

REVIEW ARTICLE

A Review of Patterned Light Delivery Techniques in Optogenetics: Scanning Systems, Modulators, and Implants

Parisa Mahmoudi*

Assistant Professor, Faculty of
Electrical Engineering, Payame
Noor University, Tehran, Iran.

Correspondence

Parisa Mahmoudi

Email: parisamahmoudi@pnu.ac.ir

How to cite

Mahmoudi, P. (2025) A Review of
Patterned Light Delivery
Techniques in Optogenetics:
Scanning Systems, Modulators,
and Implants, Optoelectronic, 7(3),
57-87.

ABSTRACT

The field of brain mapping reveals that each region within the nervous system performs specific functions, with neurons in neural networks communicating through complex spatiotemporal patterns. Implementing these neuronal activity patterns is crucial for neuroscience to control neural activity and treat diseases. Researchers use these patterns for targeted neural stimulation of neurons to uncover the secrets of information processing in the brain's intricate networks. Optical neural stimulation, as a powerful tool for manipulating neurons, employs optical modulation techniques to achieve patterned light illumination on neural tissue surfaces. On the other hand, the design of implants that deliver effective, patterned light pulses to target neurons deep within brain tissue is significantly evolving. These tools enable the reconstruction of neuronal activity patterns in both two and three dimensions. This study highlights the necessity of achieving patterned light delivery techniques to neural tissue by introducing various optical stimulation techniques. Subsequently, patterned light implementation through advanced technologies, including scanning lasers, liquid crystal modulators, and digital micromirror modulators, is examined with their unique advantages and challenges. Finally, the notable advancements in fiber optic arrays, waveguides, and micro light-emitting diodes, which collectively pave the way toward more complex and less invasive neural stimulation techniques, are reviewed.

KEYWORDS

Spatiotemporal Patterns, Liquid Crystal on Silicon Spatial Light Modulator, Digital Micromirror Array, Fiber Optic Array, Waveguide.

فصلنامه علمی

اپتوالکترونیک

«مقاله مروری»

مروری بر تکنیک‌های تحویل نور الگویی در اپتوژنتیک: سیستم‌های اسکن، مدولاتورها و ایمپلنت‌ها

پریسا محمودی*

استادیار، گروه مهندسی برق، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

چکیده

علم نقشه‌برداری از مغز نشان می‌دهد که هر ناحیه در سیستم عصبی عملکردهای خاصی را انجام می‌دهد و نورون‌ها در شبکه‌های عصبی، از طریق الگوهای مکانی-زمانی پیچیده با هم در ارتباط‌اند. پیاده‌سازی این الگوهای فعالیت نورونی، نیاز اساسی علوم اعصاب برای کنترل فعالیت عصبی و درمان بیماری‌ها می‌باشد. به‌طوری که محققان از این الگوها برای تحریک عصبی هدفمند سلول‌های عصبی استفاده می‌کنند تا از رموز پردازش اطلاعات در شبکه‌های پیچیده مغز پرده بردارند. تحریک عصبی نوری به عنوان ابزاری قدرتمند برای دستکاری نورون‌ها، از تکنیک‌های مدولاتورهای نوری برای تحقق تابش نور الگویی به سطح بافت عصبی استفاده می‌کند. از طرف دیگر طراحی ایمپلنت‌هایی که پالس‌های موثر و الگویی نور را به نورون‌های هدف در عمق بافت مغز ارسال می‌نمایند، به طور قابل توجهی در حال توسعه است. این ابزارها امکان بازسازی الگوهای فعالیت نورونی را در دو و سه بعد فراهم می‌نمایند. این مطالعه با معرفی انواع تکنیک‌های تحریک نوری، لزوم دستیابی به تکنیک‌های تحویل نور الگویی به بافت عصبی را برجسته می‌نماید. سپس پیاده‌سازی نور الگویی از طریق فناوری‌های پیشرفته مختلف از جمله لیزرهای اسکن، مدولاتورهای کریستال مایع و مدولاتور میکروآینه دیجیتال، با مزایا و چالش‌های منحصر به فردشان، بررسی می‌شوند. در نهایت پیشرفت چشمگیر آرایه‌های فیبر نوری، موجرها و میکرودیوهای گسیل کننده نور که با هم مسیری را به سمت تکنیک‌های تحریک عصبی پیچیده‌تر و کمتر تهاجمی تر طی می‌کنند، بررسی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی

الگوهای مکانی-زمانی، مدولاتور کریستال مایع بر سیلیکن، آرایه میکروآینه دیجیتال، آرایه فیبر نوری، موجر.

نویسنده مسئول:

پریسا محمودی

رایانامه:

parisamahmoudi@pnu.ac.ir

استناد به این مقاله:

پریسا محمودی (۱۴۰۴). مروری بر تکنیک‌های تحویل نور الگویی در اپتوژنتیک: سیستم‌های اسکن، مدولاتورها و ایمپلنت‌ها. فصلنامه علمی اپتوالکترونیک، ۷(۳)، ۵۷-۸۷.

<https://jphys.journals.pnu.ac.ir>

مقدمه

مغز پستانداران از هر مدار الکترونیکی که تا کنون طراحی شده، پیچیده‌تر است. آن از بیلیون‌ها جزء تشکیل می‌شود که شکل‌ها، اندازه‌ها، الگوهای فعالیت، الگوهای ارتباط و انواع مولکولی بی‌شماری دارند. پیشرفت به سوی حل کردن این پیچیدگی‌ها سال‌ها است که دو مسیر موازی را طی می‌کند. یکی تمرکز بر عملکرد این المان‌های مداری است که الکتروفیزیولوژی نامیده می‌شود و دیگری تمرکز بر ماهیت ساختاری و شیمیایی عصبی است که آناتومی نام دارد. روش‌های الکتروفیزیولوژی می‌توانند برای ثبت فعالیت نورون‌ها در حیوانات استفاده شوند؛ ولی ابزارها برای ربط دادن این الگوهای فعالیت عصبی مربوط به رفتار، به ماهیت آناتومیک همان نورون‌ها محدود هستند [۱-۴]. به علاوه مغز می‌تواند برای فراخواندن خاطرات، رفتارها و یا حالات عاطفی، به طرز الکترونیکی تحریک شود. لیکن تعیین مکانیسم‌هایی که این دستکاری‌ها، تحت آن‌ها در المان‌های خاص در مدارهای عصبی اعمال می‌شوند، می‌تواند بسیار مشکل باشد. این نوع تحریک در محدود کردن میدان الکترونیکی به یک نورون تنها، موفق نبوده است. همچنین تحریک الکترونیکی فاقد ویژگی شناسایی نوع نورونی برای دستکاری زیرگروهی از نورون‌ها با ماهیت مولکولی خاص است. به‌طوری که نشستی جریان الکترودهای تحریک الکترونیکی، وضوح مکانی آن را محدود می‌کند [۵-۶].

روش‌های کنترل نوری فعالیت عصبی به عنوان روش جایگزین، از نور برای مدوله کردن فعالیت عصبی استفاده می‌کنند و می‌توانند برای بررسی غیرتهاجمی ارتباطات بین فرآیندهای بیولوژیک مختلف به کار روند. این روش از مدت‌ها قبل برای درمان و نقشه‌برداری از ارتباطات عصبی بین مناطق مختلف مغز نیز استفاده می‌شده است. در حال حاضر دستکاری نوری فعالیت عصبی به دلیل وضوح زمانی و مکانی بالا، موثرترین روش برای مطالعه میکرومدارهای عصبی است [۷-۹]. در ابتدا تاریخچهٔ تکامل تحریک عصبی نوری را با معرفی مولکول‌های فعال شده با نور، تحریک نوری مادون قرمز و با تاکید بر اپتوژنتیک بررسی می‌نماییم. سپس با معرفی تکنیک‌های مدولاسیون نور، به مطالعه نحوهٔ ایجاد نور الگویی برای تحریک نوری سلول‌های عصبی می‌پردازیم. در نهایت ابزارهای تحویل نور به بافت عصبی، از تک فیبر نوری تا سیستم‌های پیشرفته و پیچیده برای هدف‌گیری الگویی جمعیت‌های نورونی معرفی و بررسی می‌شوند.

کنترل فعالیت عصبی، درک ما را از عملکرد مغز بهبود بخشیده‌اند. مولکول‌های فعال شده با نور، ترکیبات محبوس^۱ مانند انتقال دهنده‌های عصبی یا یون‌های محبوس در یک قفس حساس به نور هستند که در معرض تابش نور آزاد می‌شوند و کنترل زمانی مسیرهای سیگنالینگ عصبی را ممکن می‌سازند. این مولکول‌ها برای مطالعه پایه‌ای مدارهای عصبی مانند فیزیولوژی سیناپسی استفاده می‌شوند. مزیت این روش دقت زمانی بالای آن است؛ اما وضوح مکانی آن به واسطهٔ پراکندگی بالای طول موج‌های کوتاه استفاده‌شده برای آزادسازی ترکیبات محبوس، محدود است. همچنین این روش اغلب نیازمند روش‌های تهاجمی برای تحویل ترکیبات است. به علاوه، نیاز مستمر به انتقال دهنده‌های عصبی محبوس برای مطالعات بافت زنده و سمیت بالقوهٔ قفس از دیگر معایب این روش هستند [۱۰-۱۵]. مولکول‌های قابل تغییر با نور^۲ نیز در پاسخ به طول موج‌های خاص نور دچار تغییرات ساختاری می‌شوند، می‌توانند کانال‌های پتاسیوم K^+ و گیرنده‌های گلوتمات را تنظیم نمایند و از این رو فعالیت عصبی را به طرز برگشت‌پذیری مدوله کنند. این روش مزیت برگشت‌پذیر بودن را داراست و می‌تواند انواع سلولی خاص را هدف‌گیری نماید؛ اما ایراد آن نفوذ محدود نور در بافت است. این روش با پیدایش مولکول‌های جدید برای دستکاری نوری هدف‌های متنوع‌تر، در حال گسترش است [۱۶-۲۳].

تحریک عصبی مادون قرمز^۳ (INS) از نور مادون قرمز پالسی برای القای گرمای محلی در بافت استفاده می‌کند که خود سبب تغییرات گذرای خازن غشای سلولی و تریگر شدن پتانسیل‌های عمل می‌شود. INS غیرتهاجمی است و وضوح مکانی ریزتری به همراه دارد [۲۴-۲۹]. لیکن این روش به دلیل جذب نور در بافت، با محدودیت ماکزیمم عمق نفوذ نور، دقت مکانی پایین و آسیب حرارتی به بافت مواجه است. همچنین این نوع تحریک نمی‌تواند انواع خاصی از نورون‌ها یا مدارهای عصبی را به طور انتخابی هدف‌گیری نماید که خود استفاده از آن را برای مدارهای عصبی پیچیده محدود می‌کند [۳۰-۳۳]. به علاوه بازده فعال‌سازی نورونی از طریق مکانیسم‌های گرمایی بسته به ویژگی‌های بافت و وجود کانال‌های یونی مختلف، متفاوت خواهد بود. همچنین آستانه‌های آسیب و تحریک بافت هدف تحت INS مزمن باید مطالعه شوند [۳۴-۳۹].

تکنیک INS از طریق افزودن مواد جذب‌کنندهٔ نور به بافت بهبود داده شده است. به‌طوری که محققان پتانسیل استفاده از

1 Caged Compounds

2 Photoswitchable Molecules

3 Infrared Neural Stimulation (INS)

تحریک عصبی نوری

روش‌های تحریک نوری در علوم اعصاب با فراهم کردن امکان

ارگان‌هایی است که مجهز به پروتئین‌های حساس به نور (اپسین) شده باشند. این پروتئین‌ها، سنسورها و محرک‌های اپتیکی هستند که به ترتیب بازخوانی فلورسنت تغییرات فعالیت‌های عصبی و دستکاری عملکردهای سلولی با نور را ممکن می‌سازند [۴۸-۵۰]. حساسیت نوری یک نوع سلول خاص، بافت و یا اندام مورد نظر همراه با استفاده از تحریک نوری و سیستم‌های تشخیص نور کارآمد، اپتوژنتیک را قادر می‌سازد که به طور غیرتهاجمی و با وضوح مکانی و زمانی بالا فعالیت‌های عصبی را دستکاری و نظارت کند [۵۱]. نیاز به کنترل دقیق و سریع سلول‌های مجزا در مغز مهره‌داران برای رمزگشایی مدارهای عصبی تحت رفتار و بیماری، اپتوژنتیک را جایگزینی کارآمد برای روش‌های تهاجمی کند و دقت پایین متداول نموده است [۵۲]. مفهوم اپتوژنتیک برای علوم اعصاب در سال ۱۹۷۹ توسط فرانسیس کریک و برای هدف قرار دادن نورون‌های خاص و کنترل سریع مکانی-زمانی آن‌ها با نور مطرح شد. اگرچه دانشمندان علوم اعصاب در آن زمان روش‌های بیان پروتئین‌های حساس به نور را نمی‌دانستند، میکروبیولوژیست‌ها از وجود پروتئین‌هایی که جریان یون‌ها را در غشای پلاسمایی برخی از سلول‌ها تحت تابش نور تنظیم می‌کنند، آگاه بودند. توسعه اساسی در این زمینه با مطالعه‌ای پیشگام توسط ناگل و همکارانش شکل گرفت. آن‌ها امکان بیان اپسین‌های میکروبی را به عنوان پروتئین کانال یونی حساس به نور، در سلول‌های غیرقابل تحریک پستان‌داران نشان دادند که دیپلاریزاسیون سلولی سریع ناشی از نور را ممکن ساخت [۵۳]. به طور مشابه، بویدن و همکارانش اپسین‌های میکروبی را در نورون‌های پستانداران بیان و مدولاسیون تحریک‌پذیری الکتریکی آن‌ها با نور را با وضوح مکانی-زمانی بالا نشان دادند. این مطالعات منجر به رشد بی‌سابقه اپتوژنتیک در زمینه‌های مختلف علوم اعصاب شدند [۵۴].

اپسین‌ها بر اساس نحوه عملکردشان به عنوان اپسین‌های میکروبی و اپسین‌های حیوانی دسته‌بندی می‌شوند. نوع اول در میکروب‌ها و نوع دوم در حیوانات و انسان‌ها یافت می‌شود. اپسین‌های میکروبی شامل پمپ‌های یونی حساس به نور مانند باکتریورودوپسین‌ها^۱ (BRs) و هالورودوپسین‌ها^۲ (HRs)، کانال‌های یونی مانند کانال رودوپسین‌ها^۳ (ChRs) و سنسورها مانند رودوپسین حسی^۴ (SR) هستند. این اپسین‌ها در معرض نور، جریان‌های یونی غشای سلولی را تحت تاثیر قرار می‌دهند و به این ترتیب پاسخ‌های بیولوژیکی را سبب می‌شوند. اپسین‌های میکروبی به دلیل سینتیک سریع‌تر و مهندسی ژنتیک نسبتاً

نور برای تحریک نورون‌ها از طریق گرم کردن نانوذرات را بررسی کرده‌اند. اگر نانوذرات طوری انتخاب شوند که در طول موج‌هایی که به وسیله آب بافت به طور ضعیف جذب می‌شوند، جذب بالایی داشته باشند، جذب می‌تواند در نزدیکی اعصاب هدف متمرکز شود. افزایش جذب در نورون‌ها دو مزیت کاهش توان مورد نیاز برای تحریک و امکان افزایش عمق نفوذ طول موج‌ها را دارا است [۴۰-۴۱]. دانشمندان ذرات میکرونی جذب‌کننده نور اکسید آهن را به سلول‌های کورتیکال خوشه‌ای در رت اعمال و برای جلوگیری از تابش نور بر کل بافت، از تصویر نور الگودهی شده بر سلول‌های هدف استفاده کردند. با استفاده از ترکیب جذب‌کننده‌های نور و نور الگودهی شده، کاهش‌های قابل توجهی در انرژی مورد نیاز برای دستیابی به تحریک، مشاهده شد [۴۲]. استفاده از نانومیل‌های طلا در سلول‌ها، به عنوان جذب‌کننده انتخابی برای نور مادون قرمز نزدیک، برای تحریک عصبی *in vitro* نیز بررسی شده است. کار اولیه روی سلول‌هایی که با نانومیل‌های طلا کشت شدند، گذارهای Ca^{+2} درون سلولی را در پاسخ به نور لیزر در طول موج تشدید پلاسمون نانومیل‌های طلا، مشابه سلول‌های در معرض INS نشان داد. کار بعدی امکان برانگیختگی پتانسیل‌های عمل را در *in vitro* در نورون‌های گانگلیونی اسپیرال که با نانومیل‌های طلا کشت شده بودند، تحت تابش نور با طول موج 780nm نشان داد [۴۳-۴۵]. دامنه انرژی استفاده شده در این روش تقریباً دو برابر کمتر از انرژی مورد نیاز برای INS است. بدیهی است این روش به دلیل اعمال یک ماده خارجی به بافت هدف، یکی از مزایای اصلی INS را از دست می‌دهد [۴۶-۴۷].

اپتوژنتیک، با بیان کانال‌های یونی حساس به نور به طرز ژنتیکی در نورون‌ها، امکان تحریک و مهار فعالیت عصبی را با دقت مکانی و زمانی بالا فراهم می‌کند. این روش تشریح مدارهای عصبی پیچیده را امکان‌پذیر می‌سازد و بینش عمیقی در مورد مکانیسم‌های اساسی رفتار و دینامیک عصبی ارائه می‌دهد. قابلیت انتخاب نوع نورونی خاص، کارایی و ابزارهای در حال گسترش اپتوژنتیک، آن را به انتخابی برتر برای تحقیقات علوم اعصاب تبدیل می‌کند. بنابراین در حالی که هر روش مزایای منحصر به فردی را ارائه می‌دهد، اپتوژنتیک سازگارترین تکنیک برای دستکاری فعالیت عصبی و پیشرفت درک ما از سیستم عصبی است [۴۸-۴۹].

اپتوژنتیک

کلمه اپتوژنتیک که برای اولین بار در سال ۲۰۰۶ معرفی شد، ترکیبی از مهندسی ژنتیک و تکنولوژی اپتیک برای کنترل مانیپولینگ عملکردهای بیولوژیکی سلول‌های مجزا، بافت‌ها و

1 Bacteriorhodopsins (Brs)

2 Halorhodopsins (Hrs)

3 Channelrhodopsins (Chrs)

4 Sensory Rhodopsins (Srs)

بلندتر هدف بسیاری از تحقیقات اپتوژنتیک بوده است [۶۲-۶۵]. اپسین‌های قرمز شیف‌یافته برای تحریک غیرتهاجمی و عمیق‌تر بافت در حال توسعه هستند. ReaChR و VChR1 از نمونه آن‌ها هستند که به ترتیب با طول موج‌های 535nm و 590-630nm فعال می‌شوند [۶۶-۷۰]. اپسین‌های تابع پله^۱ (SFO) که با نور آبی 470nm فعال و با نور سبز 542nm غیرفعال می‌شوند؛ نیز می‌توانند کانال را برای مدت طولانی‌تر و حتی در غیاب نور تحریک باز نگه دارند. به‌طوری که این اپسین‌ها به تابش پیوسته نور لیزر نیاز ندارند و بافت عصبی در حضور آن‌ها از نظر گرمای محلی ایجاد شده ایمن‌تر می‌ماند [۷۱-۷۲]. همچنین هالورودوپسین‌های جدیدی برای مهار فعالیت عصبی شناخته شده‌اند که با نورهای قرمز و آبی فعال می‌شوند. iC1C2 از جمله آن‌ها است که با نور قرمز غیرفعال می‌شود [۷۳]. در حال حاضر ابزارهای اپسینی اپتوژنتیک بسیار متنوع هستند. به طوری که امکان انتخاب اپسین مناسب براساس ویژگی‌های نوع سلولی خاص و ویژگی‌های اپتیک و شیمیایی بافت هدف و نیازهای آزمایش وجود دارد [۷۴].

تکنیک‌های پیاده‌سازی نور الگویی

روش متداول برای فعال‌سازی اپسین در اپتوژنتیک، استفاده از میکرودیودهای گسیل‌کننده نور^۲ و یا فیبرهای نوری در مجاورت بافت هدف است. نور خروجی در این روش، تمام نوره‌های حاوی اپسین را در ناحیه تابش فعال می‌کند [۷۵-۷۶]. لیکن، نور الگویی که کنترل نور تحریک در بعد زمان و مکان است، امکان کنترل دقیق مکانی نوره‌ها را فراهم می‌نماید. این دقت برای مطالعه مدارهای عصبی ضروری است؛ زیرا فعال‌سازی یا مهار انتخابی جمعیت‌های نورونی خاص و یا حتی نوره‌های تکی را امکان‌پذیر می‌کند. محققان با استفاده از نور الگویی می‌توانند سهم عملکردی نوره‌های خاص و اتصالات آن‌ها را بررسی کنند و نقشه دقیقی از مدارهای عصبی ارائه دهند.

به علاوه، نور الگویی می‌تواند الگوهای فعالیت عصبی طبیعی را با دقت بیشتری تقلید کند و به درک فیزیولوژیکی دقیق‌تر از نحوه تعامل نوره‌ها در طول رفتارهای مختلف کمک کند. این رویکرد توانایی مطالعه عملکردها و اختلالات پیچیده مغز را بهبود می‌بخشد [۷۷-۷۸]. مزیت مهم دیگر تحریک نور الگویی، کاهش عوارض جانبی تحریک است. در حالی که تابش گسترده به طور ناخواسته جمعیت‌های نورونی همسایه را فعال می‌کند و منجر به اثرات ناشی از هم‌پوشانی تحریک و نتایج گیج‌کننده

آسان‌تر در مقایسه با پروتئین‌های حیوانی، در تحقیقات اپتوژنتیک بیشتر استفاده می‌شوند [۵۱].

کانال رودوپسین برای اولین بار در جلبک تک سلولی سبز کشف شد و سبب عکس‌العمل چشم جلبک به نور گردید. جلبک‌های سبز دو نوع کانال رودوپسین به نام‌های ChR1 و ChR2 را کدگذاری می‌کنند. هر دوی این رودوپسین‌ها در پاسخ‌های نوری نقش دارند، اما دامنه و مکانیسم عمل آن‌ها متفاوت است [۵۴]. هر دوی این پروتئین‌ها در اپتوژنتیک استفاده می‌شوند؛ اما از آنجایی که ChR2 قابلیت اتصال به رتینال تمام ترانس (نوعی ویتامین آ) را دارد، کاربردی‌تر است. زیرا تابش نور آبی ($\lambda=470\text{nm}$) بر نوره‌های حاوی ChR2 متصل به ترکیب رتینال تمام ترانس، سبب ایزومریزاسیون رتینال، تبدیل آن به ایزومر سیس-۱۱ و باز شدن روزنه‌ای آنگسترومی در غشای سلولی می‌شود. بدین ترتیب کاتیون‌ها به داخل سلول جریان می‌یابند و دیپلاریزاسیون سلول عصبی تحقق می‌یابد. روزنه پس از قطع تابش نور بسته می‌شود؛ زیرا رتینال در حالت تاریک به فرم تمام ترانس خود برمی‌گردد. به علاوه، سینتیک بسیار سریع‌تر (میلی ثانیه) ChR2، قابلیت آن را برای ایجاد پتانسیل‌های عمل از پالس‌های نوری فرکانس بالا (میلی ثانیه) سبب می‌شود. از این رو ChR2 به عنوان ابزار اپتوژنتیکی اولیه و بسیار رایج برای تحریک نوره‌ها و برانگیختگی آن‌ها است [۵۷-۵۵].

