов зоны СА3 гиппокампа и энторинальной коры, то в первом случае удалось добиться подавления эпилептической активности за счет гиперполяризации нейронов, а во втором — за счет деполяризации. Преимущества в использовании непрерывной фотостимуляции относительно низкочастотной фотостимуляции по сегодняшним данным не наблюдаются, поэтому для дальнейших клинических испытаний низкочастотная стимуляция в большей степени подходит из-за меньшего воздействия на ткань мозга. К сожалению, ни при каком типе фотостимуляции пока не удалось добиться стопроцентного подавления эпилептической активности. Согласно имеющимся на сегодняшний день данным, стимуляция способна сократить продолжительность события или разредить иктальные разряды, но погасить мощную синхронизацию сети при зарождении эпилептического события пока не удается. Таким образом, механизм антиэпилептического эффекта низкочастотной стимуляции требует дальнейшего изучения.

НЕРЕШЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОПТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОДХОДА В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Несмотря на большой потенциал оптогенетического подхода для подавления эпилептической активности, прежде чем он сможет быть использован в клинике, должен быть преодолен целый ряд проблем. Среди них можно выделить: иммунный ответ организма на родопсины, маленькую площадь воздействия светом и сложность его подведения, отсутствие неинвазивных способов экспрессии родопсинов [29]. В настоящее время для оптической глубинной стимуляции мозга (инвазивной) предлагается имплантировать оптоволокно [27]. Однако недавно был предложен неинвазивный способ стимуляции после разовой доставки генов родопсина в необходимую область мозга [8]. Суть метода заключается в том, что вместо оптоволокон используются сверхконверсионные наночастицы (upconverting nanoparticles), преобразующие инфракрасный свет в свет нужной длины волны. Инфракрасные лучи способны проникать в ткань, а сверхконверсионные наночастицы меняют длину волны на требуемую. Таким образом, технические проблемы использования оптогенетического подхода в клинике еще очень велики, однако данная область стремительно развивается, и многие проблемы могут быть разрешены в будущем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оптогенетика позволяет оказывать специфичное воздействие на функции мозга путем возбуждения или торможения определенных классов нейронов. Этот ценный инструмент открывает перед исследователями новые перспективы для изучения механизмов генерации и распространения эпилептической активности, а также для поиска эффективных способов ее подавления. Уже первые экспериментальные работы в данной области продемонстрировали уникальные возможности оптогенетического подхода (рис. 2). Получены убедительные экспериментальные доказательства того, что генерация, распространение и прекращение эпилептической активности зависят от активности определенных классов нейронов, при этом существенное значение имеет их точная локализация в мозге. Показано, что эффекты непрерывной и низкочастотной стимуляции нейронов существенно отличаются. Таким образом, применение оптогенетического метода для исследования механизмов эпилептической активности в ЦНС является весьма плодотворным. Возможность практического применения оптогенетического подхода в клинической практике требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена за счет гранта РФФИ (проект № 17-75-10082).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Говорунова Е. Г., Синещиков О. А., Студич Дж. Л.* Три семейства канальных родопсинов и их использование в оптогенетике. Журн. высш. нерв. деятельности. 67(5): 9—17. 2017.
- [2] *Кулешова Е. П.* Оптогенетика — новые возможности для электрофизиолога. Журн. высш. нерв. деятельности. 67(5): 18—31. 2017.
- [3] *Airan R. D., Thompson K. R., Fenno L. E., Bernstein H., Deisseroth K.* Temporally precise in vivo control of intracellular signalling. Nature. 458(7241):1025—1029. 2009.
- [4] *Alfonsa H., Lakey J. H., Lightowlers R. N., Trevelyan A. J.* Cl-out is a novel cooperative optogenetic tool for extruding chloride from neurons. Nat. Commun. 7:13495. 2016.
- [5] *Barbarosie M., Avoli M.* CA3-driven hippocampal-entorhinal loop controls rather than sustains in vitro limbic seizures. J. Neurosci. 17(23):9308—9314. 1997.

- [6] Bonelli S. B., Thompson P. J., Yogarajah M., Powell R. H., Samson R. S., McEvoy A. W., Symms M. R., Koeppe M. J., Duncan J. S. Memory reorganization following anterior temporal lobe resection: a longitudinal functional MRI study. *Brain*. 136(6):1889—1900. 2013.
- [7] Boyden E. S., Zhang F., Bamberg E., Nagel G., Deisseroth K. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat. Neurosci.* 8(9):1263—1268. 2005.
- [8] Chen S., Weitemier A. Z., Zeng X., He L., Wang X., Tao Y., Huang A. J. Y., Hashimoto-dani Y., Kano M., Iwasaki H., Parajuli L. K., Okabe S., Teh D. B. L., All A. H., Tsutsui-Kimura I., Tanaka K. F., Liu X., McHugh T. J. Near-infrared deep brain stimulation via upconversion nanoparticle-mediated optogenetics. *Science*. 359(6376):679—684. 2018.
- [9] Chow B. Y., Han X., Dobry A. S., Qian X., Chuong A. S., Li M., Henninger M. A., Bel-fort G. M., Lin Y., Monahan P. E., Boyden E. S. High-performance genetically targetable optical neural silencing by light-driven proton pumps. *Nature*. 463(7277):98—102. 2010.
- [10] Coleshill S. G., Binnie C. D., Morris R. G., Alarcon G., van Emde Boas W., Velis D. N., Simmons A., Polkey C. E., van Veelen C. W., van Rijen P. C. Material-specific recognition memory deficits elicited by unilateral hippocampal electrical stimulation. *J. Neurosci.* 24(7):1612—1616. 2004.
- [11] Ellender T. J., Raimondo J. V., Irkle A., Lamsa K. P., Akerman C. J. Excitatory effects of parvalbumin-expressing interneurons maintain hippocampal epileptiform activity via synchronous afterdischarges. *J. Neurosci* 34(46):15 208—15 222. 2014.
- [12] Esteller R., Echaz J., Tchong T., Litt B., Pless B.. Line length: an efficient feature for seizure onset detection. *Engineering in Medicine and Biology Society, 2001. Proceedings of the 23rd Annu. Internat. Confer. of the IEEE.* 2001:1707—1710. 2001.
- [13] Fink G., Jamieson M. G. Effect of electrical stimulation of the preoptic area on luteinizing hormone releasing factor in pituitary stalk blood. *J. Physiol.* 237(2):37P—38P. 1974.
- [14] Fisher R. S., Velasco A. L. Electrical brain stimulation for epilepsy. *Nat. Rev. Neurol.* 10(5):261—270. 2014.
- [15] Gschwind M., Seeck M. Transcranial direct-current stimulation as treatment in epilepsy. *Exp. Rev. Neurother.* 16(12):1427—1441. 2016.
- [16] Ladas T. P., Chiang C. C., Gonzalez-Reyes L. E., Nowak T., Durand D. M. Seizure reduction through interneuron-mediated entrainment using low frequency optical stimulation. *Exp. Neurol.* 269:120—132. 2015.
- [17] Lanteaume L., Khalfa S., Régis J., Marquis P., Chauvel P., Bartolomei F. Emotion induction after direct intracerebral stimulations of human amygdala. *Cereb. Cortex.* 17(6):1307—1313. 2007.
- [18] Ledri M., Madsen M. G., Nikitidou L., Kirik D., Kokaia M. Global optogenetic activation of inhibitory interneurons during epileptiform activity. *J. Neurosci.* 34(9):3364—3377. 2014.
- [19] Liu X., Ramirez S., Pang P. T., Puryear C. B., Govindarajan A., Deisseroth K., Tonegawa S. Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*. 484(7394):381—385. 2012.
- [20] Mahn M., Prigge M., Ron S., Levy R., Yizhar O. Biophysical constraints of optogenetic inhibition at presynaptic terminals. *Nat. Neurosci.* 19(4):554—556. 2016.