پروتئینی که برای مهار فعالیت عصبی استفاده می‌شود، هالورودوپسین (HR) نام دارد. NpHR متداول‌ترین نوع آن است که به عنوان پمپ کلراید برای انتقال آنیون‌های کلراید به داخل سلول عصبی و ایجاد جریان‌های هایپرپلاریزاسیون یعنی جریان‌های بازدارنده در نوره‌ها استفاده می‌شود. این اپسین اولین بار برای خاموش کردن سریع و برگشت‌پذیر نوره‌ها با استفاده از پالس‌های نور زرد ($\lambda=580\text{nm}$) استفاده شده است [۵۹-۵۶]. بیان همزمان ChR2 و NpHR در نوره‌ها و تابش نور با طول موج مناسب، کنترل دوطرفه فعالیت‌های عصبی را در اپتوژنتیک امکان‌پذیر می‌کند. همچنین نرخ‌های تحریک بالا با ChR2 تاثیر مهاری دارد. به طوری که تحریک و مهار نوره‌ها می‌تواند تنها توسط یک نوع اپسین محقق شود [۶۰-۶۱]. لیکن از آنجایی که ماکزیمم نرخ پاسخ این اپسین ۴۰ هرتز است، امکان ایجاد پاسخ‌های سریع‌تر وجود ندارد. همچنین طول موج‌های نور مرئی پراکندگی و جذب بالایی در بافت دارند. به طوری که منبع نوری استفاده‌شده برای تحریک انتخابی موثر باید در نزدیکی نوره‌های هدف، قرار داده شود. این امر نیز به دلیل گرمای محلی ایجاد شده، محدود کننده خواهد بود. از این جهت ایجاد پروتئین‌های سریع‌تر و با طول موج‌های عملکرد

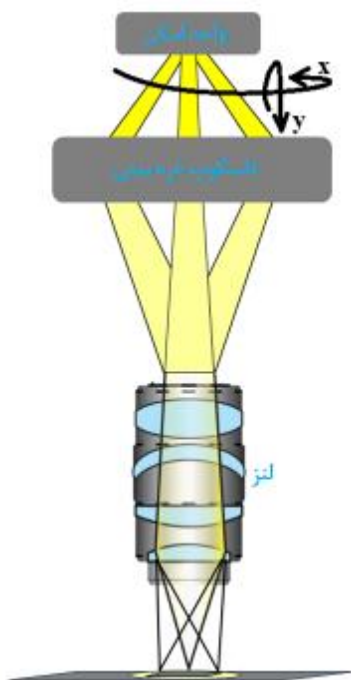
1 Step-Function Opsin (SFO)

2 Micro Light-Emitting Diodes (μLEDs)

می‌شود. لیکن پرتوی تابشی می‌تواند به منظور هدف‌گیری یک سری از مناطق از قبل تعریف شده مورد نظر، در سراسر نمونه هدایت شود.

به منظور حرکت دادن نقطه نوری به صورت افقی در سراسر میدان تحریک، از یک واحد اسکنر استفاده می‌شود. اسکنر پرتو، اندازه نقطه تابش را تغییر نمی‌دهد؛ بنابراین نوع واحد اسکنر وضوح مکانی را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد [۸۴]. دقت و انعطاف‌پذیری سیستم تحریک نوری مبتنی بر اسکنر، به توانایی آن برای انحراف پرتوی نور تحت یک زاویه دقیق و اسکن مسیرهای دلخواه تعریف شده روی نمونه بستگی دارد. هر دو جنبه خود به مشخصه‌های فیزیکی واحد اسکنر بستگی دارند [۸۵].

سیستم‌های نوری اسکنر لیزری عموماً از یک معماری نوری ساده شامل یک واحد اسکنر، یک تلسکوپ ذره‌بینی^۲ و یک لنز هدف^۳ تشکیل می‌شوند. انحراف زاویه‌ای پرتو در خروجی اسکنر به جابه‌جایی جانبی نقطه نوری در صفحه تصویر تبدیل می‌شود. به طور کلی دو اسکنر عمود بر هم برای حرکت دادن نقطه نور در امتداد جهت‌های x و y استفاده می‌شوند (شکل ۲) [۸۶]. ترکیب‌های اسکنر مختلف بر اساس آینه‌های گالوانومتر^۴ (GM) و یا انحراف‌دهنده‌های آکوستوآپتیکی^۵ (AOD) پیاده‌سازی می‌شوند.



شکل ۲. شماتیک مفهومی سیستم‌های هدف‌گیری نوری مبتنی بر اسکن

می‌شود، نور الگویی فعال‌سازی نواحی غیرهدف را به حداقل می‌رساند و تضمین می‌کند که نتایج مشاهده‌شده مستقیماً با نورون‌های هدف مرتبط هستند.

از این رو، در حالی که اپسین‌ها ابزارهای اساسی اپتوژنتیک هستند، استفاده از نور الگویی برای دستیابی به وضوح مکانی بالا، قابلیت انتخاب نوع نورونی خاص و ارتباط فیزیولوژیکی لازم برای تحقیقات پیشرفته علوم اعصاب ضروری است. این روش توانایی ما را برای دستکاری و درک مدارهای عصبی، با دقت بی‌نظیری ارتقا می‌دهد [۷۹]. روش‌های مهم این نوع تحریک نورون‌ها با وضوح سلولی، استفاده از سیستم‌های اسکنر برای تحریک متوالی [۸۰] و مدولاتورهای نور فضایی برای تحریک موازی [۸۱-۸۲] جمعیت‌های نورونی هستند. در روش اول، نور لیزر در یک نقطه گاوسی در مقیاس میکرون متمرکز و به سرعت روی نمونه هدایت می‌شود و تحریک متوالی مجموعه‌ای از ناحیه‌های هدف را موجب می‌گردد. در روش دوم، شدت و/یا فاز نور به صورت فضایی و برای حصول الگوهای تابشی دلخواه روی نمونه، مدوله می‌شود و تحریک همزمان (موازی) چند مکان را ممکن می‌سازد. هر روش دارای ویژگی‌های منحصر به فردی است که در ادامه به آن‌ها خواهیم پرداخت. شکل ۱ طبقه‌بندی انواع روش‌های این مطالعه را نشان می‌دهد.



شکل ۱. بلوک دیاگرام طبقه‌بندی انواع روش‌های پیاده‌سازی نور الگویی

سیستم‌های اسکن

در حالی که تابش نور میدان گسترده فاقد دقت مکانی لازم برای تحریک انتخابی نورون‌های تکی در یک مدار عصبی است، این مسئله در تحریک نوری می‌تواند با تمرکز پرتوی لیزر روی یک نقطه کوچک با محدودیت پراش^۱ بهبود یابد.

میزان گسترش مکانی این نقطه به طول موج نور تحریک λ ، دیافراگم عددی لنز میکروسکوپی NA و ضریب شکست محیط n بستگی دارد (گسترش افقی، $\Delta x \sim \lambda/2NA$ و گسترش محوری، $\Delta z \sim 2\lambda n/NA^2$) [۸۳]. فعال‌سازی نوری با استفاده از چنین نقطه ساکنی تنها به یک هدف محدود

2 Magnifying Telescope

3 Objective Lens

4 Galvanometer Mirror

5 Acousto-Optic Deflectors

1 Diffraction-Limited Spot

آینه‌های گالوانومتری، امکان اسکن بدون اینرسی پرتوی لیزر را فراهم می‌کنند. در ساختار یک AOD، یک موج آکوستیکی فرکانس رادیویی، در یک کریستال در جهت عرضی منتشر می‌شود و از این رو یک توری فاز روی خود کریستال نقش می‌بندد. سپس توری، پرتوی لیزر ورودی را در چندین جهت منحرف می‌سازد. برای یک زاویه برخورد خاص (زاویه براگ) پرتوی ورودی، بیشتر نور لیزر به مرتبه اول پراش هدایت می‌شود. زاویه پراش مرتبه اول θ می‌تواند با تغییر فرکانس موج آکوستیکی تنظیم شود $\theta = \lambda F / v_a$ ، که λ طول موج پرتوی ورودی، F فرکانس موج آکوستیکی و v_a سرعت صوت در محیط کریستال است (شکل ۴).

برای سیستم‌های اسکن دو بعدی، دو AOD عمود بر هم می‌توانند به صورت متوالی استفاده شوند. این ترکیب امکان دسترسی تصادفی مناطق مورد نظر را فراهم می‌سازد؛ زیرا موقعیت نقطه لیزر صرفاً با فرکانس‌های AODهای x و y تعیین می‌شود. از آنجایی که هیچ المان اپتیکی در طول اسکن AOD جابه‌جا نمی‌شود، این فرآیند با اینرسی محدود نمی‌گردد [۹۱-۹۲]. رزولوشن زمانی با زمان مورد نیاز برای تغییر زاویه انحراف و زمان سوئیچینگ درایور فرکانس رادیویی که فرکانس و دامنه موج آکوستیکی را کنترل می‌کند، محدود می‌شود [۹۳-۹۴]. میدان تحریک FOE برای یک اسکنر مبتنی بر AOD طبق رابطه ۲ عبارت است از:

$$FOE = \frac{\Delta \theta f_{obj}}{M} = \frac{\lambda \Delta F f_{obj}}{M v} \quad (2)$$

که در آن f_{obj} فاصله کانونی لنز و M بزرگنمایی تلسکوپ است. همچنین میدان تحریک به محدوده موجود فرکانس‌های صوتی (ΔF) که حداکثر زاویه انحراف پرتو (θ) را تعیین می‌کند، بستگی دارد [۹۵].

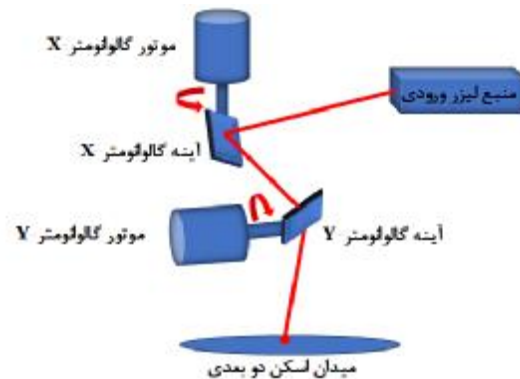
کاربردهای سیستم‌های اسکن تصادفی AOD در اپتوژنتیک شامل فعال‌سازی نوری تک فوتون کانال رودوپسین ۲ در کشت‌های سلولی و برش‌های مغز موش با هدف مطالعه اتصال سیناپسی بوده است. پتانسیل‌های عمل در یک نورون با تعریف الگویی از نقاط تابشی که جسم سلولی را پوشش می‌دهند و سپس اسکن بسیار سریع لیزر در سراسر آن نقاط ($10 - \mu s/site$) ایجاد شدند [۹۶-۹۸]. یک روش برای پیاده‌سازی اسکن سه بعدی با دسترسی تصادفی، از طریق آدرس‌دهی AOD با یک موج آکوستیکی با فرکانس متغیر خطی است [۹۹]. اخیراً سیستم‌های اسکن سه بعدی با دسترسی تصادفی مبتنی بر AOD برای انجام تصویربرداری سه بعدی سریع در موش‌های بیدار و دارای رفتار استفاده شده‌اند [۱۰۰-۱۰۱]. لیکن، هیچ گونه کاربرد اسکن سه بعدی مبتنی بر AOD در تحریک اپتوژنتیک

واحدهای اسکنر گالوانومتری استاندارد از دو آینه تشکیل می‌شوند که هر یک روی یک محرک گالوانومتری نصب شده‌اند و پرتوی لیزر را در امتداد دو جهت عمود بر هم x و y هدایت می‌کنند (شکل ۳). این تکنیک ساده است؛ زیرا سیستم‌های مبتنی بر GM به صورت تجاری در دسترس هستند و می‌توانند به آسانی با ستاپ‌های الکتروفیزیولوژی و تصویربرداری استاندارد سازگار شوند. از آنجایی که نور بسیار کمی از طریق انعکاس آینه‌ها از بین می‌رود، این رویکرد بازده نوری بالایی دارد.

زمان سوئیچینگ نور بین هدف‌ها با اینرسی مربوط به حرکت آینه‌ها محدود می‌شود. نویز موقعیتی^۱ دقت مکانی مسیر اسکن را تحت تاثیر قرار می‌دهد و باید در طراحی نظر گرفته شود. از آنجایی که این خطا در سرعت‌های اسکن بالا افزایش می‌یابد، این عامل ممکن است انعطاف‌پذیری زمانی سیستم را هنگام تابش نور بر موقعیت‌های متعدد به صورت متوالی محدود نماید [۸۷-۸۸]. میدان تحریک^۲ (FOE) برای سیستم‌های اسکن مبتنی بر آینه‌های گالوانومتری طبق رابطه (۱) است:

$$FOE = 2 \cdot f_{obj} \beta / M \quad (1)$$

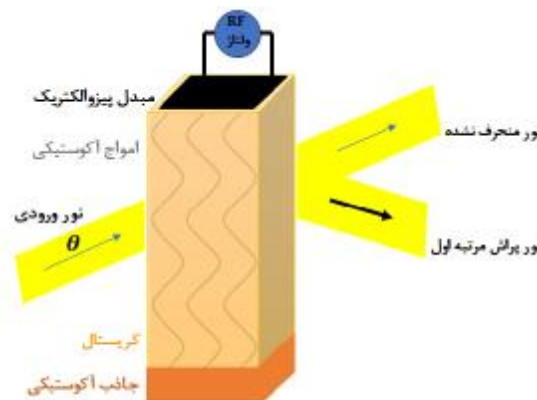
که در آن f_{obj} فاصله کانونی لنز، β ماکزیمم زاویه انحراف آینه‌های گالوانومتر و M بزرگنمایی تلسکوپ است. در شرایط معمولی، FOE ممکن است تا چند صد میکرومتر باشد. لیکن، شایان ذکر است که تعداد سلول‌های قابل دسترسی در این میدان تحریک در یک بازه زمانی به اندازه کافی کوچک که در مقیاس عصبی «همزمان» در نظر گرفته شود (معمولاً در حد چند میلی ثانیه) در نهایت با سرعت اسکن، فاصله بین سلول‌ها و مدت زمان لازم برای فعال‌سازی نوری هر هدف محدود می‌شود. طرح‌های مبتنی بر اسکن GM، برای تحقیقات اپتوژنتیک از جمله تحریک نوری تک فوتون کانال رودوپسین ۲ به منظور نقشه‌برداری اتصالات عصبی عملکردی و تحریک نوری دوفوتون کانال رودوپسین ۲ به کار گرفته شده‌اند [۸۹-۹۰].



شکل ۳. شماتیک مفهومی سیستم اسکن دو بعدی گالوانومتری انحراف‌دهنده‌های آکوستوآپتیکی به عنوان جایگزینی برای

گزارش نشده است.

همان طوری که گفته شد، لیزرهای اسکن نقاط را به طور متوالی هدف قرار می‌دهند که خود سبب تاخیر تحریک و محدود شدن وضوح زمانی می‌شود. این امر برای مطالعه دینامیک سریع مدارهای عصبی و تعاملات بین سلولی که نیازمند زمان‌بندی دقیق هستند، مناسب نیست. لیزرهای اسکن در هر لحظه تنها یک نقطه را فعال می‌کنند. بنابراین استفاده از آنها، برای کنترل چندین نورون یا شبکه عصبی به طور همزمان چالش‌برانگیز است. پرتوهای لیزر شدت بالای استفاده‌شده در سیستم‌های اسکن به ویژه برای زمان‌های تحریک طولانی، می‌توانند سبب آسیب بافتی شوند که خود بر قابلیت اطمینان نتایج آزمایش تاثیر می‌گذارد. در حالی که سیستم‌های اسکن جایگاه خاص خود را در اپتوژنتیک دارند، مدولاتورها به دلیل وضوح مکانی و زمانی بالاتر، آسیب بافتی کمتر، انعطاف‌پذیری بیشتر و پیچیدگی عملکردی کمتر، انتخابی برتر برای آزمایش‌های شامل جمعیت‌های عصبی هستند. سیستم‌های تحریک نوری مبتنی بر مدولاتورها تحریک موازی نورون‌ها را امکان‌پذیر می‌کنند [۱۰۰-۱۰۱]. دو نوع از مدولاتورهای نور فضایی^۱ که برای ایجاد الگوهای توزیع نور در مغز استفاده می‌شوند، مدولاتورهای کریستال مایع^۲ (LC-SLMs) و مدولاتورهای مبتنی بر فناوری سیستم‌های میکروالکترومکانیکی^۳ (MEMS-SLMs) هستند.



شکل ۴. شماتیک مفهومی ساختار AOD و نحوه انحراف پرتوی نور ورودی در آن

مدولاتورهای کریستال مایع

مدولاسیون در اپتیک، به معنای کنترل و تغییر ویژگی‌های امواج نوری مانند دامنه، فاز و پلاریزاسیون آنها است. این امر معمولاً از طریق اعمال سیگنال‌های خارجی و تغییر خواص مواد برای دستکاری رفتار نور هنگام عبور یا انعکاس از یک محیط، محقق می‌شود. مدولاسیون فاز، تکنیکی است که در آن فاز موج نور

ورودی به طور مستقیم با سیگنال مدولاسیون تغییر می‌کند. به‌طور ساده‌تر، این روش موقعیت قله‌ها و فرودهای موج نور را تغییر می‌دهد. مدولاسیون دامنه نیز که شامل تغییر دامنه موج نور به صورت متناسب با سیگنال مدولاسیون است، روشی با شدت نور را تغییر می‌دهد. مدولاسیون برای کاربردهایی که نیازمند کنترل دقیق نور برای دستیابی به نتایج مطلوب هستند، بسیار حیاتی است. به عنوان مثال، تکنیک‌های شکل‌دهی نور از طریق مدولاسیون فاز پرتوی ورودی، برای مطالعات علوم اعصاب و با هدف ایجاد الگوهای پیچیده مکانی-زمانی تحریک نوری مدارهای عصبی استفاده شده‌اند. معروف‌ترین تکنیک، مربوط به مدولاتورهای نور فضایی کریستال مایع روی سیلیکن^۴ (LCOS-SLMs) است. فناوری فعلی بر انواع خاصی از مواد متمرکز شده است که در آنها تغییر جهت‌گیری مولکولی منجر به تغییر خواص اپتیکی ماده می‌شود. کریستال‌های مایع نماتی که معمولاً اجزای اصلی دیوایس‌های LCOS-SLM هستند، دارای چین و بزرگی هستند [۱۰۲]. آنها نوع خاصی از کریستال‌های مایع هستند که مولکول‌های میله‌ای شکل دارند. این مولکول‌ها به طور طبیعی و در غیاب هرگونه محرک خارجی، تمایل دارند که در امتداد یک جهت خاص که محور اپتیکی کریستال نامیده می‌شود، به طور منظم به صف شوند. ویژگی‌های ماده در امتداد این جهت به طور قابل توجهی در مقایسه با جهت‌های دیگر مولکولی، متفاوت است. به طوری که، نور تابانیده شده در امتداد محور اپتیکی، به دلیل یکنواختی ضریب شکست، سرعت ثابتی خواهد داشت. اما نوری که در زاویه‌ای غیر از امتداد محور اپتیکی تابانیده می‌شود، به دلیل پلاریزاسیون‌های مختلف با سرعت‌های متفاوت حرکت می‌کند. بنابراین، تغییر دادن نحوه جهت‌گیری مولکول‌های کریستال مایع در برابر پرتوی نور ورودی، بر چگونگی انکسار نور و در نتیجه خواص اپتیکی ماده تأثیر می‌گذارد. به همین دلیل، محور اپتیکی نقش مهمی در مدولاسیون نور و کاربردهای اپتیکی کریستال‌های مایع دارد. محور اپتیکی به عنوان دایرکتور کریستال^۵ نیز شناخته می‌شود.

نتیجه می‌شود که کریستال‌های مایع نماتی ویژگی انکسار دوگانه^۶ و به عبارتی دو ضریب شکست متفاوت در امتداد دو محور برای پلاریزاسیون‌های مختلف نور دارند: ضریب شکست معمولی n_o برای نور پلاریزه شده در جهت عمود بر محور اپتیکی و ضریب شکست غیرمعمولی n_e برای نور پلاریزه شده در جهت

4 Liquid Crystals on Silicon SLMs

5 Crystal Director

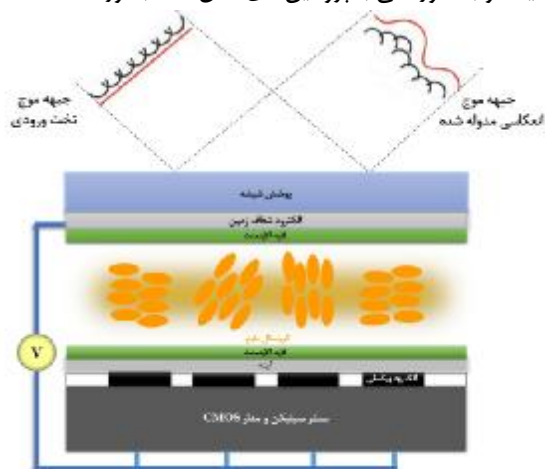
6 Birefringence

1 Spatial Light Modulators

2 Liquid Crystal SLMs

3 Microelectromechanical Systems Based SLMs

قرار گرفته است. الکتروود زمین یک لایه شفاف ایندیم تین اکساید ITO است که از سمت دیگر توسط لایه محافظ شیشه ضد انعکاسی پوشیده شده است. لایه‌های الاینمنت از جنس دی‌اکسید سیلیکن و برای فراهم کردن جهت‌گیری مناسب دایرکتور مولکول‌های کریستال مایع هستند. لایه‌ای از جنس آینه دی‌الکتریک مسطح روی سطح الکتروودهای پیکسلی و با هدف بهبود بازده نور استفاده می‌شود. الکتروودها به صورت پدهای آلومینیومی ساخته و از طریق مدار CMOS زیرین آن‌ها روی بستر سیلیکن، آدرس‌دهی می‌شوند. در این ساختار هر پیکسل به صورت یک خازن عمل می‌کند. مولکول‌های کریستال مایع نظیر هر پیکسل با اعمال ولتاژ به آن، به صورت جداگانه و مستقل از مولکول‌های پیکسل‌های مجاور منحرف می‌شوند. هر چقدر میزان اختلاف ولتاژ اعمال شده بزرگ‌تر باشد، سرعت چرخش مولکول‌ها بیشتر و زاویه انحراف آن‌ها بزرگ‌تر خواهد بود (شکل ۶) [۱۰۶-۱۰۹]. نور الگویی به دست آمده از این تکنیک برای تحریک کارآمد دوفوتون کانال رودوپسین ۲ استفاده شده است که اهمیت این روش را برای فعال‌سازی جمعیت‌های نورونی از طریق الگوهای پیچیده مکانی-زمانی نشان می‌دهد [۱۰۵]. قابلیت شکل‌دهی پرتوی نور، رویکردی امیدوارکننده برای ایجاد الگوهای پیچیده تحریک در ترکیب با اپتوزنتیک و به طور کلی با پروتئین‌های فعال شده با نور است.



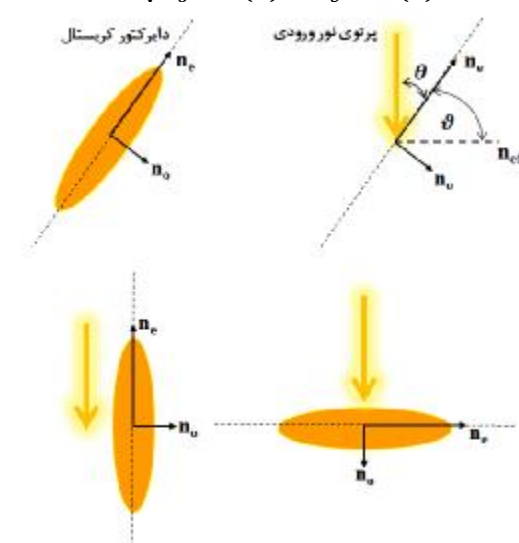
شکل ۶. شماتیک مفهومی ساختار LCOS و تاثیر آن بر شکل‌دهی جبهه موج تخت در ورودی: LCOS با تغییر دادن فاز اجزای کروی نور (نیم دایره‌های مشکی)، جبهه پرتوی نور (منحنی قرمز رنگ) بازتابیده از سطح خود را تغییر می‌دهد.

مدولاتورهای میکروالکترومکانیکی

الگوهای تابش با شکل‌دهی مستقیم شدت نور فضایی، از طریق تکنیک‌های مدولاسیون شدت نیز به دست می‌آیند. شکل‌دهی نور در ساده‌ترین حالت، با روشن و خاموش کردن مستقل هر امیتر در آرایه‌ای از میکرودیودهای گسیل‌کننده نور حاصل و نور الگویی از طریق لنز میکروسکوپی روی نمونه تصویر می‌شود.

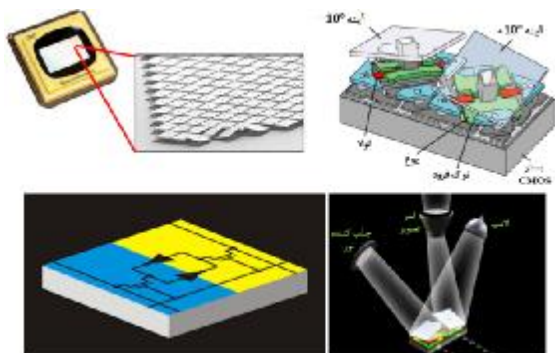
موازی با محور اپتیکی. بدین معنا که وقتی جهت‌گیری مولکول‌ها عوض می‌شود، زاویه بین پرتوی نور ورودی با دایرکتور مولکول‌ها بعد از چرخش، تغییر می‌کند و ضریب شکست موثر ماده نماتیک طبق فرمول ۳ تغییر می‌یابد (شکل ۵). بدین ترتیب فاز نور عبوری از ماده تحت تاثیر قرار می‌گیرد. این تغییر فاز می‌تواند به وسیله شدت و جهت یک میدان الکتریکی خارجی کنترل شود. زیرا مولکول‌های میله‌ای شکل در حضور میدان خود را در جهت میدان خارجی به صف می‌کنند، لیکن در غیاب میدان به جهت محور اپتیکی اولیه خود برمی‌گردند [۱۰۳]. مایع کریستالی نماتیک به سرعت به تغییرات میدان الکتریکی اعمال شده عکس‌العمل نشان می‌دهد. به طوری که، جهت‌گیری مولکول‌های آن به طور دینامیکی قابل تنظیم است و مدولاسیون بلادرنگ نور ممکن می‌گردد [۱۰۴-۱۰۶]. افزایش دما نیز می‌تواند جهت‌گیری مولکول‌ها را عوض کرده و ماده را وارد فاز متقارن که در آن دیگر محور اپتیکی وجود ندارد، نماید [۱۰۷]. بدین ترتیب انعطاف‌پذیری جهت‌گیری مولکول‌ها، این مواد کریستالی را برای کاربردهای مدولاسیون نور مناسب می‌سازد.

$$n_{eff}(\theta) = \frac{n_o n_e}{\sqrt{n_o^2 \sin^2(\theta) + n_e^2 \cos^2(\theta)}} \quad (3)$$



شکل ۵. نمایش شماتیکی یک مولکول میله‌ای شکل نماتیک (بالا سمت چپ) دایرکتور مولکول و ضریب شکست‌های دوگانه آن، (بالا سمت راست) پرتوی نور تابیده به مولکول، زوایای آن با محور اپتیکی مولکول و ضریب شکست موثر n_{eff} مولکول، (پایین سمت چپ) پرتوی نور در امتداد دایرکتور مولکول است. در این حالت نور ورودی، n_e را می‌بیند، (پایین سمت راست) پرتوی نور در امتداد عمود بر دایرکتور مولکول است. در این حالت نور ورودی، n_o را می‌بیند.

در ساختار LCOS-SLM، مایع کریستال نماتیک از طریق دو لایه الاینمنت، به صورت ساندویچی بین یک لایه الکتروود پیکسلی روی یک بستر سیلیکن و یک الکتروود زمین



شکل ۷. (بالا سمت چپ) تراشه DMD و بزرگ‌نمایی ساختار آرایه‌ای آن، (بالا سمت راست) نمایش شماتیکی دو میکروآینه از آرایه و اجزای مکانیکی تشکیل دهنده آن‌ها، (پایین سمت چپ) سلول حافظه CMOS زیرین میکروآینه‌ها، (پایین سمت راست) عملکرد آینه‌ها در معرض تابش نور [۱۱۰].

سرعت سوئیچینگ حالت‌های DMD در مقایسه با LCoS بیشتر است. از این رو مدولاسیون سریع‌تر الگوهای نوری که برای آزمایش‌های اپتوژنتیک بلادرنج نیازی ضروری است و به تبع آن تقلید دینامیک پویای مدارهای عصبی، توسط DMDها محقق می‌شود [۱۱۲-۱۱۴]. DMDها وضوح مکانی بالاتری دارند که هدف‌گیری دقیق‌تر نورون‌های خاص را در بافت‌های بیولوژیکی تسهیل می‌کند. آن‌ها برخلاف LCoS به پلاریزاسیون نور حساس نیستند و راحت‌تر با سیستم‌های اپتیکی موجود ادغام می‌شوند، از این رو می‌توانند در ستاپ‌های آزمایشگاهی ساده‌تر و متنوع‌تری استفاده شوند [۱۱۵-۱۱۶]. لیکن کنترل باینری نور (روشن/خاموش) در DMDها، بازده مدولاسیون یکنواخت شدت نور را تحت تاثیر قرار می‌دهد. حداکثر تعداد نقاط تحت تابش همزمان با تعداد میکروآینه‌های آرایه محدود می‌شود [۱۱۰]. اتلاف توان نور به واسطه انعکاس ناخواسته از سطح میکروآینه‌های حالت خاموش وجود دارد که خود می‌تواند به دلیل تحریک نورون‌های غیرهدف بر کیفیت پاسخ بافت به تحریک نور تاثیر بگذارد. هر میکروآینه در حالت روشن سهمی از توان منبع نور را مصرف می‌کند. از طرف دیگر هندسه ساختار DMD خود می‌تواند منجر به اثرات پراش نور گردد. تمامی این موارد بر کیفیت مدولاسیون نور و بازده آن تاثیر می‌گذارند [۱۱۷-۱۱۹]. لیکن صرفه‌نظر از این معایب، از آنجایی که محرک‌های اپتوژنتیک آستانه‌های فعال‌سازی بسیار پایینی دارند و منابع نوری می‌توانند کاملاً قوی انتخاب شوند، تحریک تک فوتون مولکول‌های اپتوژنتیک با موفقیت انجام شده است. اما، بازده پایین تکنیک‌های مدولاسیون شدت، مانع استفاده از آن‌ها برای تحریک دو فوتون است [۱۲۰-۱۲۳].

روش جایگزین، مدولاتور میکروالکترومکانیکی کمپانی تگزاس اینسترومنت است که به طور یکنواخت توسط منبع نور تحت تابش قرار می‌گیرد و هزاران نقطه را در سراسر یک ساختار آرایه‌ای به طور همزمان روشن می‌کند. هر میکروآینه به طور مستقل از پیکسل‌های مجاورش، قابل آدرس‌دهی و کنترل است. بنابراین کنترل همزمان جمعیت‌های توزیع شده نوری امکان‌پذیر می‌شود. این مدولاتور که مبتنی بر تکنولوژی سیستم‌های میکروالکترومکانیکی و به صورت آرایه‌ای عظیم از میکروآینه‌های دوحالتی است، قطعه میکروآینه دیجیتال^۱ DMD نام دارد [۱۱۰].

شکل ۷ آرایه DMD و دو میکروآینه آن را نشان می‌دهد که در آن یکی از میکروآینه‌ها در حالت روشن (+10 درجه) و دیگری در حالت خاموش (-10 درجه) است. از نظر مکانیکی، هر میکروآینه با استفاده از یک رابط به یک لولای پیچشی مخفی^۲ متصل شده و روی یک تراشه CMOS به صورت معلق قرار گرفته است. در زیر هر میکروآینه یک سلول حافظه قرار دارد که از المان‌های حافظه دوگانه CMOS طبق شکل تشکیل شده است. دو المان حافظه همواره در وضعیت مکمل یکدیگر هستند. اگر یکی از المان‌ها یک باشد، دیگری صفر است و بالعکس. وضعیت سلول حافظه پیکسل در تعیین موقعیت مکانیکی میکروآینه نقش دارد. لیکن بارگذاری سلول حافظه نمی‌تواند وضعیت مکانیکی میکروآینه را به طور خودکار تغییر دهد. بنابراین حالت حافظه و حالت میکروآینه مستقیماً با هم مرتبط نیستند. برای اینکه وضعیت حافظه CMOS به موقعیت مکانیکی میکروآینه منتقل شود، پیکسل باید یک پالس کلاک (ریست) دریافت نماید. این پالس به طور لحظه‌ای میکروآینه را آزاد می‌نماید و سپس آن را بر اساس وضعیت حافظه CMOS زیرین، فرود می‌آورد. بنابراین، مهم است که سلول حافظه در طول عملکرد یک پالس کلاک بازنویسی نشود. حالت‌های $\pm 10^\circ$ تنها حالت‌های پایدار انحراف قطری میکروآینه‌ها هستند که در واقع جهت‌های انحراف نور را تعیین می‌کنند. نور در حالت روشن میکروآینه به سمت لنز تصویر هدایت و در حالت خاموش از آن دور می‌شود. انحراف میکروآینه با تحریک الکترواستاتیکی و توسط عناصر حافظه دوگانه CMOS و پالس کلاک آینه کنترل می‌شود [۱۱۰-۱۱۱].

1 Digital Micromirror Device: DMD

2 Hinge

ابزارهای تحویل نور به بافت عصبی

هر کدام از تکنیک‌های مدولاسیون نور توضیح داده شده، می‌توانند به تنهایی و بدون استفاده از ابزارهای تحویل نور کاشته‌شده در بافت نظیر فیبرهای نوری، برای هدایت دقیق نور الگویی به سطح بافت عصبی به کمک لنزهای میکروسکوپی به کار روند. لیکن استفاده از آن‌ها برای تحریک بافت عمیق مغز، به تنهایی کارآیی لازم را ندارد. از طرف دیگر، طراحی ابزارهایی مانند فیبرهای نوری و موجبرها برای تحویل نور به نورون‌های عمق مغز و ثبت فعالیت آن‌ها در حال توسعه است. به‌طوری که محققان از این ایمپلنت‌ها در ترکیب با تکنیک‌های مدولاسیون نور برای تحویل تابش نور الگویی به بافت مغز نیز استفاده کرده‌اند. در این بخش به مطالعه این ابزارها می‌پردازیم.

ایمپلنت‌های فیبرنوری

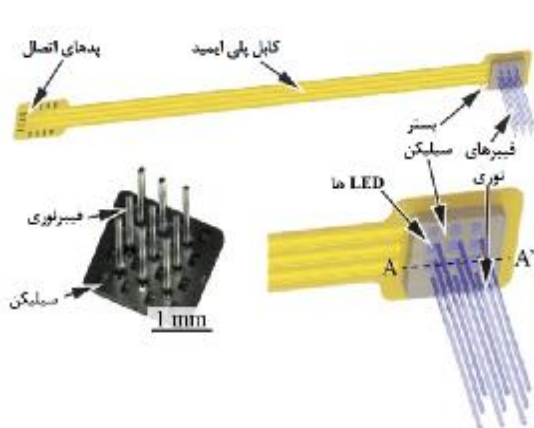
تحریک اپتوژنتیک، قبل از توسعه ادوات ویژه برای انتقال نور در داخل مجموعه حیوانات، برای استخراج فعالیت عصبی به طور موفقیت‌آمیزی استفاده شده بود. در این آزمایش‌ها نور با طول موج و توان مناسب از یک لامپ آرک و از طریق لنز تصویربرداری ارسال گردید. ولی این روش برای تحریک عمق مغز و همچنین کنترل رفتار در یک حیوان متحرک مناسب نبود [۱۲۴]. استفاده از فیبرنوری در عمق مغز اولین بار در سال ۲۰۰۷، برای ارسال نور ۴۷۳nm و با هدف دستکاری نورون‌های حاوی ChR2 در کورتکس حرکتی جوندگان آزاد از طریق کاشت یک کانولا محقق شد. ابتدا، یک حامل ویروس برای ارسال اپسین از طریق کانولای کاشته شده، تزریق شد. سپس فیبر نوری کوپل شده به یک لیزردیودی، مستقیماً در داخل کانولا قرار داده شد (شکل ۸). همچنین این گزارش، کنترل اپتوژنتیکی گذارهای حالت‌های خواب و بیداری را در موش‌های با حرکت آزادانه بررسی کرد. این ایمپلنت عصبی اپتیکی قبلاً در همان سال در یک کاربرد اپتوژنتیک برای جوندگان سالم بیهوش استفاده شده بود. مزیت کلیدی این سیستم توانایی تحریک بافت سطح مغز و نیز ساختارهای داخل قشری است، زیرا کانولا می‌تواند به صورت استریوتاکسی قرار بگیرد و هر منطقه مورد نظر را در مغز هدف قرار دهد. به علاوه دستکاری همزمان اپتوژنتیکی و دارویی می‌تواند از طریق همان کانولا انجام شود که به سهم خود ویژگی مفیدی است. این گزارش امکان قرارگیری طولانی مدت و بی‌خطر فیبر را نیز مطالعه کرد. همچنین امکان چرخش آزادانه حیوان که برای بسیاری از آزمایش‌های رفتاری در جوندگان دارای حرکت آزادانه حیاتی است، با استفاده از یک کموتاتور بررسی شد [۱۲۵]. این طرح با هدف کاهش آسیب ناشی از وارد کردن

مکرر فیبرها در بافت ارتقا داده شد. برای این کار ابتدا یک ته فیبر نوری کوتاه متصل به یک فرول فلزی از طریق یک غلاف سرامیکی، در بافت کاشته شد تا فیبر اصلی از طریق کوپل به آن برای تحریک اپتوژنتیک استفاده شود (شکل ۸ب). از این رو حیوان می‌توانست در طول تست رفتاری آزادانه حرکت کند. لیکن توانایی انجام همزمان مداخله دارویی از بین رفت. به علاوه تزریق ویروسی باید جداگانه انجام می‌گرفت که خود منجر به عدم تطابق هدف‌گیری فیبر و موقعیت بیان اپسین در مغز شد. در عمل این تکنیک برای آزمایش‌های رفتاری با بازدهی بالا استفاده می‌شود. لیکن، روش کانولا زمانی استفاده می‌شود که آزمایش‌های دارویی و اپتوژنتیکی با هم انجام بشوند. فیبرهای قابل کاشت همراه فرول‌ها به صورت تجاری در دسترس هستند. به علاوه ساخت این قطعات می‌تواند به آسانی و با هزینه بسیار کم در آزمایشگاه نیز انجام شود [۱۲۶].

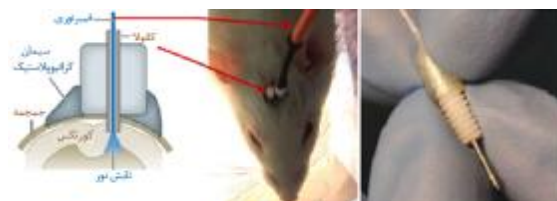
طرح بعدی تحریک نوری مبتنی بر فیبر، شامل پروب‌های سیلیکونی دو بعدی مجهز به فیبرهای نوری بود. این فیبرها ابتدا به طرز شیمیایی حکاکی و سپس روی میله‌های سیلیکن چسبانده و به منبع نور لیزر کوپل شدند (شکل ۸پ). الگوی انتشار نور خروجی مخروطی شکل، امکان کنترل حجم جمعیت نورونی مورد نظر را بر اساس موقعیت هندسی انتهای فیبرهای نوری فراهم کرد. پروب‌های با فیبرهای دوگانه که در آن‌ها دو فیبر به طرفین میله پروب متصل شده بودند، عملکرد نوری سیستم‌های ارائه شده را بهبود بیشتری بخشیدند. از آنجایی که مکان‌های ثبت فعالیت عصبی نزدیک به فیبرهای نوری روی میله ساخته شده بودند، حتی مقادیر کوچک توان نوری که ناشی از کوپلینگ ضعیف نور بود، برای تحریک موثر نورون‌ها کافی و اثر گرمای متعاقب تابش به طور قابل توجهی کوچک بود. فیبرها نور را تنها به محدوده اطراف نوک خود می‌رسانند. اگرچه ممکن است این امر محدودیت مهمی برای آزمایش‌هایی به نظر برسد که در آن‌ها چندین ناحیه نورونی در کورتکس به طور همزمان تحریک می‌شوند، لیکن می‌توان با استفاده از ساختارهای آرایه‌ای فیبرهای نوری این نیاز را برطرف کرد. به‌طوری که پروب‌های دو بعدی توسعه یافته شامل فیبرهای نوری با موقعیت‌های انتهایی مختلف، انتخاب‌های مناسبی برای آزمایش‌ها در حیوانات دارای حرکت آزادانه بودند (شکل ۸ت). لیکن استفاده مکرر از آن‌ها به دلیل حجیم بودن ساختارشان با محدودیت مواجه شد [۱۲۷]. ابعاد قابل مقایسه فیبرهای نوری با نورون‌ها آن‌ها را به عنوان ابزاری مفید برای دستیابی به وضوح مکانی بالا در تحریک‌های مغز ارزشمند ساخته است. به‌طوری که فیبرهای نوری باریک شده^۱ که از فیبرهای نوری

مالتی‌مد و از طریق فرآیند حکاکی مرطوب^۱ ساخته می‌شوند، با دارا بودن نوک‌های تیز و دهانه‌های کوچک‌تر از یک میکرون، امکان کنترل موضعی‌تر موقعیت تحریک را در بافت هدف فراهم می‌سازند. با کنترل نرخ حکاکی، می‌توان به اندازه‌های مختلف نوک فیبر دست یافت. این فیبرهای مخروطی با موفقیت در آرایه چند الکترودی یوتا ادغام شدند و ضبط سیگنال الکتریکی را از نورون‌های تحریک شده امکان‌پذیر ساختند (شکل ۸ث) [۱۲۸]. رویکردهای نوآورانه دیگر شامل استفاده از فیبرهای نوری مخروطی تکی با پنجره‌های متعدد ساخته شده در امتداد طول آن‌ها بود. این ساختار، تحریک همزمان مناطق مختلف مغز را محقق نمود. الگوی چند پنجره‌ای با استفاده از تکنولوژی پرتوی یون متمرکز روی فیبر نوری مخروطی پیاده‌سازی شد و ایجاد مناطق تحریک متفاوت را بر اساس زاویه‌های مختلف تابش فراهم کرد (شکل ۸ج). این تک فیبر مخروطی، در مقایسه با فیبر نوری معمولی، ماهیت تهاجمی ایمپلنت را به حداقل رساند. لیکن، استفاده از آن نیازمند سیستم اپتیکی پیچیده برای تنظیم زاویه نور تابشی در ورودی فیبر و همچنین کنترل توان ورودی بود [۱۲۹]. آرایه سه بعدی قابل کاشت فیبرهای نوری ساخته شده روی یک کابل پلیمری انعطاف‌پذیر با استفاده از تکنولوژی سیستم‌های میکروالکترومکانیکی، نمونه‌ای دیگر از توسعه طرح‌های چند بعدی مبتنی بر فیبر نوری بود (شکل ۸چ). فیبرها در این ساختار به نه μLED توان بالا کوپل شدند. بدین ترتیب امکان کنترل مستقل مناطق متعدد تحریک و تحریک الگویی نورون‌ها فراهم شد. همچنین کارایی این طرح روی حیوانات دارای حرکت آزاد با موفقیت تست شد. علی‌رغم تمام مزایا، حجم قابل توجه آرایه و ماهیت سخت فیبرهای نوری، موانع اساسی برای تجاری‌سازی این طرح بودند [۱۳۰]. طرح بعدی، پروب سیلیکونی سه بعدی با آرایه مجتمع‌شده‌ای از فیبرهای نوری بود. هر فیبر در آرایه روی بستر سیلیکونی و در داخل محفظه‌ای از جنس پرلین سی که با استفاده از تکنیک‌های میکروماشین کاری ساخته شده بود، قرار داده شد. سپس قسمتی از پروب که برای ایمپلنت استفاده می‌شد، با استفاده از حکاکی سیلیکون خود را از دست داد. بدین ترتیب پروب به دست آمده، شامل فیبرهای نوری محبوس در داخل محفظه پلیمری در داخل جزیره‌ای سیلیکونی بود و به دلیل ماهیت انعطاف‌پذیر آن آسیب‌های ناشی از کاشت کمتری را به همراه داشت (شکل ۸ح) [۱۳۱]. مطالعه بعدی در زمینه فیبرهای نوری، توسعه و کاربرد پروب‌های عصبی پیشرفته‌ای را بررسی کرد که برای تعامل با مغز طراحی شده بودند. در این پروب‌ها،

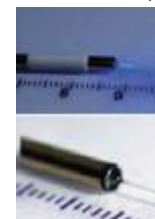
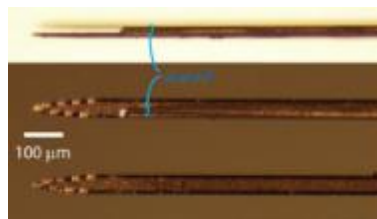
فیبرها در ساختاری مارپیچی قرار داده شدند که به آن‌ها این امکان را می‌داد که پس از وارد شدن از طریق روزنه‌ای کوچک در بافت، به آرامی گسترش یابند. این طراحی خلاقانه پروب‌ها را قادر ساخت تا حجم بیشتری از بافت سه بعدی مغز را پوشش دهند، به طوری که به مناطق متعدد و مختلف دسترسی داشتند. پروب‌ها به صورت چند منظوره طراحی شده بودند که حاصل مجتمع‌سازی فیبرهای نوری برای تحریک اپتوژنتیک، الکترودها برای ثبت الکتریکی فعالیت عصبی و کانال‌های توخالی برای تحویل مواد شیمیایی و دارو به نورون‌های هدف بود. این ترکیب امکان ثبت، تحریک و مدولاسیون همزمان فعالیت عصبی را فراهم کرد که برای مطالعه عملکرد پیچیده مغز و اختلالات عصبی بسیار مهم است. ساختار مارپیچی این پروب آسیب بافتی ناشی از کاشت را در مقایسه با فیبرهای نوری معمولی به حداقل رساند و در عین حال پایداری طولانی مدت ایمپلنت را سبب شد. از این رو انتخاب مناسبی برای کاشت‌های مزمن در مطالعات عصبی بود. شکل ۸خ شماتیک مفهومی عملکرد پروب را نشان می‌دهد. ابتدا ساختار مارپیچی در عمق مورد نظر در داخل بافت قرار گرفت و روی مجموعه ثابت شد. سپس آرایه فیبرهای نوری از طریق آن در داخل بافت گسترش پیدا کردند تا به نقاط هدف برسند. بدین ترتیب هدایت فیبرها و همچنین تغییر جهت آن‌ها در داخل بافت برای رسیدن به نقاط تحریک موردنظر، در عین حفظ تاثیر کمتر تهاجمی ایمپلنت محقق شد [۱۳۲]. همچنین محققان برای کاهش ماهیت تهاجمی ایمپلنت، از فیبرهای نوری باریک‌تر در آرایش آرایه‌ای استفاده کرده‌اند. شکل ۸د نمونه‌ای از این طرح را نشان می‌دهد. این آرایه‌ها قابلیت طراحی و ساخت سفارشی را به منظور پوشش دادن هر منطقه دلخواه از مغز داشتند. فیبرها در این ساختار از طریق سوراخ‌هایی در یک شبکه پلاستیکی زیست سازگار چیده شدند و انتهای آن‌ها داخل یک لوله پلی ایمید چسبانده، سپس برش و صیقل داده شد تا سطح هموار بسته‌ای را تشکیل دهند. لیکن از آنجایی که فیبرها در فاصله کمی از یکدیگر قرار داده شده بودند، موقعیت هر فیبر روی شبکه، قبل از کاشت با موقعیت آن روی یک صفحه تصویر تطبیق داده شد تا معلوم شود هر فیبر دقیقاً چه قسمتی از بافت را هدف‌گیری خواهد کرد. بدین منظور نور از طریق ردیف‌های بدون پوشش انتهای آرایه بر فیبرها تابانیده شد تا معلوم شود هر سطر از فیبرها چه قسمتی از صفحه تصویر را روشن می‌کند. سپس این کار برای ستون‌ها نیز تکرار شد. بدین ترتیب امکان انتخاب دقیق نورون‌های موردنظر از طریق آرایه فراهم گردید [۱۳۳].