- [21] Malyshev A. Y., Roshchin M. V., Smirnova G. R., Dolgikh D. A., Balaban P. M., Ostrovsky M. A. Chloride conducting light activated channel GtACR2 can produce both cessation of firing and generation of action potentials in cortical neurons in response to light. *Neurosci. Lett.* 640:76—80. 2017.
- [22] McCormick D. A., Contreras D. On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annu. Rev. Physiol.* 63:815—846. 2001.
- [23] Paz J. T., Davidson T. J., Frechette E. S., Delord B., Parada I., Peng K., Deisseroth K., Huguenard J. R. Closed-loop optogenetic control of thalamus as a tool for interrupting seizures after cortical injury. *Nat. Neurosci.* 16(1):64—70. 2013.
- [24] Raimondo J. V., Kay L., Ellender T. J., Akerman C. J. Optogenetic silencing strategies differ in their effects on inhibitory synaptic transmission. *Nat. Neurosci.* 15(8):1102—1104. 2012.
- [25] Shen L., Chen C., Zheng H., Jin L. The evolutionary relationship between microbial rhodopsins and metazoan rhodopsins. *Scient. World J.* 2013.
- [26] Shiri Z., Lévesque M., Etter G., Manseau F., Williams S., Avoli M. Optogenetic Low-frequency stimulation of specific neuronal populations abates ictogenesis. *J. Neurosci.* 37(11):2999—3008. 2017.

- [27] Stauffer W. R., Lak A., Yang A., Borel M., Paulsen O., Boyden E. S., Schultz W. Dopamine neuron-specific optogenetic stimulation in rhesus macaques. *Cell*. 166(6):1564—1571. e6. 2016.
- [28] Tønnesen J., Sørensen A. T., Deisseroth K., Lundberg C., Kokaia M. Optogenetic control of epileptiform activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 106(29):12 162—12 167. 2009.
- [29] Tønnesen J., Kokaia M. Epilepsy and optogenetics: can seizures be controlled by light? *Clin. Sci. (Lond.)*. 131(14):1605—1616. 2017.
- [30] Uthman B. M. Vagus nerve stimulation for seizures. *Arch. Med. Res.* 31(3):300—303. 2000.
- [31] Wendling F., Gerber U., Cosandier-Rimele D., Nica A., De Montigny J., Raineteau O., Kalitzin S., Lopes da Silva F., Benquet P. Brain (hyper) excitability revealed by optimal electrical stimulation of GABAergic interneurons. *Brain Stimul.* 9(6):919—932. 2016.
- [32] Wietek J., Wiegert J. S., Adeishvili N., Schneider F., Watanabe H., Tsunoda S. P., Vogt A., Elstner M., Oertner T. G., Hegemann P. Conversion of channelrhodopsin into a light-gated chloride channel. *Science*. 344(6182):409—412. 2014.
- [33] Xu Z., Wang Y., Chen B., Xu C., Wu X., Wang Y., Zhang S., Hu W., Wang S., Guo Y., Zhang X., Luo J., Duan S., Chen Z. Entorhinal principal neurons mediate brain-stimulation treatments for epilepsy. *EBioMedicine*. 14:148—160. 2016.
- [34] Yekhhlef L., Breschi G. L., Lagostena L., Russo G., Taverna S. Selective activation of parvalbumin- or somatostatin-expressing interneurons triggers epileptic seizurelike activity in mouse medial entorhinal cortex. *J. Neurophysiol.* 113(5):1616—1630. 2014.
- [35] Yekhhlef L., Breschi G. L., Taverna S. Optogenetic activation of VGLUT2-expressing excitatory neurons blocks epileptic seizure-like activity in the mouse entorhinal cortex. *Scient. Reports*. 7:43 230. 2017.
- [36] Zeng H., Madisen L. Mouse transgenic approaches in optogenetics. *Prog. Brain Res.* 196:193—213. 2012.
- [37] Zhang F., Wang L. P., Brauner M., Liewald J. F., Kay K., Watzke N., Wood P. G., Bamberg E., Nagel G., Gottschalk A., Deisseroth K. Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature*. 446(7136):633—639. 2007.

Поступила 19 IV 2018