(ج)

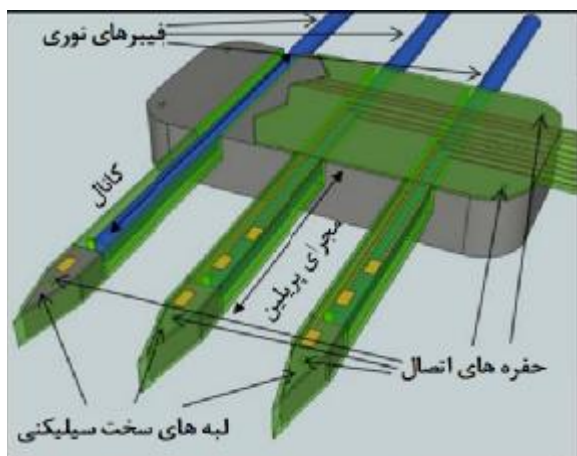


(ا)

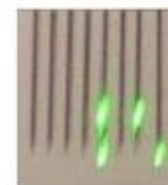


(پ)

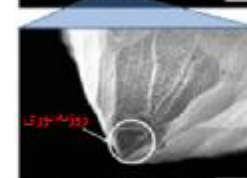
(ب)



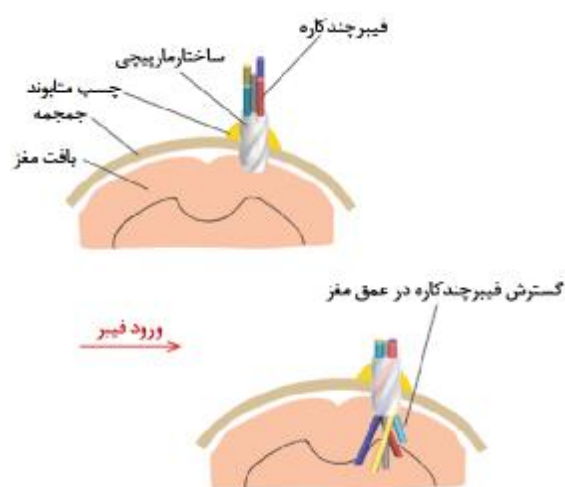
(ح)



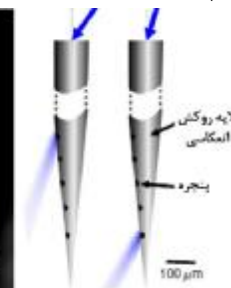
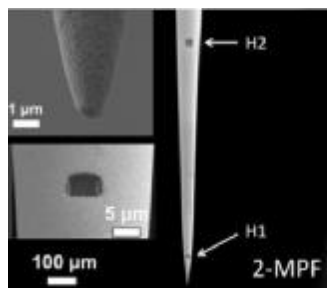
(ت)



(ث)

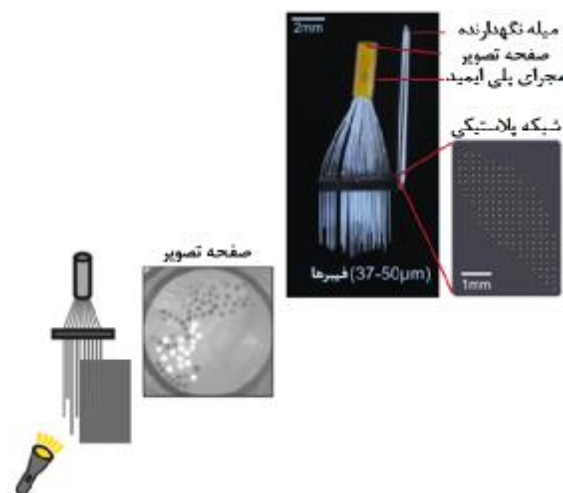


(خ)



(ج)

اولین موجبر از هسته پلیمری SU8 و یک لایه روکش اکسید استفاده کرد تا نور موثر را از منبع به منطقه هدف انتقال دهد. طراحی یک شیار U شکل در انتهای موجبر، تراز با فیبر نوری خارجی را تسهیل کرد. با این حال، تلفات کوپلینگ بزرگ و ساختار حجیم پروب کاربردهای آن را برای تحریک عصبی جمعیت‌های نورونی با تراکم بالا محدود نمود (شکل ۹) [۱۳۴]. رویکرد جایگزین استفاده از یک موجبر SU8 مبتنی بر سیلیکن بود که با تراشه‌های لیزر دیود ساده و با استفاده از تکنیک‌های میکروماشین کاری وایر بوندرینگ^۱ و فلیپ چیپ^۲ مونتاژ شد و به نوبه خود دقت کوپلینگ نور را افزایش داد (شکل ۹ب). تابش ناخواسته بر بافت عصبی به واسطه پرتوهای انحرافی نور، با استفاده از یک محفظه سیلیکونی میکروماشین کاری شده، حذف گردید [۱۳۵]. نمونه دیگر انتقال دهنده نور، آرایه موجبرهای اکسید نیتريد سیلیکن با طول‌های مختلف بود که با لایه‌ای از دی‌اکسید سیلیکن و آلومینیوم پوشیده شده بودند. به ازای هر موجبر در این آرایه دو بعدی، یک منبع نور مستقل در ورودی اش طراحی شد. نور کوپل شده به داخل موجبر به طرف پایین و به سمت یک آینه آلومینیومی زاویه‌دار هدایت می‌شد. آینه با انحراف نور، آن را از محور پروب دور و به سمت هدف تحریک هدایت می‌کرد. بر اساس اطلاعات داده شده، هر موجبر می‌توانست حدود ۳۰٪ نور تزریق شده در ورودی اش را در پایانه خروجی تحویل دهد. تابش نور الگویی به واسطه کنترل منابع نوری مستقل در ورودی‌های موجبرها، امکان دستکاری نوری‌های توزیع شده در دو بعد را فراهم نمود (شکل ۹پ) [۱۳۶]. این طرح به صورت آرایه موجبر سه بعدی و برای کنترل توزیع نور در قشر سه بعدی مغز توسعه داده شد. شانه موجبر از پروب‌های خطی مجزا با موجبرهای نوری متعدد در امتداد آن‌ها تشکیل شد. این موجبرها در ارتفاع‌های متفاوتی خاتمه می‌یافتند و نور ورودی را با استفاده از یک سطح انعکاس دهنده به خروجی هدایت می‌کردند (شکل ۹ت). ابزارهای اپتیکی مانند میکروآینه دیجیتال و اسکنر گالوانومتری برای پیاده‌سازی نور الگویی همراه این ساختار آرایه‌ای در تست‌های حیوانی استفاده شدند [۱۳۷]. همچنین آرایه‌های اپتروود شیب دار یوتا^۳ (USOA)، مبتنی بر سبک معماری آرایه الکتروودی شیب‌دار آن، ارائه شد. آرایه‌ها از سیلیکن و شیشه ساخته شدند [۱۳۸]. اپترودهای شیشه موجبرهای مناسب هم برای طول موج‌های مرئی و هم برای طول موج‌های مادون قرمز نزدیک بودند. این آرایه‌ها سبب تحریک موضعی تر



(د)

شکل ۸. توسعه ایمپلنت‌های مبتنی بر فیبر نوری برای تحریک نوری مغز (آ)
(چپ) شماتیک فیبر نوری کاشته شده در بافت مغز برای تحویل نور و تحریک قسمت‌های عمیق آن. در این مورد فیبر نوری کوپل شده به منبع نوری با استفاده از کانولای کاشته شده در قسمت مورد نظر در مغز، با هدف تست رفتاری، وارد آن می‌شود (وسط) یک رت با دو ایمپلنت در کورتکس حرکتی بر روی هر دو نیمکره، (راست) شکل مورد استفاده این رابط اولیه نوری [۱۲۵]. (ب) ارسال نور از طریق کاشت یک ته فیبر. (بالا) یک ته فیبر نوری در منطقه مورد نظر مغز کاشته و در طول تست رفتاری با استفاده از یک غلاف سرامیکی به یک رابط فیبر نوری کوپل می‌شود. هر دو روش کانولا و ته فیبر می‌توانند برای تابش یک طرفه و دو طرفه کورتکس استفاده شوند. (پایین) بزرگ‌نمایی قسمت ته فیبر کاشته شده [۱۲۶]. (پ) (بالا) نمایش فیبر نوری چسبیده به پروب سیلیکونی، (پایین) نمایش همان پروب بدون اتصال فیبر نوری [۱۲۷]. (ت) (بالا سمت چپ) نمایش شماتیک پروب سیلیکونی ۸ میلیه‌ای مجهز به ۴ فیبر نوری، (پایین سمت چپ) نمونه پروب ساخته شده، (بالا سمت راست) نمایش شماتیک پروب سیلیکونی ۸ میلیه‌ای مجهز به دو فیبر نوری در طرفین ۴ میلیه آن، (پایین سمت راست) نمونه پروب ساخته شده [۱۲۷]. (ث) (چپ) شماتیک کلی اپتروود شامل اجزای تحریک و ثبت آن، (راست بالا و وسط) تصاویر SEM از نوک اپتروود، (راست پایین) تصویر اپتروود مجتمع شده (دایره قرمز) در آرایه چند الکتروودی یوتا [۱۲۸]. (ج) (راست) نمایش شماتیک، (وسط) تصویر SEM فیبر نوری با چند پنجره گسیل نور ساخته شده در امتداد آن، (چپ) بزرگ‌نمایی روزنه دایروی نوک فیبر و یک پنجره ساخته شده [۱۲۹]. (چ) (بالا) نمایش شماتیک آرایه ۳×۳ از فیبرهای نوری و تراشه‌های LED، (پایین سمت راست) بزرگ‌نمایی ۹ فیبر نوری و LEDهای آن با قابلیت کنترل مستقل، (پایین سمت چپ) فیبرهای نوری چسبانده شده به بستر سیلیکونی [۱۳۰]. (ح) نمایش شماتیک پروب طراحی شده همراه با آرایه فیبرهای نوری قرار داده شده در داخل کانال‌های پلیمری [۱۳۱]. (خ) ساختار ماریچی وارد مغز شده و بر روی جعبه ثابت می‌شود. فیبرهای نوری از طریق آن در داخل بافت مورد نظر گسترش می‌یابند [۱۳۲]. (د) (بالا) نمونه آرایه سه بعدی ساخته شده از فیبرهای نوری و شبکه پلاستیکی آن، (پایین) تصاویر فیبرهای روشن در محل صفحه تصویر برای تطبیق موقعیت سطری و ستونی آن‌ها در سطح شبکه [۱۳۳].

ساختارهای موجبر

پیاده‌سازی الگوهای مکانی - زمانی از طریق طراحی و ساخت موجبرهای تحویل نور انعطاف‌پذیر و زیست سازگار ادامه یافت.

1 Wire-Bonding

2 Flip-Chip

3 Utah Slanted-Optrode Array

اولیه آن به دست آمدند. سپس برش لیزری برای شکل دادن به فیلم‌های انعطاف‌پذیر و ساخت موجبرها استفاده شد. کوپل نور به موجبر از طریق یک فیبرنوری مالتی‌مد چسبانده شده به ورودی موجبر محقق گردید. این قسمت بعد از کاشت نوک قطعه در مغز، بریده و جدا شد (شکل ۹) [۱۴۲].

نسل بعدی موجبرهای پلیمری دو بعدی از یک میکرواسپلیتر نوری مبتنی بر چسب ماورای بنفش استفاده کرد (شکل ۹). فرآیند ساخت آسان و ارزان این موجبر، منجر به ایمپلنت کمتر تهاجمی، انعطاف‌پذیر و زیست سازگار آن شد. انتقال پهن باند سیگنال‌های نوری در محدوده طول موجی طیف مرئی تا مادون قرمز نزدیک، با قابلیت تقسیم توان نوری یکنواخت در خروجی‌های اسپلیتر مزیت دیگر این طرح بود. تراز دقیق بین موجبر و فیبر نوری خروجی از طریق یک شیار میکروماشین کاری ساخته شده در ورودی اسپلیتر محقق گردید. ساختار آرایه‌ای این طرح برای تحریک نوری الگویی نورون‌ها پیشنهاد داده شد [۱۴۳].

طرح جدید دیگر، یک سیستم فوتونیک انعطاف‌پذیر شامل آرایه‌ای متراکم از موجبرهای پلیمری برای تحویل نور الگویی به بافت عمیق سه بعدی مغز بود. موجبرها از هسته پلیمری پرلین سی و پوسته پلیمری پلی دی‌متیل سیلوکسان^۲ (PDMS) ساخته شدند (شکل ۹). ویژگی اصلی این سیستم، استفاده از میکروآینه‌های ۴۵ درجه در ورودی و خروجی موجبر بود که وضوح مکانی تحریک نوری را بهبود بخشید. این ساختارهای میکروآینه‌ای یکپارچه، کوپلینگ نور خارج صفحه‌ای ۹۰ درجه را محقق کردند. موجبرهای معمولی نور را از وجه انتهایی خود گسیل می‌کنند. در نتیجه پروفایل پرتوی داخل صفحه در امتداد محور پروب ایجاد می‌شود که سطح بزرگی را روشن می‌کند و امکان تابش ناخواسته را بر مناطق غیرهدف در بافت به همراه دارد. از این رو برای دستیابی به تابش با وضوح مکانی بالا، تابش خارج صفحه‌ای ترجیح داده می‌شود. آینه‌های داخل صفحه‌ای^۳ نیز قبلاً در ترکیب با موجبرهای تابش جانبی برای افزایش وضوح مکانی استفاده شدند [۱۴۴]. لیکن آینه‌های خارج صفحه‌ای^۴ برای پروب‌های عصبی که علاوه بر موجبر به الکترودهای سطحی جهت ثبت فعالیت نورون‌ها نیز مجهز هستند، مطلوب‌تر هستند، زیرا آرتیفکت‌های فوتوالکتریکی را نیز کاهش می‌دهند [۱۴۴]. طرح بعدی از موجبرهای نیتريد سیلیکن در ترکیب با سوئیچ‌های مالتی‌مد مبتنی بر رابط^۵، برای تحویل نور الگویی به بافت عصبی استفاده کرد. این سوئیچ‌ها از طریق

نورون‌ها در تنه‌های عصب نسبت به آنچه که با الکترودهای معمولی تحریک الکتریکی قابل دستیابی بود، شدند. هدف از این دیوایس ارائه نور به بافت عمیق‌تر و فراهم کردن امکان تحریک انتخابی‌تر سلول‌های عصبی بود. آرایه‌ها از طریق میکروماشین کاری حجمی ساخته شدند [۱۳۹]. برای مثال، دیوایس سیلیکنی از طریق حکاکی یک ویفر سیلیکنی با هدف شکل‌گیری میله‌های باریک با طول ۰.۵ تا ۱.۵ میلی متر به دست آمد. بازده انتقال نور بین ۲٪ تا ۱۰٪ بسته به قطر فیبر استفاده‌شده برای کوپل نور به داخل آرایه متغیر بود. نمونه آرایه‌های سیلیکنی و شیشه ساخته شده در شکل ۹ نشان داده شده است [۱۳۸].

آرایه سه بعدی بعدی، از تراشه‌های میکرودیوهای گسیل‌کننده نور که به صورت جداگانه قابل کنترل و آدرس‌دهی بودند، در ترکیب با میکروموجبرهای پلیمری عمود بر صفحه برای تحریک نوری عمق مغز استفاده کرد (شکل ۹). موجبرهای SU8 از طریق تکنولوژی سیستم‌های میکروالکترومکانیکی ساخته شدند. مزایای نهایی این سیستم شامل انعطاف‌پذیری مکانیکی ساختار، زیست سازگاری، اندازه کوچک و وزن کم، آن را برای کاشت مزمن در حیوانات دارای حرکت آزاد مناسب ساخت. به علاوه دیوهای نوری میکرونی مجتمع شده با میکروموجبرها تحویل دقیق نور را به نورون‌های هدف در سراسر لایه‌های مختلف قشر مغز ممکن کردند [۱۴۰].

طرح بعدی، آرایه‌ای سه بعدی از موجبرهای کریستالی اکسید روی (ZnO) روی بستری از شیشه، مجتمع شده با آرایه‌ای از μLED ها و با هدف کاوش بافت عمیق مغز بود (شکل ۹). اکسید روی از نظر اپتیکی شفاف و همچنین از نظر الکتریکی هادی است. بنابراین پروب ساخته شده به خوبی توانست از طریق کنترل نور الگویی سه بعدی به تحریک بافت عصبی و ثبت سیگنال‌های فعالیت متعاقب آن بپردازد. عملکرد نوری و الکتریکی موجبرها با لایه نشانی اکسید قلع ایندیم ITO در نوک آن‌ها بهبود داده شد. به علاوه روکشی از لایه پلیمر پرلین سی ماهیت تهاجمی کریستال‌ها را برای کاشت در بافت بهبود بخشید [۱۴۱].

استفاده از پلیمرهای زیست سازگار و قابل جذب زیستی برای ساخت موجبرها، ایده‌ای بود که برای انتقال طولانی مدت نور به بافت عمیق مغز با قابلیت کمتر تهاجمی ایمپلنت، مطرح شد. این موجبرها به تدریج در بافت جذب می‌شدند. بنابراین نیازی به جراحی برای خارج کردن پروب بعد از استفاده از آن نبود. فیلم‌های نازک پلیمری با استفاده از تکنیک پرس مذاب^۱ از پودر

2 Polydimethylsiloxane

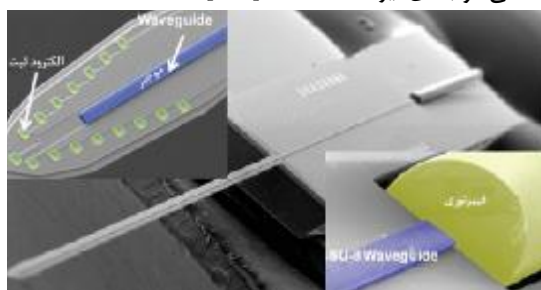
3 In-Plane Mirrors

4 Out-of-Plane Mirrors

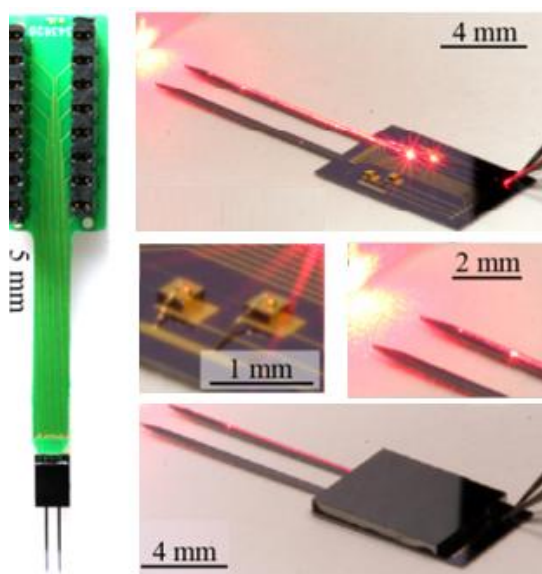
5 Multimode Interface (Mmi) Based Switch

1 Melt-Pressing

نور از طریق یک فیبر نوری به داخل آن نگه داشته شد. این رویکرد چالش‌های ساخت و کاشت پروب‌های انعطاف‌پذیر معمولی را نداشت. برای ساده‌سازی فرآیند کاشت، مدل پروب از طریق بهینه‌سازی ساختار هندسی آن با استفاده از آنالیزهای مکانیکی، طوری طراحی شد که نیروی کماتش بحرانی^۲ (F_{cb}) آن از نیروی نفوذ بحرانی^۳ (F_{cp}) بزرگ‌تر باشد. بدین ترتیب دیگر نیازی به ابزارهای جانبی برای کاشت مستقیم پروب در بافت مغز نبود. این امر به طور قابل توجهی دقت کاشت را افزایش و پیچیدگی جراحی را کاهش داد. شبیه‌سازی‌های مکانیکی و آزمایش‌های تجربی نشان دادند که این پروب‌های انعطاف‌پذیر التهاب بافت را در دوره‌های کوتاه مدت و طولانی مدت ۴ ماهه در مقایسه با پروب‌های سخت سیلیکونی و به لطف تعامل کمتر آن با بافت اطراف کاهش می‌دهند. سپس این پروب در قشر حرکتی ثانویه موش‌ها کاشته و سرعت حرکت آن‌ها را طریق تحریک اپتوژنتیک تنظیم کرد که به نوبه خود قابلیت اطمینان در عملکرد پروب را نشان می‌داد. این پروب‌ها به صورت آرایه خطی دو بعدی نیز ساخته شدند [۱۴۷].



(ا)



(ب)

تنظیم الکتریکی فاز نور عبوری، مسیر و شدت انتشار نور را در خروجی‌های موجبر کنترل کردند. بدین ترتیب تحریک سریع، دقیق و همزمان جمعیت‌های نورونی در سرتاسر لایه‌های قشری مغز محقق شد. این تکنولوژی، قابلیت ارتقای تعداد خروجی‌های موجبر را برای هدف‌گیری همزمان تعداد بیشتری از نورون‌ها داشت و از طریق شکل‌دهی پرتوی نور، تابش الگویی با وضوح مکانی بالا را ممکن می‌کرد. شکل ۹ ذراتیک پروب طراحی شده را به همراه سوئیچ‌ها نشان می‌دهد. بزرگ‌نمایی قسمتی از شبکه سوئیچینگ نیز در شکل نشان داده شده است. در حالتی که هیچ توان الکتریکی بر سوئیچ اعمال نشود، کل نور ورودی به پورت ۲، از پورت ۱ خارج می‌شود. لیکن هنگامی که توان افزایش می‌یابد، بسته به مقدار آن، نور بین دو خروجی موجبر توزیع می‌شود. چنانچه توان ماکزیمم شود، کل نور ورودی از پورت خروجی ۲ خارج می‌شود. بدین ترتیب نور می‌تواند بسته به مقدار توان الکتریکی اعمال شده به سوئیچ‌ها، بین خروجی‌های آن‌ها توزیع شود. نور خروجی از موجبر در این طرح نیز خارج صفحه‌ای بود که با استفاده از یک توری انتشار^۱ نور در خروجی موجبرها محقق شد. همان طوری که قبلاً نیز ذکر شد، این امر کیفیت سیگنال‌های ثبت شده فعالیت نورونی را بهبود می‌بخشد. الگوی نوری نمونه ایجاد شده در خروجی موجبر در حالتی که تنها دو سوئیچ در مسیر روشن هستند، در این شکل نشان داده شده است. سوئیچ S1 در حالت ماکزیمم توان و سوئیچ S7 در حالت نصف توان فعال هستند [۱۴۵].

طرح نوآورانه بعدی از ابریشم به دلیل شفافیت بالا، زیست سازگاری و قابلیت کنترل سختی مکانیکی آن، به عنوان ماده اصلی موجبر تحویل نور به بافت عصبی استفاده کرد تا آن حفظ نماید (شکل ۹). جذب آب از بافت مغز توسط این موجبر سبب کاهش سختی و حفظ انطباق مکانیکی آن با بافت شد و در نتیجه امکان آسیب بافتی پس از کاشت به حداقل رسید. همچنین این پروب مجهز به میکروالکترودهای آرایه‌ای برای ثبت همزمان فعالیت عصبی نورون‌ها بود [۱۴۶].

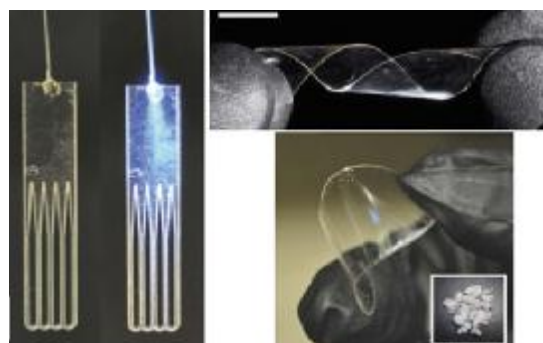
در مطالعه‌ای دیگر، روش ساده‌تری برای ساخت پروب‌های موجبر انعطاف‌پذیر و بادوام SU8 برای کاربردهای اپتوژنتیک ارائه شد (شکل ۹). در ابتدا لایه‌ای از دی‌اکسید سیلیکون بر روی بستر سیلیکونی لایه نشانی و سپس موجبر SU8 از طریق فوتولیتوگرافی ماورای بنفش روی آن شکل‌دهی شد. سپس دی‌اکسید سیلیکون و سیلیکون به ترتیب از قسمت زیرین انتهای موجبرها حذف شدند تا قسمت انعطاف‌پذیر قابل کاشت در مغز آماده شود. قسمت ابتدای موجبر روی بستر سیلیکونی برای کوپل

2 Critical Buckling Force
3 Critical Penetration Force

1 Grating Emitter



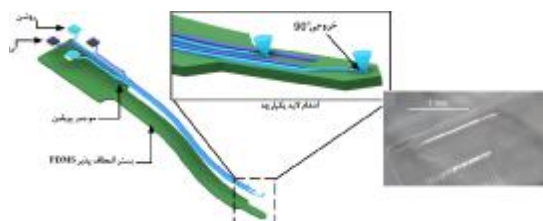
(ج)



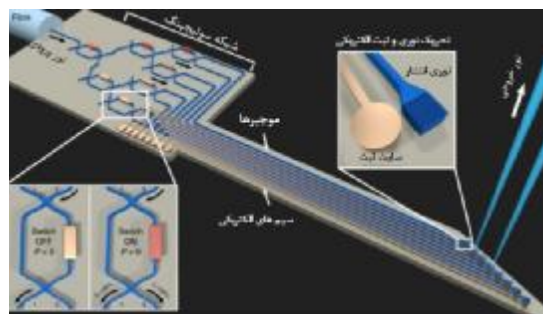
(ح)



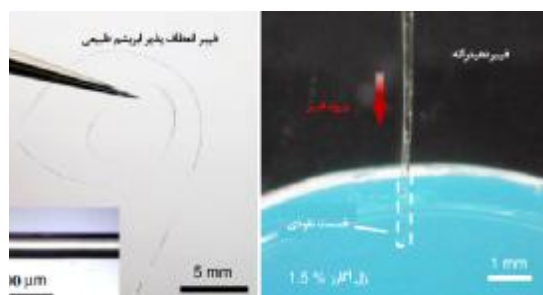
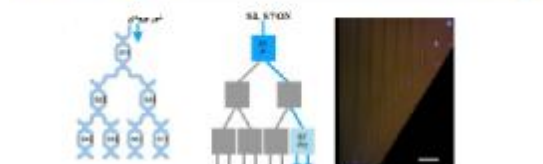
(خ)



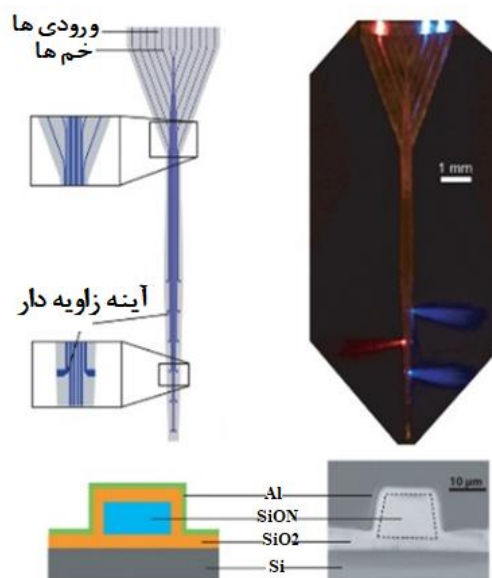
(د)



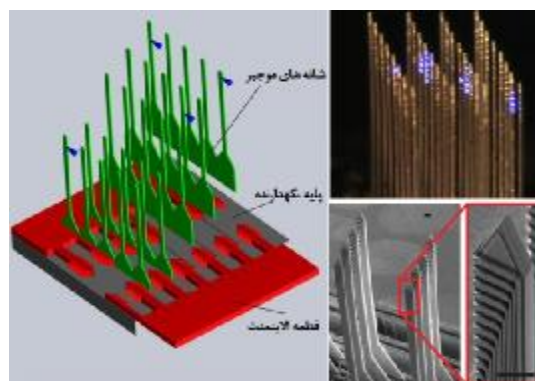
(ذ)



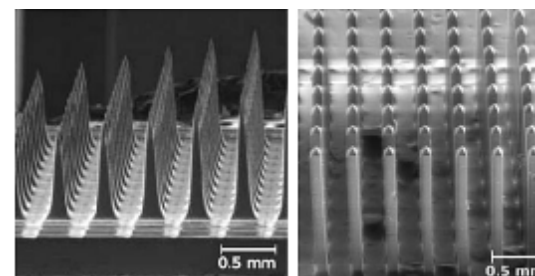
(ر)



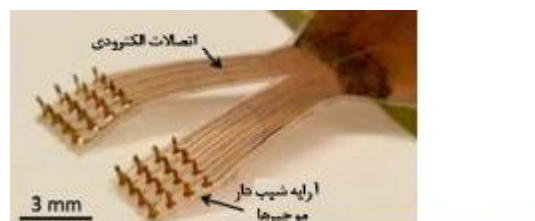
(پ)



(ت)



(ث)

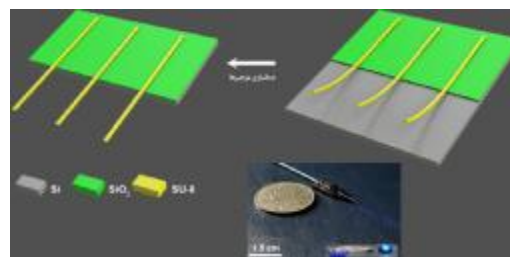


(ج)



(چ)

تاکنون میکرودیوهای گسیل‌کننده نور به عنوان منابع نوری و با هدف تامین توان لازم برای تحریک، همراه موجرها استفاده شده‌اند. به علاوه، آن‌ها می‌توانند مستقیماً در بافت عمیق مغز وارد و برای تحریک سلول‌های عصبی استفاده شوند. این دیوهای در مقایسه با فیبرهای نوری، به طور قابل توجهی کوچک‌تر هستند که به نوبه خود منجر به وضوح مکانی بالاتر، شدت نور خروجی بیشتر و آسیب بافتی کوچک‌تر می‌شوند. لیکن گرمای محلی تولید شده به واسطه اثر ژول^۱ از خطوط اتصال برای تغذیه میکرودیوهای و همچنین از سطح میکرودیوهای، به ویژه در آزمایش‌های بلند مدت چالشی است که باید برطرف شود. این موضوع در مواردی که ایمپلنت، آرایه نوری با تراکم بالایی از میکرودیوهای باشد، شدیدتر است. لذا محققان سعی کرده‌اند با استفاده از مواد مناسب و با ارائه پروسه‌های ساخت موثر برای این نوع از پروب‌ها، این مشکل را رفع نمایند. شکل ۱۰ آ و شکل ۱۰ ب به ترتیب میکرودیوهای گسیل‌کننده نور GaN ساخته شده روی یاقوت کبود و میکرودیوهای گسیل‌کننده نور InGaN ساخته شده بر روی سیلیکن را نشان می‌دهند. از آنجایی که سیلیکن نسبت به یاقوت کبود، ضریب هدایت حرارتی^۲ پنج برابر بزرگ‌تری دارد، سبب دفع موثرتر گرمای تولید شده از میکرودیوهای می‌شود. به علاوه بستر کدر سیلیکن سبب تمرکز نور خروجی از میکرودیوهای به سمت بالای آن‌ها می‌شود. این در حالی است که دیوهای ساخته شده روی یاقوت کبود شفاف، به دلیل امکان انتقال نور از طریق بستر شفاف، وضوح تابش کمتری دارند [۱۴۸-۱۵۰]. مطالعه‌ای دیگر عملکرد حرارتی پروب الماس کریستالی^۳ را بررسی کرده است. الماس کریستالی به دلیل داشتن ضریب هدایت حرارتی بزرگ‌تر در مقایسه با پلیمر SU8 که دیگر ماده معمول برای ساخت پروب‌های عصبی است، گرمای تولید شده توسط منابع نور مینیاتوری پروب را به طور موثری به بافت‌های اطراف پخش می‌کند. این ماده زیست سازگار است و بستری مناسب برای پروب‌هایی است که به صورت مجتمع با میکرودیوهای گسیل‌کننده نور ساخته می‌شوند (شکل ۱۰ پ) [۱۵۱]. در هر حال این مواد سخت هستند و پروب‌های ساخته شده از آن‌ها ماهیت تهاجمی دارند. از این رو پروب‌های پلیمری به دلیل ماهیت انعطاف‌پذیرشان انتخاب مناسب‌تری هستند. لیکن مجتمع‌سازی میکرودیوهای روی بستر پلیمری چالش‌برانگیز بوده است. به طوری که تراشه‌ها با استفاده از تکنیک‌های میکروماشین‌کاری به طور جداگانه روی بستر یاقوت ساخته می‌شدند و سپس با استفاده از تکنیک‌های فلیپ چپ و لیفت آف لیزری^۴ روی میله پروب پلیمری متصل



(ز)

شکل ۹. روند توسعه طرح‌های موجر (آ) (وسط) موجر پلیمری SU8 مجتمع شده با الکترودهای ثبت فعالیت عصبی، (پایین سمت راست) بزرگ‌نمایی موقعیت کویلینگ فیبرنوری به ورودی موجر، (بالا سمت چپ) بزرگ‌نمایی موجر و الکترودها در نوک میله ایمپلنت [۱۳۴]. (ب) (چپ) دیوایس بسته‌بندی و مونتاژ شده روی PCB، (بالا سمت راست) دیوایس بدون پوشش همراه با دو لیزر-دیود فعال، (وسط) لیزر-دیوهای متصل شده در سمت چپ و ناحیه نوک دو موجر در حالت انتقال نور در سمت راست، (پایین سمت راست) نمای دیوایس پوشیده شده همراه با دو تراشه لیزر-دیود در حالت فعال [۱۳۵]. (پ) (بالا سمت چپ) شماتیک پروب موجر، (بالا سمت راست) پروب موجر ساخته شده بر اساس طرح سمت چپ. انتشار نور به بیرون در سه خروجی جداگانه نشان داده شده است، (پایین سمت چپ) شماتیک مقطع عرضی تک موجر از قسمت میله پروب، (پایین سمت راست) تصویر SEM مقطع عرضی تک موجر ساخته شده [۱۳۶]. (ت) (چپ) شماتیک پروب سه بعدی طراحی شده و نمایش مونتاژ اجزای آن، (بالا سمت راست) تصویر SEM پروب ساخته شده همراه با بزرگ‌نمایی خروجی‌های موجر، (پایین سمت راست) آرایه موجر سه بعدی و الگوی تابش نور آن [۱۳۷]. (ث) تصویر SEM آرایه شیب‌دار یوتا (چپ) آرایه سیلیکن، (راست) آرایه شیشه [۱۳۸]. (ج) (بالا) آرایه ساخته شده شامل موجرهای شیب‌دار و اتصالات الکترودها، (پایین) بزرگ‌نمایی موجرها و LEDهای کویل شده به آن‌ها در پشت آرایه [۱۴۰]. (چ) (چپ) شماتیک ساختار تک موجر پلیمری، (وسط) تصویر SEM نوک تک موجر ساخته شده، (راست) آرایه پلیمری شفاف ساخته شده [۱۴۱]. (ح) (پایین سمت راست) فیلم پلیمریست سازگار شفاف و انعطاف‌پذیر به دست آمده (تصویر بسته: بیوپلیمرها در حالت پودری اولیه آن‌ها قبل از شکل‌گیری فیلم را نشان می‌دهد)، (بالا سمت راست) نمایش قابلیت پیچش لایه ساخته شده، (وسط) آرایه موجر کویل شده به فیبرنوری در حالت روشن، (چپ) آرایه موجر کویل شده به فیبرنوری در حالت خاموش. تنها قسمت انتهایی دیوایس در داخل بافت قرار داده می‌شود و قسمت فوقانی آن بعد از کاشت بریده و جدا می‌شود [۱۴۲]. (خ) (چپ) تصویر SEM اسپلتر ساخته شده و نوک آن (تصویر بسته: نمای کامل دیوایس ساخته شده)، (وسط) پوسته موجر، (راست) هسته موجر و شکل‌گیری شیار برای کویلینگ فیبرنوری [۱۴۳]. (د) (چپ) شماتیک مفهومی پروب طراحی شده، (وسط) بزرگ‌نمایی نوک پروب تابش نور خارج صفحه‌ای را نشان می‌دهد، (راست) آرایه موجرهای ساخته شده [۱۴۴]. (ذ) (بالا) شماتیک پروب مبتنی بر سوئیچ‌های MMI به همراه بزرگ‌نمایی قسمتی از شبکه سوئیچینگ و خروجی موجر، نور ورودی از طریق یک فیبر نوری در بالای پروب به ورودی اصلی موجر کویل می‌شود. نور خروجی عمود بر صفحه موجر، نوره‌ها را تحریک می‌کند، (پایین سمت چپ) شماتیک اتصال سوئیچ‌ها (پایین وسط) الگوی نمونه عملکرد سوئیچ‌ها، سوئیچ‌های خاکستری خاموش و سوئیچ‌های آبی رنگ فعال هستند، (پایین سمت راست) تحقق عملی الگوی تابش سوئیچ‌ها طبق خروجی‌های روشن در پروب ساخته شده [۱۴۵]. (ر) (چپ) تصویر میکروسکوپی فیبرنوری ساخته شده از ابریشم، (راست) تست کماتش فیبر ابریشمی در ژل آگارز: فیبر بدون جذب آب سختی خود را حفظ می‌کند، درحالی‌که بعد از ورود به داخل ژل و به دلیل جذب آب، سختی مکانیکی آن کمتر می‌شود. از این رو آسیب بعد از کاشت کاهش می‌یابد [۱۴۶]. (ز) (بالا) شماتیک اجزای طرح پروب آرایه‌ای و نحوه جداسازی لایه زیرین موجرها، (پایین سمت راست) پروب ساخته شده (تصویر بسته دید از روبه‌رو است) [۱۴۷].

1 Joule Effect

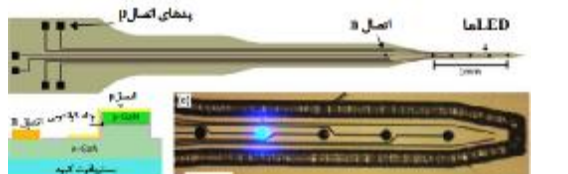
2 Thermal Conductivity

3 Polycrystalline Diamond (PCD)

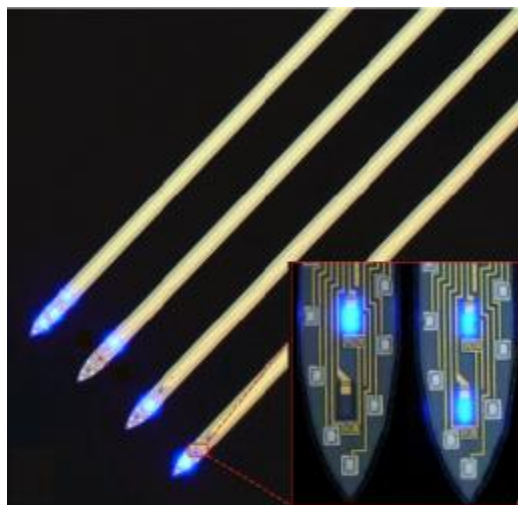
4 Laser Lift-Off

طراحی سیستم‌های بی‌سیم یکپارچه که کنترل مکانی- زمانی محرک‌های متعدد مانند نور و تحویل دارو را تسهیل می‌کند و ذخیره‌سازی سیگنال‌های ضبط شده بر روی دستگاه را برای تجزیه و تحلیل پس‌پردازشی^۲ ارائه می‌دهند، هدفی مهم است. توسعه سیستم‌های قدرت بی‌سیم برای رفع چالش‌های مهم مربوط به وزن و عدم اطمینان مرتبط با باتری‌های دستگاه در آزمایش‌های مربوط به حیوانات دارای حرکت آزاد، به شدت راهگشا هستند. کوچک‌سازی^۳ در نوروفوتونیک، امکان افزایش دقت و انتخابی بودن هدف‌گیری نواحی خاص مغز را فراهم می‌نماید. دستگاه‌های نوری کوچک‌تر وضوح مکانی دقیق‌تر و هدف‌گیری موثرتر انواع سلولی خاص را محقق می‌کنند. به علاوه دیوایس‌های کوچک می‌توانند آسیب بافتی و التهاب را کاهش دهند و تاثیر آن را بر بافت اطراف به حداقل برسانند [۱۵۸-۱۵۶].

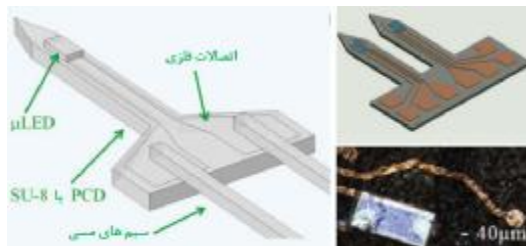
جدول‌های ۱، ۲ و ۳ مقایسه عملکرد تکنیک‌های تحویل نور مطالعه شده هستند [۱۰۷ و ۱۱۷ و ۱۲۶ و ۱۵۶-۱۵۹].



(آ)



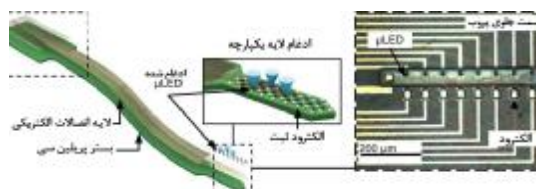
(ب)



(پ)

می‌شدند. این روش‌ها به دلیل فرآیند ساخت دومرحله‌ای‌شان مطلوب نبودند [۱۵۲-۱۵۴]. لیکن شکل ۱۰ ت پروب پلیمری مجهز به آرایه دو بعدی از میکرودیودها را نشان می‌دهد که به صورت یکپارچه با پروب، ساخته شده است. در این طرح، میکرودیودها در ساختارهای مبتنی بر GaN و روی یک بستر سیلیکونی رشد داده شدند. سپس ماده پلیمری پرلین سی روی آن‌ها لایه نشانی و شکل‌دهی شد. اتصالات مربوط به دیودها و الکترودهای ثبت روی این لایه پلیمری ساخته شدند. در انتهای پروسه ساخت، سیلیکون انتهایی جدا شد. ساختار نهایی، حاصل ادغام یکپارچه میکرودیودها با لایه پلیمری پروب بود [۱۵۵]. علی‌رغم مزایای میکرودیودهای گسیل کننده نور و تلاش‌های بسیار برای پیاده‌سازی سیستم‌های تحویل نور موثر مبتنی بر آنها، این ساختارها به دلیل طول موج از پیش تعیین شده میکرودیودهای مجتمع شده در پروب‌های کاشته شده نیز، محدودیت‌هایی را برای کاربردهای تحریک نوری فعالیت عصبی به همراه دارند.

نوع تکنیک تابش الگویی استفاده شده برای تحریک نوری تا حد زیادی به کاربرد مورد نظر و نوع بافت هدف بستگی دارد [۴]. هندسه طرح پیشنهادی، پروسه ساخت آن و همچنین استفاده از مواد پلیمری مناسب به شدت بر دقت و پایداری عملکرد رابط‌های ساخته شده تاثیر می‌گذارند. به عنوان مثال توسعه موجبرهای زیست تخریب‌پذیر مبتنی بر پلیمر، نیاز به حذف ایمپلنت بعد از جراحی را از بین می‌برد و خطرات کاشت طولانی مدت را به حداقل می‌رساند. همچنین، شبیه‌سازی رفتار ایمپلنت‌ها در بافت عصبی، به بهینه‌سازی رفتار اپتیکی و مکانیکی آن‌ها در محیط‌های واقعی کمک می‌کند. تکنیک‌های یادگیری عمیق/ماشین نیز می‌توانند برای بهینه‌سازی ساختار موجبر با هدف بهبود وضوح مکانی و بازده انتقال نور آن استفاده شوند. از طرف دیگر، کارایی این سیستم‌ها تا حد زیادی تحت تاثیر ستاپ اپتیکی طراحی شده برای کوپل توان نوری کارآمد به آن‌ها است. به علاوه، تکنیک‌های تصویربرداری بلادرنگ با وضوح بالا مانند میکروسکوپ ورق- نوری^۱ می‌توانند نظارت دقیق و تنظیم مداخلات اپتوژنتیک را تسهیل کنند. استفاده از سیستم‌های نورومدولاسیون حلقه بسته که بر اساس فیدبک بلادرنگ از فعالیت عصبی تنظیم می‌شوند، برای بهبود نتایج درمان و کاهش اثرات نامطلوب پیشنهاد می‌شوند. ادغام چندین عملکرد در طرح‌های ایمپلنت‌های فوتونیک بازده آن‌ها را در مطالعات علوم اعصاب افزایش می‌دهد. به عنوان مثال ترکیب تحریک نوری با ثبت الکتریکی و مدولاسیون شیمیایی یک پلتفرم جامع برای درمان‌های مناسب فراهم می‌کند. بدین منظور،



(ت)

شکل ۱۰. پیشرفت طرح‌های مبتنی بر میکرودیوهای گسیل کننده نور (آ) (بالا) نمایش شماتیک پروپ، (پایین سمت راست) بزرگ‌نمایی چهار میکرودیو گسیل کننده نور در نوک پروپ، (پایین سمت چپ) ساختار شماتیک لایه‌های نیمه هادی تشکیل دهنده هر میکرودیو [۱۴۹]. (ب) تصویر میکروسکوپی پروپ ساخته شده (تصویر بسته بزرگ‌نمایی نوک پروپ را با یک و دو میکرودیو روشن نشان می‌دهد) [۱۵۰]. (پ) (چپ) شماتیک پروپ تک میله‌ای، (بالا سمت راست) شماتیک پروپ دومیله‌ای، (پایین سمت راست) میکرودیو ساخته شده به همراه خطوط اتصال فلزی [۱۵۱]. (ت) (چپ) نمایش شماتیک ساختار پروپ شامل کابل پلیمری پرلین سی، لایه اتصالات الکتریکی و میکرودیوهای ادغام شده روی نوک آن، (وسط) بزرگ‌نمایی نوک پروپ شامل میکرودیوها و سایت‌های ثبت فعالیت عصبی، (راست) تصویر SEM نوک پروپ ساخته شده شامل میکرودیوهای GaN و سایت‌های ثبت [۱۵۵].

جدول ۳. مقایسه زیست سازگاری تکنیک‌های تحویل نور الگویی

تکنیک	زیست سازگاری	توضیحات
DMD	زیاد	تحویل نور غیرمستقیم به داخل بافت (انعکاس از سطح آینه‌ها و نه مستقیماً از منبع)، تابش نور کنترل شده، امکان مدیریت گرما به دلیل عدم تماس مستقیم با منبع نور، ایمن برای استفاده غیرتهاجمی، ریسک کم آسیب به بافت
سیستم‌های متوسط تا اسکن	متوسط تا زیاد	گرمای بالقوه، سمیت نوری ^۱ (قابل کنترل با طراحی)
مدولاتورهای متوسط تا کریستال مایع	زیاد	استفاده خارج از بافت (سطح بافت یا کویل خارجی به ایمپلنت‌ها برای تحریک عمق بافت)، لیکن نیازمند مانتورینگ پیوسته دما، احتمال آسیب حرارتی به بافت
آرایه‌های فیبرنوری	زیاد	زیست سازگار با پاسخ ایمنی مینیمال، امکان بهبود با استفاده از مواد و پوشش‌های زیست سازگار پشرفته
موجبرهای پلیمری	متوسط تا زیاد	زیست سازگاری وابسته به مواد و پروسه ساخت، اغلب زیست تخریب پذیر و همراه با کاهش ریسک التهاب مزمن یا پاسخ ایمنی بافت

چالش‌های فنی و محدودیت‌های سیستم‌های تحویل نور الگویی

در این بخش چالش‌های فنی سیستم‌های معرفی شده در این مطالعه، به شرح زیر جمع‌بندی می‌شوند:

حرکت مکانیکی اجزای آینه‌های گالوانومتری، اینرسی مکانیکی ایجاد می‌کند. این اینرسی می‌تواند سبب تاخیر در حرکت آینه‌ها به ویژه در طول تغییر جهت سریع آنها، کاهش سرعت و دقت اسکن شود. به علاوه، اجزای مکانیکی مستعد ارتعاش و نویز هستند. این امر می‌تواند بر پایداری و دقت موقعیت آینه‌ها تاثیر بگذارد. به طوری که، این اختلالات می‌توانند سبب ایجاد جیتِر یا ناپایداری در مسیر نور و در نتیجه تارّی یا تغییر شکل الگوهای نوری شوند. همچنین، استفاده طولانی مدت از آینه‌های گالوانومتری می‌تواند منجر به رانش حرارتی^۲ و نادرستی تنظیم ناحیه اسکن در طول زمان شود، که خود مستلزم کالیبراسیون‌های مکرر است. حرکت مکانیکی با سرعت بالا به توان قابل توجهی نیاز دارد و محدودیتی برای دیوایس‌های قابل حمل و یا مبتنی بر باتری محسوب می‌شود [۱۵۹-۱۶۱]. از سوی دیگر، منحرف کننده‌های آکوستوآپتیکی با چالش‌های مربوط به محدودیت بازه انحراف خود مواجه هستند. آنها معمولاً محدوده انحراف زاویه‌ای کوچک‌تری در مقایسه با سیستم‌های مکانیکی مانند آینه‌های گالوانومتری دارند که ناحیه تاثیر و انعطاف‌پذیری تحویل نور را محدود

جدول ۱. مقایسه وضوح مکانی تکنیک‌های تحویل نور الگویی

تکنیک	وضوح مکانی	توضیحات
DMD	زیاد	وضوح وابسته به ابعاد پیکسل‌ها و پراش نور، ستاپ پیچیده، هزینه بالا
سیستم‌های اسکن	خیلی زیاد (۱-۲ میکرومتر)	اسکن نقطه به نقطه، وضوح بالا، سرعت کم
مدولاتورهای کریستال مایع	متوسط تا زیاد (۲۰-۵۰ میکرومتر)	وضوح وابسته به ابعاد پیکسل‌ها و رفتار نوری ماده کریستال، مقرون به صرفه
آرایه‌های فیبرنوری	متغیر (حدود ۱۰۰ میکرومتر)	وضوح متغیر وابسته به پراکندگی نور و چپش فیبرها در آرایه، ساده، مقرون به صرفه
موجبرهای پلیمری	متوسط (۵۰-۱۰۰ میکرومتر)	وضوح وابسته به پراکندگی نور خروجی و ابعاد طراحی موجبر

جدول ۲. مقایسه پایداری تکنیک‌های تحویل نور الگویی

تکنیک	پایداری	توضیحات
DMD	زیاد	ماهیت حالت جامد، خروجی ثابت، سایش مکانیکی کم (وابسته به انحراف آینه‌ها فقط به جلو و عقب)
سیستم‌های اسکن	متوسط تا زیاد	پایداری وابسته به اجزای مکانیکی و دقت الاینمنت در طول زمان، نیازمند کالیبراسیون منظم (وابسته به محدوده وسیع حرکت پیوسته آینه‌ها)
مدولاتورهای کریستال مایع	متوسط	ناپایداری شیمیایی ماده کریستال، حساس به تغییرات دما، نیازمند کالیبراسیون
آرایه‌های فیبرنوری	زیاد	فیبرهای سیلیکا پایدارتر از فیبرهای پلیمری
موجبرهای پلیمری	متوسط	حساس به عوامل محیطی مانند تغییرات دما و رطوبت

1 Phototoxicity

2 Thermal Drift

تکنولوژی‌های تنظیم اتوماتیک بیشتر می‌تواند این پیچیدگی‌ها را کاهش دهد. ادغام مدولاتورهای کریستال مایع در دیوایس‌های فشرده یا قابل کاشت برای کاربردهای *in vivo* به دلیل اندازه آن‌ها و نیاز به تنظیم اپتیکی دقیق چالش‌برانگیز است. توسعه مدولاتورهای کریستال مایع مینیاتوری و ادغام آن‌ها با تجهیزات الکترونیک می‌تواند برای ایمپلنت‌های عصبی مناسب‌تر باشد [۱۰۷].

پراش و پراکندگی ناخواسته نور در ساختار آرایه‌ای میکروآینه‌های دیجیتال، به دلیل ایجاد لکه‌های نوری تاری یا الگوی نوری ناخواسته، دقت الگوهای تحریک را که برای مطالعات علوم اعصاب بسیار مهم است، کاهش می‌دهند. DMD ها نیز به دلیل داشتن قطعات متحرک در ساختارشان، مستعد ارتعاش مکانیکی و انبساط حرارتی هستند. ناپایداری مکانیکی و عدم الاینمنت میکروآینه‌ها در طول زمان می‌تواند منجر به عدم دقت در جهت بازتاب نور و ایجاد الگوی نور نادرست شود که نیاز به کالیبراسیون مجدد مکرر پیکسل‌ها را به همراه دارد. آینه‌های مجاور می‌توانند به طور ناخواسته بر یکدیگر تاثیر بگذارند. این تاثیر می‌تواند دقت الگوهای نور و در نهایت دقت هدف‌گیری مناطق عصبی را کاهش دهد. DMD ها عمدتاً بر مبنای مدولاسیون باینری شدت نور عمل می‌کنند. به این معنا که می‌توانند نور را به طور کامل منعکس کنند و یا اصلاً منعکس نکنند. این امر تحقق مدولاسیون نور در شدت‌های مختلف را دشوار و در نتیجه پیچیدگی الگوهای نور حاصل را محدود می‌کند. استفاده از پوشش‌های ضدانعکاسی و بهینه‌سازی طراحی آینه‌ها می‌تواند پراش را کاهش و دقت الگوی نور را بهبود دهد. به علاوه، ستاپ‌های اپتیکی طراحی شده برای DMD به بهای پیچیدگی خود، می‌تواند خطای دقت را تا حدی کنترل کند. بهبود تکنیک‌های ساخت نیز سبب کاهش تاثیرپذیری آینه‌های مجاور و پایداری مکانیکی بیشتر ساختار می‌شود. همچنین، توسعه روش‌های مدولاسیون هیبرید که شامل استفاده از DMD با سایر تکنیک‌های مدولاسیون نور هستند، کنترل دقیق‌تر شدت نور را ممکن می‌سازد [۱۱۷ و ۱۶۵].

فیبرهای نوری معمولی نور را تنها به ناحیه اطراف نوک فیبر می‌رسانند و به همین دلیل قابلیت محدودی برای تحریک انتخابی نورون‌ها دارند. دستیابی به الاینمنت دقیق فیبرهای نوری در پیکربندی‌های آرایه‌ای یک نیاز فنی است، به طوری که حتی ناهماهنگی‌های جزئی نیز می‌تواند منجر به کاهش اثربخشی تحریک نوری شوند. حفظ این الاینمنت در طول زمان به ویژه در محیط‌های عصبی دینامیک، به پیچیدگی کار می‌افزاید. همچنین موقعیت و عملکرد فیبرهای نوری در طول

می‌نماید. عملکرد AOD ها به شدت به فرکانس امواج صوتی استفاده‌شده برای انحراف بستگی دارد و دستیابی به سرعت‌ها و دقت‌های اسکن مطلوب، نیازمند تنظیم دقیق این فرکانس‌ها است که می‌تواند پیچیده و زمان‌بر باشد. عدم تنظیم دقیق و عدم کالیبراسیون AOD ها منجر به الگوهای تحریک نوری نادرست می‌شود. عملکرد AOD ها در سرعت‌های بالا نیز مستلزم مصرف توان‌های قابل توجه است، که بر راندمان کلی سیستم تاثیر می‌گذارد [۱۶۲]. پیاده‌سازی سیستم‌های کنترل فیدبک بلادرنگ و توسعه سیستم‌های تنظیم خودکار می‌تواند دقت و زمان عکس‌العمل سیستم‌های اسکن را بهبود دهد، زمان راه‌اندازی را به حداقل برساند و خطای موقعیتی را کاهش دهد. همچنین استفاده از سیستم‌های خنک‌سازی کارآمد و یا مواد با خواص دفع حرارتی بهتر برای مدیریت اثرات گرمایی سیستم‌های اسکن پیشنهاد می‌شود [۱۶۳].

مدولاسیون یکنواخت برای ایجاد الگوهای نور پایدار و قابل پیش‌بینی ضروری است. عدم الاینمنت (تنظیم مولکول‌ها در یک آرایش یکنواخت و کنترل شده) در کریستال‌های مایع می‌تواند به الگوهای نور متفاوت، نامنظم و غیریکنواخت منجر شود که خود سبب تحریک عصبی نورون‌های غیرهدف، تحریک غیر موثر نورون‌های هدف و در نهایت ثبت‌های متناقض در پاسخ‌های عصبی می‌شود. الگوهای نور ناپایدار همچنین می‌توانند به طور بالقوه منجر به گرم شدن ناخواسته بافت‌های اطراف و آسیب متعاقب آن شوند [۱۰۳]. تکنیک‌های ساخت پیشرفته برای اطمینان از هم‌سویی دقیق مولکول‌های کریستال مایع در طول فرآیند تولید استفاده می‌شوند. فرآیندهای کنترل کیفیت دقیق به شناسایی و اصلاح هرگونه ناهماهنگی قبل از استفاده از مدولاتور در کاربردهای عملی کمک می‌کنند. برخی از سیستم‌ها از مکانیسم‌های فیدبک بلادرنگ برای تنظیم دینامیکی الاینمنت استفاده و عملکرد پایدار را در استفاده‌های طولانی مدت تضمین می‌کنند [۱۰۷]. مدولاتورهای کریستال مایع می‌توانند مقداری از نور تاییده شده را جذب کنند و توان نوری در دسترس برای تحریک نوری را کاهش دهند. این امر می‌تواند عمق و اثربخشی تحریک را به ویژه در مناطق عمیق‌تر مغز محدود سازد. استفاده از مواد با تلفات کم برای کریستال‌های مایع، بهینه‌سازی طول موج منبع نور برای به حداقل رساندن جذب و پراکندگی نور و همچنین افزایش بازده منبع نور می‌تواند این تلفات را کاهش دهد [۱۶۴]. ستاپ‌های مدولاتورهای کریستال مایع شامل اجزای نوری دقیق و نیازمند تنظیم موقعیت و عملکرد آن‌ها نسبت به هم هستند. این نیاز، هزینه‌ها و ملزومات مربوط به نگهداری را افزایش می‌دهد. ساده‌سازی طراحی ستاپ‌های اپتیکی و ادغام

زمان و در نتیجه پایداری طولانی مدت آرایه در بافت عصبی تحت تاثیر سایش مکانیکی، رشد بافت و حرکت آن است. ساختارهای آرایه‌ای فیبرهای نوری به دلیل حجیم بودن آرایه، رفتاری تهاجمی دارند و می‌توانند سبب آسیب و التهاب بافت عصبی شوند. اطمینان از زیست سازگاری مواد استفاده‌شده برای فیبرهای نوری به منظور عدم ایجاد پاسخ ایمنی بسیار مهم است. بافت عصبی به طور ذاتی نور را پراکنده و جذب می‌کند. این اثر پراکندگی می‌تواند الگوی نور موردنظر را پخش کرده و دقت و کارایی تحریک نور الگویی را کاهش دهد [۱۵۶]. استفاده از تکنیک‌های ساخت پیشرفته برای ایجاد فیبرهای نوری بادوام‌تر، انعطاف‌پذیرتر و دقیق‌تر می‌تواند مسائل مربوط به شکندگی و الاینمنت را حل کند. استفاده از پوشش‌های زیست سازگار روی فیبرهای نوری خطر واکنش‌های ایمنی نامطلوب را کاهش و پایداری طولانی مدت را بهبود می‌دهد. همان طوری که قبلاً ذکر شد، طرح‌های فیبرهای باریک شده مخروطی و طرح‌های آرایه‌ای فشرده برای بهبود هدف‌گیری دقیق‌تر مناطق مغز پیشنهاد شده‌اند [۱۶۶].

تلفات انتشار نور در موجبرها نیز می‌توانند شدت نور را در حین حرکت از طریق موجبر کاهش دهند و منجر به تحویل نور کارآمد کمتر به نورون‌های هدف گردند. مدهای مختلف عبوری از موجبرهای مالتی مد در سرعت‌های مختلف (پراکندگی مدال^۱)، می‌توانند سبب گسترش پالس^۲ نور و اعوجاج^۳ سیگنال‌های نوری شوند. در نتیجه وضوح زمانی سیگنال‌های تحریک کاهش می‌یابد و دستیابی به نور دقیق و تحریک عصبی متمرکز دشوارتر می‌شود [۱۵۸]. همچنین همان طوری که در بخش قبل اشاره شد، بافت‌های عصبی به دلیل ساختار و ترکیب پیچیده خود (کروموفورهای اندوژنوس^۴ و ساختارهای بیولوژیکی مانند غشاء و غلاف میلین)، به طور طبیعی نور را پراکنده و جذب می‌کنند. این امر شدت و دقت نور رسیده به مناطق عمق مغز را کاهش می‌دهد و حصول تحریک عصبی دقیق و موثر در بافت‌های عمیق‌تر را دشوار می‌کند [۱۵۶]. پایداری مکانیکی طولانی مدت موجبرها مشابه فیبرهای نوری، در محیط‌های بیولوژیکی چالش برانگیز است؛ زیرا می‌تواند منجر به عدم ثبات موقعیت موجبر و کاهش دقت تحویل نور الگویی شود. گرمای بیش از حد ناشی از تابش‌های نوری از موجبرها در صورت عدم کنترل، می‌تواند به دلیل احتمال آسیب

به سلول‌های اطراف، اثربخشی و ایمنی تحریک نوری را کاهش دهد. همچنین هرگونه انبساط حرارتی می‌تواند ناهماهنگی انتقال نور و الگوهای نادرست تحریک نوری را سبب گردد. قراردادن فیزیکی موجبر در بافت عصبی می‌تواند به دلیل اثرات تهاجمی بودن آن، باعث آسیب بافت یا التهاب آن شود. این اثر می‌تواند منجر به پاسخ‌های بیولوژیکی نامطلوب مانند تشکیل بافت اسکار و در نتیجه اختلال در انتقال نور و عملکرد عصبی گردد [۴]. اطمینان از زیست سازگار بودن مواد استفاده‌شده برای موجبرها بسیار مهم است. مواد غیرزیست سازگار می‌توانند واکنش‌های ایمنی یا التهاب طولانی مدت بافت را موجب شوند. از این رو تلاش‌ها برای بهینه‌سازی طرح‌های موجبرها با هدف به حداقل رساندن پراکندگی مدال و همچنین اطمینان از تحویل نور دقیق و کارآمد ادامه دارد. استفاده از مواد پیشرفته و کم تلفات مانند سیلیکن، اکسیدهای هادی شفاف و پلیمرهای زیست سازگار مانند PDMS برای کاهش تلفات انتشار و مواد با دفع حرارتی موثر و مکانیسم‌های خنک کننده برای مدیریت اثرات حرارتی و جلوگیری از آسیب بافت مطرح هستند. پوشش‌های زیست سازگار بر سطح موجبرها نیز برای افزایش زیست سازگاری و کاهش خطر واکنش‌های ایمنی استفاده می‌شوند. طراحی موجبرهای انعطاف‌پذیر پلیمری با پایداری مکانیکی بالا عملکرد پایدار موجبرها را تضمین کرده و اثر تهاجمی بودن آن‌ها را بهبود می‌بخشد [۱۲۶].

چالش‌های پیش روی کاربرد بالینی اپتوژنتیک

همان طوری که قبلاً اشاره شد، انتقال نور موثر در مغز، یکی از بزرگ‌ترین چالش‌ها در زمینه نوروفوتونیک و به ویژه اپتوژنتیک است. به دلیل وجود آرایش وسیعی از ساختارهای بیولوژیکی در اندازه‌های مختلف، بافت‌های عصبی به شدت پراکنده کننده و جذب کننده نور هستند و هدف‌گیری نوری دقیق و کارآمد را عمدتاً به واسطه مشکلات مربوط به اعوجاج و انحراف نور به چالش می‌کشند. غلبه بر این چالش‌ها انگیزه اصلی پشت راه حل‌های فنی ارائه شده، از تکنیک‌های شکل‌دهی جبهه موج برای کنترل پراکندگی نور در داخل مغز تا پروب‌های عصبی پیشرفته برای اپتوژنتیک عمق مغز، هستند که امکان هدف‌گیری دقیق‌تر و موثرتر سلول‌های عصبی را فراهم می‌کنند. این ابزارها، راه حل‌های تکنیکی برای تحقق عملی اپتوژنتیک جهت مطالعه و درمان بیماری‌ها هستند [۴ و ۴۹].

درمان‌های اپتوژنتیک برای بازگرداندن بینایی در بیماران

1 Modal Dispersion
2 Pulse Broadening
3 Distortion
4 Endogenous Chromophores

مدت فعالیت عصبی را فراهم می‌کنند، که ممکن است اهمیت راه حل‌های مبتنی بر اپتوژنتیک را برای بیماران با مشکلات مزمن کاهش دهد [۱۷۰-۱۷۱].

علی رغم این چالش‌ها، گروه‌های مختلفی در حال حاضر در حال کار بر روی اولین کاربرد انسانی اپتوژنتیک در مغز انسان هستند و احتمالاً اولین آزمایش‌های انسانی در دهه آینده انجام خواهند شد. در حال حاضر هنوز سوالات بی‌پاسخی در زمینه استفاده از اپتوژنتیک در انسان وجود دارند: وارد کردن رتروویروس به ژنوم برای بیان پروتئین‌های اپسینی غیرانسانی، چه تأثیر بلند مدتی بر نورون‌های مغز انسان خواهد داشت؟ مغز چگونه به قرار گرفتن طولانی مدت در معرض نور واکنش نشان خواهد داد؟ عواقب بلندمدت کاشت دیوایس‌های مناسب در داخل مغز چیست؟ علاوه بر تأثیرات فیزیکی بالقوه، اثرات روانی بر بیماران درگیر در آزمایش‌های بالینی اپتوژنتیک کدامند؟ و مهم‌تر از همه تست‌های بالینی چگونه طراحی و پیاده‌سازی شوند تا به این سوالات پاسخ داده شده و در عین حال ایمنی شرکت کنندگان و اطرافیان‌شان حفظ شود؟ [۱۶۸-۱۷۰]

هر دیوایس خارجی وارد شده به بدن خطر آسیب به بافت یا برانگیختن پاسخ ایمنی را به همراه دارد، که منجر به التهاب سلولی یا مرگ سلول می‌شود. به طور مشابه، خطرات مرتبط با دیوایس‌های قابل کاشت شامل پاسخ‌های ایمنی، رد ایمپلنت، تشکیل گلیالی و تخریب دیوایس است. تجربه تجهیزات ایمپلنت تایید شده بالینی نشان می‌دهد که امکان مدیریت ایمن این موارد وجود دارد. لیکن، ماهیت محصور مغز و سد خونی-مغزی^۲ به این معنا است که نظارت بر آن دشوار است [۱۳].

بیومارکرهای التهابی مانند اینترلوکین‌ها^۳ می‌توانند برای نشانه‌های پاسخ ایمنی به درمان مورد نظارت قرار گیرند، هرچند جمع‌آوری آن‌ها ممکن است دشوار باشد. عناصر ایمنی که افزایش دمای بیش از حد را بررسی می‌کنند، نیز می‌توانند در ایمپلنت تعبیه شوند. در حالی که ایمنی تضمین شده داوطلبان در هر مطالعه انسانی اولیه نمی‌تواند تضمین شود، آزمایش ایمنی پیش‌بالینی، آزمایش و نظارت در طی مطالعات می‌تواند خطرات را به حداقل و ایمنی را به حداکثر برسانند. به دلیل ماهیت هر نوع آزمایش اپتوژنتیکی که با تغییرات دائمی در مغز همراه است، ملاحظات اخلاقی در خصوص تأثیر روانی بر بیماران نیز باید در نظر گرفته شود. بیماران نیازمند درمان‌های تجربی جدید، احتمالاً به شدت تحت تأثیر وضعیت خود قرار می‌گیرند که تأثیر آن ممکن است برای یک دوره

مبتلا به رتینیت پیگمانتوزا^۱ در مقایسه با روش‌های سنتی در حال توسعه هستند. تکنیک‌های اپتوژنتیک در مدیریت درد نویدبخش بوده‌اند. محققان توانسته‌اند با هدف قراردادن نورون‌های خاص درگیر در مسیر درد، سیگنال‌های درد را در مدل‌های حیوانی مدوله کنند. این امر برای بیماران با درد مزمن که با روش‌های سنتی تسکین پیدا نکرده‌اند، کاربردهای بالقوه‌ای دارد. اپتوژنتیک به عنوان درمانی برای صرع در حال بررسی است. هدف دانشمندان علوم اعصاب مهار تشنج با استفاده از نور برای کنترل نورون‌های بیش فعال است. مطالعات حیوانی نتایج امیدوارکننده‌ای را نشان داده‌اند و پژوهشگران در حال تلاش برای انتقال این یافته‌ها به آزمایش‌های انسانی هستند. آن‌ها از اپتوژنتیک در مدل‌های حیوانی برای هدف قرار دادن مدارهای عصبی خاص و بازایی عملکرد حرکتی برای مطالعه و درمان بیماری پارکینسون نیز استفاده کرده‌اند. همچنین مطالعه مکانیسم‌های عصبی زمینه‌ساز اختلالات روان‌پزشکی مانند افسردگی و اضطراب، به کمک اپتوژنتیک امکان‌پذیر است. محققان می‌توانند با دستکاری دقیق نواحی خاص مغز علل این اختلالات را تشخیص دهند و درمان‌های بالقوه را بررسی کنند. تکنیک‌های اپتوژنتیک با امکان‌پذیر کردن نقشه‌برداری دقیق مدارهای عصبی مغز، به متخصصان این فرصت را می‌دهند که نقش مناطق مختلف مغز را در رفتارها و بیماری‌ها مطالعه نمایند [۱۶۷-۱۶۹].

لیکن، هر گونه کاربرد بالینی اپتوژنتیک نیازمند استفاده از یک وکتور یا ناقل ویروسی برای انتقال اپسین انتخابی به بافت هدف است. انتخاب وکتور به چندین عامل بستگی دارد، از جمله نوع سلول مطالعه‌شده و میزان دسترسی به بافت هدف. اختلالات سیستم عصبی مرکزی در مقایسه با بافت‌های دیگر، چالش‌های عمده بیشتری را برای استفاده اپتوژنتیک به همراه دارند. وکتور ویروسی باید به طور مستقیم و در طول یک عمل جراحی به داخل مغز تزریق شود. همچنین سطح بیان از یک تزریق منفرد، باید برای دستیابی به یک نتیجه بالینی کافی باشد؛ زیرا تکرار تزریق در مغز امکان‌پذیر نیست. بنابراین ضروری است که وکتور ویروسی انتخاب شده، بتواند بیان طولانی مدت اپسین را ایجاد کند. یک دستگاه پزشکی قابل کاشت نیز برای تحویل تحریک نوری کافی با هدف ایجاد یک اثر بالینی، بدون آسیب رساندن به بافت مغز تحت آزمایش، مورد نیاز است. همچنین مکانیزم‌های اپتوژنتیک کنترل کوتاه

2 Blood-brain barrier
3 Interleukins

1 Retinitis Pigmentosa

زمانی طولانی باشد [۱۷۲].

درحالی که اکثر کاربردهای فعلی اپتوژنتیک در مرحله آزمایش‌های بالینی اولیه یا پیش بالینی هستند، نوید درمان‌های هدفمندتر و موثرتر برای بیماری‌های عصبی مختلف قابل توجه است. اپتوژنتیک امکان توسعه تکنیک‌های بهبودیافته برای درمان و درک بهتر پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماری‌ها را فراهم می‌کند.

نتیجه‌گیری

ادغام اپتوژنتیک و فناوری ایجاد نور الگویی، با فراهم آوردن امکان کنترل فعالیت‌های عصبی با دقت مکانی و زمانی بالا، زمینه تحقیقاتی علوم اعصاب را متحول نموده است. این مطالعه مروری، تاثیر دگرگون کننده اپتوژنتیک را در درک و دستکاری مدارهای عصبی برجسته کرده است. پیاده‌سازی تابش الگویی با استفاده از تکنولوژی‌هایی مانند لیزرهای اسکن، مدولاتورهای کریستال مایع و قطعه میکروآینه دیجیتال ابزارهای در دسترس محققان را برای کاوش اختلالات عصبی گسترش داده است. هر تکنولوژی مزایای منحصر به فردی را به همراه دارد: از دقت پرسرعت لیزرهای اسکن؛ قابلیت‌های مدولاسیون در مقیاس

خاکستری مدولاتورهای کریستال مایع تا مقرون به صرفه بودن و سهولت ادغام DMD. از طرف دیگر پیشرفت ادوات اپتیکی از جمله آرایه‌های فیبر نوری و موجبرها نیز تحریک الگویی جمعیت‌های عصبی هدف را بهبود بخشیده و کنترل پیچیده‌تر و موضعی‌تری را امکان‌پذیر نموده است. همچنین ظهور میکرودیویدهای گسیل کننده نور به عنوان جهشی قابل توجه، راه حلی مقیاس‌پذیر و انعطاف‌پذیر برای آزمایش‌های بافت زنده با حداقل تاثیر تهاجمی بوده است. در عین حال که زمینه تحریک نوری عصبی به تکامل خود ادامه می‌دهد، ادغام با این فناوری‌های متنوع بدون شک به رویکردهای پیچیده‌تر و موثرتری برای مطالعه دینامیک عصبی و تاثیرگذاری بر آن منجر می‌شود. همکاری مستمر بین مهندسان، دانشمندان علوم اعصاب و زیست‌شناسان برای غلبه بر محدودیت‌های فعلی و ایجاد امکانات جدید برای مداخله‌های درمانی و درک عملکردهای پیچیده مغز ضروری است. در نتیجه، ترکیب اپتوژنتیک و تحریک نوری الگویی زیربنای علوم اعصاب مدرن و نویدبخش آینده‌ای است که در آن کنترل دقیق مدارهای عصبی می‌تواند راه را برای کشف‌های پیشگامانه و درمان‌های نوآورانه اختلالات عصبی هموار سازد.

References

- [1] Chen, W., Li, C., Liang, W., Li, Y., Zou, Z., Xie, Y., et al. (2022). The Roles of Optogenetics and Technology in Neurobiology: A Review. *Front Aging Neurosci*, 14, 867863. DOI: 10.3389/fnagi.2022.867863.
- [2] Wells, J., Kao, C., Konrad, P., Milner, T., Kim, J., Mahadevan-Jansen, A., et al. (2007). Biophysical Mechanisms of Transient Optical Stimulation of Peripheral Nerve. *Biophysical Journal*, 93(7), 2567-80. DOI: 10.1529/biophysj.107.104786.
- [3] Wang, J., Wagner, F., Borton, D. A., Zhang, J., Ozden, I., Burwell, R. D., et al. (2012). Integrated Device for Combined Optical Neuromodulation and Electrical Recording for Chronic in vivo Applications. *Journal of Neural Engineering*, 9(1), 016001. DOI: 10.1088/1741-2560/9/1/016001.
- [4] Jiang, S., Wu, X., Rommelfanger, N. J., Ou, Z., Hong, G. (2022). Shedding Light on Neurons: Optical Approaches for Neuromodulation. *National Science Review*, 9(10), nwac007. DOI: 10.1093/nsr/nwac007.
- [5] Soleimani, G., Nitsche, M. A., Bergmann, T. O., Towhidkhah, F., Violante, I. R., Lorenz, R., et al. (2023). Closing the Loop Between Brain and Electrical Stimulation: Towards Precision Neuromodulation Treatments. *Translational Psychiatry*, 13(1), 279. DOI: 10.1038/s41398-023-02565-5.
- [6] Nag, S., Thakor, N. V. (2016). Implantable Neurotechnologies: Electrical Stimulation and

منابع

- Applications. *Med Biol Eng Comput*, 54(1), 63-76. DOI: 10.1007/s11517-015-1442-0.
- [7] Richter, C. P., Matic, A. I., Wells, J. D., Jansen, E. D., Walsh, J. T. (2011). Neural Stimulation with Optical Radiation. *Laser Photonics Rev*, 5(1), 68-80. DOI: 10.1002/lpor.200900044.
- [8] Thompson, A. C., Stoddart, P. R., Jansen, E. D. (2014). Optical Stimulation of Neurons. *Current Molecular Imaging*, 3(2), 162-177. DOI: 10.2174/2211555203666141117220611.
- [9] Richter, C. R., Tan, X. (2014). Photons and Neurons. *Hear Res*, 311, 72-88.
- [10] Ellis-Davies, G. (2007). Caged Compounds: Photorelease Technology for Control of Cellular Chemistry and Physiology. *Nat Methods*, 4, 619-628. DOI: 10.1038/nmeth1072.
- [11] Amatruddo, J. M., Olson, J. P., Agarwal, H. K., Ellis-Davies, G. C. (2015). Caged Compounds for Multichromatic Optical Interrogation of Neural Systems. *Eur J Neurosci*, 41(1), 5-16. DOI: 10.1111/ejn.12785.
- [12] Ellis-Davies, G. C. R. (2020). Useful Caged Compounds for Cell Physiology. *Acc Chem Res*, 18, 53(8):1593-1604. DOI: 10.1021/acs.accounts.0c00292.
- [13] Park, Y., Park, S. Y., Eom, K. (2021). Current Review of Optical Neural Interfaces for Clinical Applications. *Micromachines*, 12(8), 925. DOI: 10.3390/mi12080925.
- [14] Stein, I. S., Hill, T. C., Oh, W. C., Parajuli, L. K., Zito, K. (2019). Two-Photon Glutamate Uncaging

- to Study Structural and Functional Plasticity of Dendritic Spines. In: Hartveit, E. (eds) Multiphoton Microscopy. *Neuromethods*, 148. Humana, New York, NY. DOI: 10.1007/978-1-4939-9702-2_4.
- [15] Godwin, D. W., Che, D., O'Malley, D. M., Zhou, Q. (1997). Photostimulation with Caged Neurotransmitters Using Fiber Optic Lightguides. *J Neurosci Methods*, 73(1), 91-106. DOI: 10.1016/s0165-0270(96)02208-x.
- [16] Kramer, R. H., Fortin, D. L., Trauner, D. (2009). New Photochemical Tools for Controlling Neuronal Activity. *Curr Opin Neurobiol*, 19(5):544-52. DOI: 10.1016/j.conb.2009.09.004.
- [17] Weinstein, R., Slanina, T., Kand, D., Klán, P. (2020). Visible-to-NIR-Light Activated Release: From Small Molecules to Nanomaterials. *Chem Rev*, 120(24), 13135-13272. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c00663.
- [18] Klausen, M., Blanchard-Desce, M. (2021). Two-photon Uncaging of Bioactive Compounds: Starter Guide to an Efficient IR Light Switch. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 48, 100423. DOI: 10.1016/j.jphotochemrev.2021.100423.
- [19] Avramopoulos, A., Reis, H., Tzeli, D., Zaleśny, R., Papadopoulos, M. G. (2023). Photoswitchable Molecular Units with Tunable Nonlinear Optical Activity: A Theoretical Investigation. *Molecules*, 28(15), 5646. DOI: 10.3390/molecules28155646.
- [20] Banghart, M., Borges, K., Isacoff, E., Trauner, D., Kramer, R. H. (2004). Light Activated Ion Channels for Remote Control of Neuronal Firing. *Nat Neurosci*, 7(12), 1381-1386. DOI: 10.1038/nn1356.
- [21] Fino, E., Araya, R., Peterka, D. S., Salierno, M., Etchenique, R., Yuste, R. (2009). RuBi-Glutamate: Two-Photon and Visible-Light Photoactivation of Neurons and Dendritic spines. *Front Neural Circuit*, 3(2). DOI: 10.3389/neuro.04.002.2009.
- [22] Beharry, A. A., Woolley, G. A. (2011). Azobenzene Photoswitches for Biomolecules. *Chem Soc Rev*, 40(8), 4422. DOI: 10.1039/C1CS15023E.
- [23] Garrido-Charles, A., Huet, A., Matera, C., Thirumalai, A., Hernando, J., Llebaria, A., et al. (2022). Fast Photoswitchable Molecular Prosthetics Control Neuronal Activity in the Cochlea. *J Am Chem Soc*, 144(21), 9229-9239. DOI: 10.1021/jacs.1c12314.
- [24] Shapiro, M. G., Homma, K., Villarreal, S., Richter, C. P., Bezanilla, F. (2012). Infrared Light Excites Cells by Changing Their Electrical Capacitance. *Nature Commun*, 3, 736. DOI: 10.1038/ncomms1742.
- [25] Richardson, R. T., Ibbotson, M. R., Thompson, A. C., Wise, A. K., Fallon, J. B. (2020). Optical Stimulation of Neural Tissue. *Healthc Technol Lett*, 7(3), 58-65. DOI: 10.1049/htl.2019.0114.
- [26] Chernov, M., Roe, A. W. (2014). Infrared Neural Stimulation: A New Stimulation Tool for Central Nervous System Applications. *Neurophotonics*, 1(1), 011011. DOI: 10.1117/1.NPh.1.1.011011.
- [27] Song, P., Li, S., Hao, W., Wei, M., Liu, J., Lin, H., et al. (2021). Corticospinal Excitability Enhancement with Simultaneous Transcranial Near-infrared Stimulation and Anodal Direct Current Stimulation of Motor Cortex. *Clin. Neurophysiol*, 132(5), 1018-1024. DOI: 10.1016/j.clinph.2021.01.020.
- [28] Geng, J., Li, S., Wang, S., Huang, C., Lyu, Y., Hu, R., et al. (2020). Stimulating Ca²⁺ Photoactivation of Nerve Cells by Near-infrared Light. *Acta Physica Sinica*, 69(15), 158701. DOI: 10.7498/aps.69.20200489.
- [29] Albert, E. S., Bec, J. M., Desmadryl, G., Chekroud, K., Travo, C., Gaboyard, S., et al. (2012). TRPV4 Channels Mediate the Infrared Laser Evoked Response in Sensory Neurons. *Neurophysiol*, 107(12), 3227-3234. DOI: 10.1152/jn.00424.2011.
- [30] Wells, J., Kao, C., Jansen, E. D., Konrad, P., Mahadevan-Jansen, A. (2005). Application of Infrared Light for In Vivo Neural Stimulation. *J Biomed Opt*, 10(6), 064003. DOI: 10.1117/1.2121772.
- [31] Zhang, J., He, Y., Liang, S., Liao, X., Li, T., Qiao, Z., et al. (2021). Non-invasive, Opsin-free Mid-infrared Modulation Activates Cortical Neurons and Accelerates Associative Learning. *Nat. Commun*, 12(1), 2730. DOI: 10.1038/s41467-021-23025-y.
- [32] Liu, X., Qiao, Z., Chai, Y., Zhu, Z., Wu, K., Ji, W., et al. (2021). Nonthermal and Reversible Control of Neuronal Signaling and Behavior by Midinfrared Stimulation. *Proc Natl Acad Sci*, 118(10), e2015685118. DOI: 10.1073/pnas.2015685118.
- [33] Kawasaki, T., Yaji, T., Ohta, T., Tsukiyama, K., Nakamura, K. (2018). Dissociation of β -Sheet Stacking of Amyloid β Fibrils by Irradiation of Intense, Short-Pulsed Mid-infrared Laser. *Cell Mol Neurobiol*, 38(5), 1039-1049. DOI: 10.1007/s10571-018-0575-8.
- [34] Xu, Y., Magnuson, M., Agarwal, A., Tan, X., Richter, C. P. (2021). Infrared Neural Stimulation at Different Wavelengths and Pulse Shapes. *Prog Biophys Mol Biol*, 162, 89-100. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2020.12.004.
- [35] Tian, L., Wang, J., Wei, Y., Lu, J., Xu, A., Xia, M. (2017). Short-wavelength Infrared Laser Activates the Auditory Neurons: Comparing the Effect of 980 vs. 810 nm Wavelength. *Lasers Med. Sci*, 32(2), 357-362. DOI: 10.1007/s10103-016-2123-4.
- [36] Thompson, A. C., Wade, S. A., Brown, W. G., Stoddart, P. R. (2012). Modeling of Light Absorption in Tissue During Infrared Neural Stimulation. *J Biomed Opt*, 17(7), 075002. DOI: 10.1117/1.JBO.17.7.075002.
- [37] Chernov, M. M., Chen, G., Roe, A. W. (2014). Histological Assessment of Thermal Damage in the Brain Following Infrared Neural Stimulation. *Brain Stimul*, 7(3), 476-482. DOI: 10.1016/j.brs.2014.01.006.
- [38] Goyal, V., Rajguru, S., Matic, A. I., Stock, S. R., Richter, C. P. (2012). Acute Damage Threshold for Infrared Neural Stimulation of the Cochlea:

- Functional and Histological Evaluation. *Anat Rec*, 295(11), 1987-1999. DOI: 10.1002/ar.22583.
- [39] Thompson, A. C., Wade, S. A., Cadusch, P. J., Brown, W. G., Stoddart, P. R. (2013). Modeling of the Temporal Effects of Heating During Infrared Neural Stimulation. *J Biomed Opt*, 18(3), 035004. DOI: 10.1117/1.JBO.18.3.035004.
- [40] Paviolo, C., Thompson, A. C., Yong, J., Brown, W. G., Stoddart, P. R. (2014). Nanoparticle-enhanced Infrared Neural Stimulation. *J Neural Eng*, 11(6), 065002. DOI: 10.1088/1741-2560/11/6/065002.
- [41] Paviolo, C., Stoddart, P. R. (2017). Gold Nanoparticles for Modulating Neuronal Behavior. *Nanomaterials (Basel)*, 7(4), 92. DOI: 10.3390/nano7040092.
- [42] Farah, N., Zoubi, A., Matar, S., Golan, L., Marom, A., Butson, C. R., et al. (2013). Holographically Patterned Activation Using Photo-absorber Induced Neural-thermal Stimulation. *J Neural Eng*, 10(5), 056004. DOI: 10.1088/1741-2560/10/5/056004.
- [43] Paviolo, C., McArthur, S. L., Stoddart, P. R. (2015). Gold nanorod-assisted Optical Stimulation of Neuronal Cells. *J Vis Exp*, 98, e52566. DOI: 10.3791/52566.
- [44] Lavoie-Cardinal, F., Salesse, C., Bergeron, É., Meunier, M., Koninck, P. D. (2016). Gold Nanoparticle-assisted All Optical Localized Stimulation and Monitoring of Ca^{2+} Signaling in Neurons. *Sci Rep*, 6, 20619. DOI: 10.1038/srep20619.
- [45] Eom, K., Kim, J., Choi, J. M., Kang, T., Chang, J. W., Byun, K. M., et al. (2014). Enhanced Infrared Neural Stimulation Using Localized Surface Plasmon Resonance of Gold Nanorods. *Small*, 10(19), 3853-7. DOI: 10.1002/sml.201400599.
- [46] Liu, J., Li, J., Zhang, S., Ding, M., Yu, N., Li, J., et al. (2022). Antibody-conjugated Gold Nanoparticles as Nanotransducers for Second Near-infrared Photo-stimulation of Neurons in Rats. *Nano Conver*, 9(1), 13. DOI: 10.1186/s40580-022-00304-y.
- [47] Eom, K., Byun, K. M., Jun, S. B., Kim, S. J., Lee, J. (2018). Theoretical Study on Gold-Nanorod-Enhanced Near-Infrared Neural Stimulation. *Biophys J*, 115(8), 1481-1497. DOI: 10.1016/j.bpj.2018.09.004.
- [48] Deisseroth, K. (2015). Optogenetics: 10 Years of Microbial Opsins in Neuroscience. *Nat Neurosci*, 18, 1213-1225. DOI: 10.1038/nn.4091.
- [49] Delbeke, J., Hoffman, L., Mols, K., Braeken, D., Prodanov, D. (2017). And Then There Was Light: Perspectives of Optogenetics for Deep Brain Stimulation and Neuromodulation. *Front Neurosci*, 11, 663. DOI: 10.3389/fnins.2017.00663.
- [50] Emiliani, V., Entcheva, E., Hedrich, R., Hegemann, P., Konrad, K. R., Lüscher, C., et al. (2022). Optogenetics for Light Control of Biological Systems. *Nat Rev Methods Primers*, 2(55). DOI: 10.1038/s43586-022-00136-4.
- [51] Friedman, J. M. (2021). How the Discovery of Microbial Opsins Led to the Development of Optogenetics. *Cell*, 184(21), 5266-5270. DOI: 10.1016/j.cell.2021.08.022.
- [52] Sridharan, S., Gajowa, M. A., Ogando, M. B., Jagadisan, U. K., Abdeladim, L., Sadahiro, M., et al. (2022). High-performance Microbial Opsins for Spatially and Temporally Precise Perturbations of Large Neuronal Networks. *Neuron*, 110(7), 1139-1155. DOI: 10.1016/j.neuron.2022.01.008.
- [53] Nagel, G., Szellas, T., Huhn, W., Kateriya, S., Adeishvili, N., Berthold, P., et al. (2003). Channelrhodopsin-2, a Directly Light-gated Cation-selective Membrane Channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 13940-13945. DOI: 10.1073/pnas.1936192100.
- [54] Boyden, E., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., Deisseroth, K. (2005). Millisecond-timescale, Genetically Targeted Optical Control of Neural Activity. *Nat Neurosci*, 8, 1263-1268. DOI: 10.1038/nn1525.
- [55] Mahmoudi, P., Veladi, H., Pakdel, F. G. (2017). Optogenetics, Tools and Applications in Neurobiology. *J Med Signals Sens*, 7(2), 71-79. PMID: 28553579; PMCID: PMC5437765.
- [56] Shemesh, O. A., Tanese, D., Zampini, V., Linghu, C., Piatkevich, K., Ronzitti, E., et al. (2017). Temporally Precise Single-cell-resolution Optogenetics. *Nat Neurosci*, 20, 1796-1806. DOI: 10.1038/s41593-017-0018-8.
- [57] Gunaydin, L. A., Yizhar, O., Berndt, A., Sohal, V. S., Deisseroth, K., Hegemann P. (2010). Ultrafast Optogenetic Control. *Nat Neurosci*, 13(3), 387-392. DOI: 10.1038/nn.2495.
- [58] Zhang, F., Wang, L. P., Brauner, M., Liewald, J. F., Kay, K., Watzke N, et al. (2007). Multimodal Fast Optical Interrogation of Neural Circuitry. *Nature*, 446, 633-639. DOI: 10.1038/nature05744.
- [59] Gradinaru, V., Zhang, F., Ramakrishnan, C., Mattis, J., Prakash, R., Diester, I., et al. (2010). Molecular and Cellular Approaches for Diversifying and Extending Optogenetics. *Cell*, 141(1), 154-165. DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.037.
- [60] Feuda, R., Menon, A. K., Göpfert, M. C. (2022). Rethinking Opsins. *Molecular Biology and Evolution*, 39(3), msac033. DOI: 10.1093/molbev/msac033.
- [61] Altahini, S., Arnoux, I., Stroh, A. (2023). Optogenetics 2.0: Challenges and Solutions Towards a Quantitative Probing of Neural Circuits. *Biol Chem*, 405(1), 43-54. DOI: 10.1515/hsz-2023-0194.
- [62] Jacques, S. L. (2013). Optical Properties of Biological Tissues: A Review. *Phys Med Biol*, 58(11), R37-61. DOI: 10.1088/0031-9155/58/11/R37.
- [63] Favre-Bulle, I. A., Preece, D., Nieminen, T. A., Heap, L. A., Scott, E. K., Rubinsztein-Dunlop, H. (2015). Scattering of Sculpted Light in Intact Brain Tissue, with Implications for Optogenetics. *Sci Rep*, 5, 11501. DOI: 10.1038/srep11501.
- [64] Li, Z., Zheng, Y., Diao, X., Li, R., Sun, N., Xu, Y., et al. (2023). Robust and Adjustable Dynamic Scattering Compensation for High-precision Deep Tissue Optogenetics. *Commun Biol*, 6, 128. DOI: 10.1038/s42003-023-04487-w.
- [65] Yona, G., Meitav, N., Kahn, I., Shoham, S. (2016). Realistic Numerical and Analytical

- Modeling of Light Scattering in Brain Tissue for Optogenetic Applications (1,2,3). *ENeuro*, 3(1), ENEURO.0059-15.2015. DOI: 10.1523/ENEURO.0059-15.2015.
- [66] Lehtinen, K., Nokia, M. S., Takala, H. (2022). Red Light Optogenetics in Neuroscience. *Front Cell Neurosci*, 15, 778900. DOI: 10.3389/fncel.2021.778900.
- [67] Zhang, F., Vierock, J., Yizhar, O., Fenno, L. E., Tsunoda, S., Kianianmomeni, A., et al. (2011). The Microbial Opsin Family of Optogenetic Tools. *Cell*, 147(7), 1446-57.
- [68] Guru, A., Post, R. J., Ho, Y. Y., Warden, M. R. (2015). Making Sense of Optogenetics. *Int J Neuropsychopharmacol*, 18(11), pyv079. DOI: 10.1093/ijnp/pyv079.
- [69] Rindner, D. J., Lur, G. (2023). Practical Considerations in an Era of Multicolor Optogenetics. *Front Cell Neurosci*, 17, 1160245. DOI: 10.3389/fncel.2023.1160245.
- [70] Lin, J., Knutsen, P., Muller, A., Kleinfeld, K., Tsien, R. Y. (2013). ReaChR: A Red-shifted Variant of Channelrhodopsin Enables Deep Transcranial Optogenetic Excitation. *Nat Neurosci*, 16, 1499-1508. DOI: 10.1038/nn.3502.
- [71] Igarashi, H., Ikeda, K., Onimaru, H., Kaneko, R., Koizumi, K., Beppu, K., et al. (2018). Targeted Expression of Step-function Opsins in Transgenic Rats for Optogenetic Studies. *Sci Rep*, 8, 5435. DOI: 10.1038/s41598-018-23810-8.
- [72] Gong, X., Mendoza-Halliday, D., Ting, J. T., Kaiser, T., Sun, X., Bastos, A. M., et al. (2020). An Ultra-Sensitive Step-function Opsin for Minimally Invasive Optogenetic Stimulation in Mice and Macaques. *Neuron*, 107(1), 197. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.06.018.
- [73] Berndt, A., Lee, S. Y., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K. (2014). Structure-Guided Transformation of Channelrhodopsin into a Light-Activated Chloride Channel. *Science*, 344(6182), 420-424. DOI: 10.1126/science.1252367.
- [74] Zhang, F., Gradinaru, V., Adamantidis, A. R., Durand, R., Airan, R. D., Lecea, L. D., et al. (2010). Optogenetic Interrogation of Neural Circuits: Technology for Probing Mammalian Brain Structures. *Nat Protoc*, 5, 439-456. DOI: 10.1038/nprot.2009.226.
- [75] Cardin, J. A., Carlen, M., Meletis, K., Knoblich, U., Zhang, F., Deisseroth, K., et al. (2010). Targeted Optogenetic Stimulation and Recording of Neurons In Vivo Using Cell-type-specific Expression of Channelrhodopsin-2. *Nat Protoc*, 5, 247-254. DOI: 10.1038/nprot.2009.228.
- [76] Fenno, L., Yizhar, O., Deisseroth, K. (2011). The Development and Application of Optogenetics. *Annu Rev Neurosci*, 34, 389-412. DOI: 10.1146/annurev-neuro-061010-113817.
- [77] Packer, A. M., Roska, B., Hausser, M. (2013). Targeting Neurons and Photons for Optogenetics. *Nat Neurosci*, 16, 805-815. DOI: 10.1038/nn.3427.
- [78] Heiney, S. A., Kim, J., Augustine, G. J., Medina, J. F. (2014). Precise Control of Movement Kinematics by Optogenetic Inhibition of Purkinje cell activity. *J Neurosci*, 34(6), 2321-30. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4547-13.2014.
- [79] Liu, X., Ramirez, S., Pang, P. T., Puryear, C. B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., et al. (2012). Optogenetic Stimulation of a Hippocampal Engram Activates Fear Memory Recall. *Nature*, 484, 381-385. DOI: 10.1038/nature11028.
- [80] Prakash, R., Yizhar, O., Grewe, B., Ramakrishnan, C., Wang, N., Goshen, I., et al. (2012). Two-photon Optogenetic Toolbox for Fast Inhibition, Excitation and Bistable Modulation. *Nat Methods*, 9(12), 1171-9. DOI: 10.1038/nmeth.2215.
- [81] Papagiakoumou, E., Anselmi, F., Begue, A., De Sars, V., Gluckstad, J., Isacoff, E. Y., et al. (2010). Scanless Two-photon Excitation of Channelrhodopsin-2. *Nat Methods*, 7(10), 848-54. DOI: 10.1038/nmeth.1505.
- [82] Papagiakoumou, E. (2013). Optical Developments for Optogenetics. *Biol Cell*, 105(10), 443-464. DOI: 10.1111/boc.201200087.
- [83] Yang, S. J., Allen, W. E., Kauvar, I., Andalman, A. S., Young, N. P., Kim, C. K., et al. (2015). Extended Field-of-view and Increased-signal 3D Holographic Illumination with Time-division Multiplexing. *Opt Express*, 23(25), 32573-32581. DOI: 10.1364/OE.23.032573.
- [84] Katz, L. C., Dalva, M. B. (1994). Scanning Laser Photostimulation: A New Approach for Analyzing Brain Circuits. *J Neurosci Methods*, 54(2), 205-18. DOI: 10.1016/0165-0270(94)90194-5.
- [85] Ronzitti, E., Emiliani, V., Papagiakoumou, E. (2018). Methods for Three-Dimensional All-Optical Manipulation of Neural Circuits. *Front Cell Neurosci*, 12, 469. DOI: 10.3389/fncel.2018.00469.
- [86] Ikrar, T., Olivas, N. D., Shi, Y., Xu, X. (2011). Mapping Inhibitory Neuronal Circuits by Laser Scanning Photostimulation. *J Vis Exp*, 56, 3109. DOI: 10.3791/3109.
- [87] Lillis, K. P., Eng, A., White, J. A., Mertz, J. (2008). Two-photon Imaging of Spatially Extended Neuronal Network Dynamics with High Temporal Resolution. *J Neurosci Methods*, 172(2), 178-84. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2008.04.024.
- [88] Salomé, R., Kremer, Y., Dieudonné, S., Léger, J. F., Krichevsky, O., Wyart, C., et al. (2006). Ultrafast Random-access Scanning in Two-photon Microscopy Using Acousto-optic Deflectors. *J Neurosci Methods*, 154, 161-74. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2005.12.010.
- [89] Petreanu, L., Mao, T., Sternson, S. M., Svoboda, K. (2009). The Subcellular Organization of Neocortical Excitatory Connections. *Nature*, 457(7233), 1142-5. DOI: 10.1038/nature07709.
- [90] Wang, H., Peca, J., Matsuzaki, M., Matsuzaki, K., Noguchi, J., Qiu, L., et al. (2007). High-speed Mapping of Synaptic Connectivity Using Photostimulation in Channelrhodopsin-2 Transgenic Mice. *Proc Natl Acad Sci*, 104(19), 8143-8. DOI: 10.1073/pnas.0700384104.
- [91] Ricci, P., Sancataldo, G., Gavryusev, V., Pavone, F. S., Saggau, P., Duocastella, M. (2024). Acousto-optic Deflectors in Experimental Neuroscience: Overview of Theory and Applications. *J Phys*

- Photonics*, 6, 022001. DOI: 10.1088/2515-7647/ad2e0d.
- [92] Bullen, A., Patel, S. S., Saggau, P. (1997). High-speed, Random-access Fluorescence Microscopy: I. High-resolution Optical Recording with Voltage-sensitive Dyes and Ion Indicators. *Biophys J*, 73(1), 477–491. DOI: 10.1016/S0006-3495(97)78086-X.
- [93] Losavio, B. E., Iyer, V., Saggau, P. (2009). Two-photon Microscope for Multisite Microphotolysis of Caged Neurotransmitters in Acute Brain Slices, *J Biomed Opt*, 14(6), 64033. DOI: 10.1117/1.3275468.
- [94] Shoham, S., O'Connor, D. H., Sarkisov, D. V., Wang, S. S-H. (2005). Rapid Neurotransmitter Uncaging in Spatially Defined Patterns. *Nat Methods*, 2, 837–843. DOI: 10.1038/nmeth793.
- [95] Otsu, Y., Bormuth, V., Wong, J., Mathieu, B., Dugué, G. P., Feltz, A., et al. (2008). Optical Monitoring of Neuronal Activity at High Frame Rate with a Digital Random-access Multiphoton (RAMP) Microscope. *J Neurosci Methods*, 173(2), 259–70. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2008.06.015.
- [96] Lin, J. Y., Lin, M. Z., Steinbach, P., Tsien, R. Y. (2009). Characterization of Engineered Channelrhodopsin Variants with Improved Properties and Kinetics. *Biophys J*, 96(5), 1803–14. DOI: 10.1016/j.bpj.2008.11.034.
- [97] Wang, K., Liu, Y., Li, Y., Guo, Y., Song, P., Zhang, X., et al. (2011). Precise Spatiotemporal Control of Optogenetic Activation Using an Acousto-optic Device. *PLoS One*, 6(12), e28468. DOI: 10.1371/journal.pone.0028468.
- [98] Wang, K., Gong, J., Wang, Q., Li, H., Cheng, Q., Liu, Y., et al. (2014). Parallel Pathways Convey Olfactory Information with Opposite Polarities in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci*, 111(8), 3164–9. DOI: 10.1073/pnas.1317911111.
- [99] Katona, G., Szalay, G., Maák, P., Kaszás, A., Veress, M., Hillier, D., et al. (2012). Fast Two-photon in Vivo Imaging with Three-dimensional Random-access Scanning in Large Tissue Volumes. *Nat Methods*, 9(2), 201–8. DOI: 10.1038/nmeth.1851.
- [100] Szalay, G., Judák, L., Katona, G., Ócsai, K., Juhász, G., Veress, M., et al. (2016). Fast 3D Imaging of Spine, Dendritic, and Neuronal Assemblies in Behaving Animals. *Neuron*, 92(4), 723–738. DOI: 10.1016/j.neuron.2016.10.002.
- [101] Nadella, K. M., Roš, H., Baragli, C., Griffiths, V. A., Konstantinou, G., Koimtzis, T., et al. (2016). Random Access Scanning Microscopy for 3D Imaging in Awake Behaving Animals. *Nat Methods*, 13(12), 1001–1004. DOI: 10.1038/nmeth.4033.
- [102] Zhang, Z., You, Z., Chu, D. (2014). Fundamentals of Phase-only Liquid Crystal on Silicon (LCOS) Devices. *Light Sci Appl*, 3, e213. DOI: 10.1038/lsa.2014.94.
- [103] Márquez, A., Lizana, Á. (2019). Liquid Crystal on Silicon Devices: Modeling and Advanced Spatial Light Modulation Applications. *Appl Sci*, 9(15), 3049. DOI: 10.3390/app9153049.
- [104] Bovetti, S., Fellin, T. (2015). Optical Dissection of Brain Circuits with Patterned Illumination through the Phase Modulation of Light. *J Neurosci Methods*, 241, 66–77. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2014.12.002.
- [105] Lorca-Cámara, A., Blot, F. G. C., Accanto, N. (2024). Recent Advances in Light Patterned Optogenetic Photostimulation in Freely Moving Mice. *Neurophotonics*, 11(Suppl 1): S11508. DOI: 10.1117/1.NPh.11.S1.S11508.
- [106] Turtaev, S., Leite, I. T., Mitchell, K. J., Padgett, M. J., Phillips, D. B., Čížmár, T. (2017). Comparison of Nematic Liquid-crystal and DMD Based Spatial Light Modulation in Complex Photonics. *Opt Express*, 25(24), 29874–29884. DOI: 10.1364/OE.25.029874.
- [107] Yang, Y. Q., Forbes, A., Cao, L. C. (2023). A Review of Liquid Crystal Spatial Light Modulators: Devices and Applications. *Opto-Electron Sci*, 2(8), 230026. DOI: 10.29026/oes.2023.230026.
- [108] Pégard, N. C., Mardinly, A. R., Oldenburg, I. A., Sridharan, S., Waller, L., Adesnik, H. (2017). Three-dimensional Scanless Holographic Optogenetics with Temporal Focusing (3D-SHOT). *Nat Commun*, 8, 1228. DOI: 10.1038/s41467-017-01031-3.
- [109] Aghayee, S., Weikert, M., Alvarez, P., Frank, G. A. (2021). High Fidelity Spatial Light Modulator Configuration for Photo-Stimulation. *Front Phys Sec Optics and Photonics*, 9, 2021. DOI: 10.3389/fphy.2021.587112.
- [110] Introduction to Digital Micromirror Device (DMD) Technology, DMD 101. (2008). Application Report. Texas: Texas Instruments Inc.
- [111] Dudley D, Duncan W M, Slaughter J. (2003). Emerging Digital Micromirror Device (DMD) Applications. *Proc SPIE MOEMS Display and Imaging Systems*, 4985. DOI: 10.1117/12.480761.
- [112] Zhuang, Z., Ho, H. P. (2020). Application of Digital Micromirror Devices (DMD) in Biomedical Instruments. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 13(6), 2030011. DOI: 10.1142/S1793545820300116.
- [113] Arens-Arad, T., Farah, N., Ben-Yaish, S., Zlotnik, A., Zalevsky, Z., Mandel, Y. (2016). Head Mounted DMD Based Projection System for Natural and Prosthetic Visual Stimulation in Freely Moving Rats. *Sci Rep*, 6, 34873. DOI: 10.1038/srep34873.
- [114] Bhatia, A., Moza, S., Bhalla, U. S. (2021). Patterned Optogenetic Stimulation Using a DMD Projector. *Methods Mol Biol*, 2191, 173–188. DOI: 10.1007/978-1-0716-0830-2_11.
- [115] Zhu, P., Fajardo, O., Shum, J., Zhang Schäfer, Y. P., Friedrich, R. W. (2012). High-resolution Optical Control of Spatiotemporal Neuronal Activity Patterns in Zebrafish Using a Digital Micromirror Device. *Nat Protoc*, 7(7), 1410–25. DOI: 10.1038/nprot.2012.072.
- [116] Allen, J. (2017). Application of Patterned Illumination Using a DMD for Optogenetic Control of Signaling. *Nat Methods*, 14, 1114. DOI: 10.1038/nmeth.f.402.
- [117] Popoff, S. M., Bromberg, Y., Matthès, M. W., Gutiérrez-Cuevas, R. (2024). A Practical Guide to Digital Micro-mirror Devices (DMDs) for

- Wavefront Shaping. *J Phys Photonics*, 6, 043001. DOI: 10.1088/2515-7647/ad6dc0.
- [118] Bansal, V., Saggau, P. Digital Micromirror Devices: Principles and Applications in Imaging. (2013). Cold Spring Harb Protoc, 2013(5), 404-11. DOI: 10.1101/pdb.top074302.
- [119] Schmieder, F., Klapper, S. D., Koukourakis, N., Busskamp, V., Czarske, J. W. (2018). Optogenetic Stimulation of Human Neural Networks Using Fast Ferroelectric Spatial Light Modulator—Based Holographic Illumination. *Appl. Sci*, 8(7), 1180. DOI: 10.3390/app8071180.
- [120] Fu, T., Zhang, J., Sun, R., Huang, Y., Xu, W., Yang, S., et al. (2024). Optical Neural Networks: Progress and Challenges. *Light Sci Appl*, 13(1), 263. DOI: 10.1038/s41377-024-01590-3.
- [121] Sakai, S., Ueno, K., Ishizuka, T., Yawo, H. (2013). Parallel and Patterned Optogenetic Manipulation of Neurons in the Brain Slice Using a DMD-based Projector. *Neurosci Res*, 75(1), 59-64. DOI: 10.1016/j.neures.2012.03.009.
- [122] Jerome, J., Foehring, R. C., Armstrong, W. E., Spain, W. J., Heck, D. H. (2011). Parallel Optical Control of Spatiotemporal Neuronal Spike Activity Using High-speed Digital Light Processing. *Front Syst Neurosci*, 5, 70. DOI: 10.3389/fnsys.2011.00070.
- [123] Xue, Y., Waller, L., Adesnik, H., Pégard, N. (2022). Three-dimensional Multi-site Random Access Photostimulation (3D-MAP). *Elife*, 11, e73266. DOI: 10.7554/eLife.73266.
- [124] Zhang, F., Aravanis, A. M., Adamantidis, A., de Lecea, L., Deisseroth, K. (2007). Circuit-breakers: Optical Technologies for Probing Neural Signals and Systems. *Nat Rev Neurosci*, 8, 577-581. DOI: 10.1038/nrn2192.
- [125] Aravanis, A. M., Wang, L. P., Zhang, F., Meltzer, L. A., Mogri, M. Z., Schneider, M. B., et al. (2007). An Optical Neural Interface: In Vivo Control of Rodent Motor Cortex with Integrated Fiberoptic and Optogenetic Technology. *J Neural Eng*, 4(3), S143-56. DOI: 10.1088/1741-2560/4/3/S02.
- [126] Warden, M. R., Cardin, J. A., Deisseroth, K. (2014). Optical Neural Interfaces. *Annu Rev Biomed Eng*, 16, 103-29. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071813-104733.
- [127] Royer, S., Zemelman, B. V., Barbic, M., Losonczy, A., Buzsáki, G., Magee, J. C. (2010). Multi-array Silicon Probes with Integrated Optical Fibers: Light-assisted Perturbation and Recording of Local Neural Circuits in the Behaving Animal. *Eur J Neurosci*, 31(12), 2279-91. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2010.07250.x.
- [128] Zhang, J., Laiwalla, F., Kim, J. A., Urabe, H., Wagenen, R. V., Song, Y. K., et al. (2009). A Microelectrode Array Incorporating an Optical Waveguide Device for Stimulation and Spatiotemporal Electrical Recording of Neural Activity. Conference proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2046-2049. DOI: 10.1109/IEMBS.2009.5333947.
- [129] Pisanello, F., Sileo, L., Oldenburg, I. A., Pisanello, M., Martiradonna, L., Assad, J. A., et al. (2014). Multipoint-emitting Optical Fibers for Spatially Addressable In Vivo Optogenetics. *Neuron*, 82(6), 1245-1254. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.04.041.
- [130] Schwaerzle, M., Elmlinger, P., Paul, O., Ruther, P. (2015). Miniaturized 3×3 Optical Fiber Array for Optogenetics with Integrated 460 nm Light Sources and Flexible Electrical Interconnection. 28th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), Estoril, Portugal, 162-165, DOI: 10.1109/MEMSYS.2015.7050911.
- [131] Kim, E. G. R., Tu, H., Luo, H., Liu, B., Bao, S., Zhang, J., et al. (2015). 3D Silicon Neural Probe with Integrated Optical Fibers for Optogenetic Modulation. *Lab Chip*, 15(14), 2939-2949. DOI: 10.1039/C4LC01472C.
- [132] Vu, M. T., Brown, E. H., Wen, M. J., Noggle, C. A., Zhang, Z., Monk, K. J., et al. (2024). Targeted Micro-fiber Arrays for Measuring and Manipulating Localized Multi-scale Neural Dynamics over Large, Deep Brain Volumes during Behavior. *Neuron*, 112(6), 909-923.e9. DOI: 10.1016/j.neuron.2023.12.011.
- [133] Jiang, S., Patel, D. C., Kim, J., Yang, S., Mills, W. A. 3rd, Zhang, Y., et al. (2020). Spatially Expandable Fiber-based Probes as a Multifunctional Deep Brain Interface. *Nat Commun*, 11(1), 6115. DOI: 10.1038/s41467-020-19946-9.
- [134] Cho, I. J., Baac, H. W., Yoon, E. (2010). A 16-site Neural Probe Integrated with a Waveguide for Optical Stimulation. IEEE 23rd International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), Hong Kong, China, 995-998, DOI: 10.1109/MEMSYS.2010.5442376.
- [135] Schwaerzle, M., Seidl, K., Schwarz, U. T., Paul, O., Ruther, P. (2013). Ultracompact Optrode with Integrated Laser Diode Chips and SU-8 Waveguides for Optogenetic Applications. IEEE 26th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS), Taipei, Taiwan, 1029-1032, DOI: 10.1109/MEMSYS.2013.6474424.
- [136] Zorzos, A. N., Boyden, E. S., Fonstad, C. G. (2010). Multiwaveguide Implantable Probe for Light Delivery to Sets of Distributed Brain Targets. *Opt Lett*, 35(24), 4133-5. DOI: 10.1364/OL.35.004133.
- [137] Zorzos, A. N., Scholvin, J., Boyden, E. S., Fonstad, C. G. (2012). Three-dimensional Multiwaveguide Probe Array for Light Delivery to Distributed Brain Circuits. *Opt Lett*, 37(23), 4841-3. DOI: 10.1364/OL.37.004841.
- [138] Abaya, T. V. F., Diwekar, M., Blair, S., Tathireddy, P., Rieth, L., Solzbacher, F. (2014). Deep-tissue Light Delivery via Optrode Arrays. *J Biomed Opt*, 19(1), 015006-015006. DOI: 10.1117/1.JBO.19.1.015006.
- [139] Abaya, T. V. F., Blair, S., Tathireddy, P., Rieth, L., Solzbacher, F. (2012). A 3D Glass Optrode Array for Optical Neural Stimulation. *Biomed Opt*

- Express*, 3(12), 3087-3104. DOI: 10.1364/BOE.3.003087.
- [140] Kwon, K. Y., Lee, H. M., Ghovanloo, M., Weber, A., Li, W. (2015). Design, Fabrication, and Packaging of an Integrated, Wirelessly-powered Optrode Array for Optogenetics Application. *Front Syst Neurosci*, 9(69). DOI: 10.3389/fnsys.2015.00069.
- [141] Lee, J., Ozden, I., Song, Y. K., Nurmikko, A. V. (2015). Transparent Intracortical Microprobe Array for Simultaneous Spatiotemporal Optical Stimulation and Multichannel Electrical Recording. *Nat Methods*, 12(12), 1157–1162. DOI: 10.1038/nmeth.3620.
- [142] Nizamoglu, S., Gather, M. C., Humar, M., Choi, M., Kim, S., Kim, K. S., et al. (2016). Bioabsorbable Polymer Optical Waveguides for Deep-tissue Photomedicine. *Nat Commun*, 7, 10374. DOI: 10.1038/ncomms10374.
- [143] Mahmoudi, P., Veladi, H., Ghaderi Pakdel, F., Frounchi, J. (2019). Low-cost Optical Splitter for Neural Stimulations Using Off-the-shelf Ultraviolet Adhesives. *Journal of Micro/Nanolithography, MEMS, and MOEMS*, 18(01). DOI: 10.1117/1.JMM.18.1.015502.
- [144] Reddy, J. W., Lassiter, M., Chamanzar, M. (2020). Parylene Photonics: A Flexible, Broadband Optical Waveguide Platform with Integrated Micromirrors for Biointerfaces. *Microsyst Nanoeng*, 6, 85. DOI: 10.1038/s41378-020-00186-2.
- [145] Mohanty, A., Li, Q., Tadayon, M. A., Roberts, S. P., Bhatt, G. R., Shim, E., et al. (2020). Reconfigurable Nanophotonic Silicon Probes for Sub-millisecond Deep-brain Optical Stimulation. *Nat Biomed Eng*, 4(2), 223–231. DOI:10.1038/s41551-020-0516-y.
- [146] Zhou, Y., Gu, C., Liang, J., Zhang, B., Yang, H., Zhou, Z., et al. (2022). A Silk-based Self-adaptive Flexible Opto-Electro Neural Probe. *Microsyst Nanoeng*, 8, 118. DOI:10.1038/s41378-022-00461-4.
- [147] Chen, Z., Li, X., Tang, Y., Huang, Z., Huang, J., Liu, H., et al. (2024). Implantation-assistance-free Flexible Waveguide Probe for Optogenetic Stimulation. *Cell Reports Physical Science*, 5(10). DOI: 10.1016/j.xcrp.2024.102217.
- [148] McAlinden, N., Massoubre, D., Richardson, E., Gu, E., Sakata, S., Dawson, M. D., et al. (2013). Thermal and Optical Characterization of Micro-LED Probes for In Vivo Optogenetic Neural Stimulation. *Opt Lett*, 38(6), 992-4. DOI: 10.1364/OL.38.000992.
- [149] McAlinden, N., Gu, E., Dawson, M. D., Sakata, S., Mathieson, K. (2015). Optogenetic Activation of Neocortical Neurons In Vivo with a Sapphire-based Micro-scale LED Probe. *Front Neural Circuits*, 9, 25. DOI: 10.3389/fncir.2015.00025.
- [150] Wu, F., Stark, E., Ku, P. C., Wise, K. D., Buzsáki, G., Yoon, E. (2015). Monolithically Integrated μ LEDs on Silicon Neural Probes for High-Resolution Optogenetic Studies in Behaving Animals. *Neuron*, 88(6), 1136-1148. DOI: 10.1016/j.neuron.2015.10.032.
- [151] Fan, B., Kwon, K. Y., Rechenberg, R., Becker, M. F., Weber, A. J., Li, W. (2016). A Hybrid Neural Interface Optrode with a Polycrystalline Diamond Heat Spreader for Optogenetics. *Technology*, 4(1), 15-22. DOI: 10.1142/S2339547816400021.
- [152] Klein, E., Gossler, C., Paul, O., Ruther, P. (2018). High-density μ LED-based Optical Cochlear Implant with Improved Thermomechanical Behavior. *Front Neurosci*, 12(659). DOI: 10.3389/fnins.2018.00659.
- [153] Noh, K. N., Park, S. I., Qazi, R., Zou, Z., Mickle, A. D., Grajales-Reyes, J. G., et al. (2018). Miniaturized, Battery-free Optofluidic Systems with Potential for Wireless Pharmacology and Optogenetics. *Small*, 14(4). DOI: 10.1002/sml.201702479.
- [154] Scharf, R., Reiche, C., McAlinden, N., Cheng, Y., Xie, E., Sharma, R., et al. (2018). A Compact Integrated Device for Spatially-selective Optogenetic Neural Stimulation Based on the Utah Optrode Array. *Optogenetics and Optical Manipulation*, 10482. DOI: 10.1117/12.2299296.
- [155] Reddy, J. W., Kimukin, I., Stewart, L. T., Ahmed, Z., Barth, A. L., Towe, E., et al. (2019). High Density, Double-Sided, Flexible Optoelectronic Neural Probes with Embedded μ LEDs. *Front Neurosci*, 13, 745. DOI: 10.3389/fnins.2019.0074.
- [156] Nazempour, R., Zhang, Q., Fu, R., Sheng, X. (2018). Biocompatible and Implantable Optical Fibers and Waveguides for Biomedicine. *Materials (Basel)*, 11(8), 1283. DOI: 10.3390/ma11081283.
- [157] Chernov, M. M., Friedman, R. M., Roe, A. W. (2021). Fiberoptic Array for Multiple Channel Infrared Neural Stimulation of the Brain. *Neurophotonics*, 8(2), 025005. DOI: 10.1117/1.NPh.8.2.025005.
- [158] Wang, J., Dong, J. (2020). Optical Waveguides and Integrated Optical Devices for Medical Diagnosis, Health Monitoring and Light Therapies. *Sensors (Basel)*, 20(14), 3981. DOI: 10.3390/s20143981.
- [159] Duma, V. F. (2024). Analyses and Optimizations of Galvanometer Laser Scanning. *Proc. SPIE 13200, Electro-Optical and Infrared Systems: Technology and Applications XXI*, 132000O. DOI: 10.1117/12.3026241.
- [160] Wang, F., Yuan, Y., Sun, Q., Dai, M., Ai, L., Lu, F. (2020). Design and Implementation of the Galvanometer Scanning System for Reflectance Confocal and Stimulated Raman Scattering Microscopy. *Chin Opt Lett*, 18, 121703.
- [161] Kobiela, K., Jedynak, M., Harmatys, W., Krawczyk, M., Śladek, J. A. (2021). Assessment of Laser Galvanometer Scanning System Accuracy Using Ball-Bar Standard. *Applied Sciences*, 11(19), 8929. DOI: 10.3390/app11198929.
- [162] Alp, A., Bursy, M., Wallaschek, J. (2019). High-Resolution Laser Scanning Systems with Acousto-Optic Deflectors and Optimised Optics Design. *Lux junior*. DOI: 10.22032/dbt.39620.
- [163] Franz, D., Häfner, T., Kunz, T. et al. (2022). Characterization of a Hybrid Scanning System

- Comprising Acousto-optical Deflectors and Galvanometer Scanners. *Appl Phys B*, 128, 55. DOI: 10.1007/s00340-022-07782-2.
- [164] Jr, W. P. B., Lei, L. A. (2013). Advances in Liquid Crystal on Silicon (LCOS) Spatial Light Modulator Technology", Proc. SPIE 8736, Display Technologies and Applications for Defense, Security, and Avionics VII, 87360A. DOI: 10.1117/12.2015973.
- [165] Hohle, C., Döring, C., Friedrichs, M., Gehner, A., Rudloff, D., Schulze, M., et al. (2021). Challenges of Monolithic MEMS-on-CMOS Integration for Spatial Light Modulators. Proc. SPIE 11697, *MOEMS and Miniaturized Systems XX*, 116970V. DOI: 10.1117/12.2583036.
- [166] Tsakas, A., Tselios, C., Ampeliotis, D., Politi, C., Alexandropoulos, D. (2021). Review of Optical Fiber Technologies for Optogenetics. *Results in Optics*, 5, 100168.
- [167] Touriño, C., Eban-Rothschild, A., de Lecea, L. (2013). Optogenetics in Psychiatric Diseases. *Curr Opin Neurobiol*, 23(3), 430-5. DOI: 10.1016/j.conb.2013.03.007.
- [168] Zhang, Q., Li, T., Xu, M. Islam, B., Wang, J. (2024). Application of Optogenetics in Neurodegenerative Diseases. *Cell Mol Neurobiol*, 44, 57. DOI: 10.1007/s10571-024-01486-1.
- [169] Henriksen, B. S., Marc, R. E., Bernstein, P. S. (2014). Optogenetics for Retinal Disorders. *J Ophthalmic Vis Res*, 9(3), 374-82. DOI: 10.4103/2008-322X.143379.
- [170] Barros, B. J., Cunha, J. P. S. (2024). Neurophotonics: A comprehensive Review, Current Challenges and Future Trends. *Front Neurosci*, 18, 1382341. DOI: 10.3389/fnins.2024.1382341.
- [171] Gotowiec, M. (2021). Optogenetics and its Influence on the Clinical Neurosciences. *Cambridge Medicine Journal*, 1-6. DOI: 10.7244/cmj.2020.12.002.
- [172] White, M., & Whittaker, R. G. (2022). Post-Trial Considerations for an Early Phase Optogenetic Trial in the Human Brain. *Open Access Journal of Clinical Trials*, 14, 1-9. DOI: 10.2147/OAJCT.S345482.