

BİYOFİZİK KONULARI

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Göksun BAŞARANLAR

yaz
yayınları

Biyofizik Konuları

Editör

Dr.Öğr.Üyesi Göksun BAŞARANLAR

yaz
yayınları

2025

Biyofizik Konuları

Editör: Dr.Öğr.Üyesi Göksun BAŞARANLAR

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-5547-79-8

Mart 2025 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

Derin Beyin Stimulasyonunda Preoperatif Görüntüleme ve Mikroelektrot Kaydı Gelişmeleri.....	1
<i>Göksun BAŞARANLAR</i>	

Elektrofizyolojik Teknikler: Voltaj Clamp, Patch Clamp ve Ap Clamp	17
<i>Tanju MERCAN</i>	

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

DERİN BEYİN STİMULASYONUNDA PREOPERATİF GÖRÜNTÜLEME VE MİKROELEKTROT KAYDI GELİŞMELERİ

Göksun BAŞARANLAR¹

1. GİRİŞ

Derin beyin stimülasyonu (DBS), belirli beyin bölgelerine elektrotların yerleştirilmesi ve ardından lokal nöromodülasyon yoluyla sinir devrelerine doğrudan müdahaleye olanak tanıyan teknolojik bir uygulamadır. Minimal invaziv bir prosedürle belirli beyin bölgelerini doğrudan modüle edebilme yeteneği, çeşitli nörolojik hastalıklara sahip hastalar için büyük faydalar sağlamıştır. Epilepsi, idiyopatik Parkinson hastalığı, distoni ve esansiyel tremor gibi rahatsızlıklar için 200.000’den fazla hastaya DBS sistemi implante edilmiştir. Ayrıca obsesif-kompulsif bozukluk, depresyon ve diğer bazı durumlarda DBS’nin etkinliği üzerine araştırmalar halen devam etmektedir (Vedam-Mai et al., 2021). Güncel araştırmalarla sinir devrelerinin modülasyonu konusundaki anlayışımız arttıkça DBS’nin kullanım alanları da hızla genişlemektedir.

Modern çağ, DBS tekniğinin uygulanışına yönelik önemli gelişme ve yenilikler getirmiştir. Bu bölümde ilk olarak, cerrahi süreci kolaylaştıran preoperatif görüntüleme alanındaki gelişmelere yer verilecek; daha sonra da operasyon sırasında yaşanan gelişmelere odaklanarak, uyanık cerrahi ile karşılaştırmalı olarak anestezi altında cerrahi uygulamalarda sinir

¹ Dr. Öğr. Üyesi, İzmir Demokrasi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Programı, İZMİR, goksun.basaranlar@idu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-3970-2419.

devrelerini daha iyi anlamak için kullanılan mikroelektrot kayıtlarını, elektrot türlerini ve stimülasyondaki işlevlerine değinilecektir.

2. PREOPERATİF DÖNEM

Nörogörüntüleme, pnömosefalografi temelli hedefleme çalışmaları ile stereotakside AC-PC çizgilerini uygulaması gibi öncü çalışmalarından, günümüzde bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) kullanılarak beyin yapılarının doğrudan görselleştirilmesine kadar, stereotaksik cerrahilerin yönlendirilmesinde merkezi bir rol oynamıştır (Schulder et al., 2023).

Optimizasyon yapılmış MRG sekansları, globus pallidus internus (GPI) ve subtalamik nükleus (STN) gibi belirli DBS hedeflerinin doğrudan görselleştirilmesine olanak tanıyabilmektedir. Ancak, klinik MRG sekansları, cerrahi planlamada ventral intermediate nükleus (Vim) gibi yapıları doğrudan net şekilde görüntülemek için yetersiz kalabilir. Bu nedenle, belirli anatomik referans noktalarına göre koordinatlar kullanılarak yapılan dolaylı hedefleme yöntemi halen kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemin dezavantajları arasında, hedef yapıların konumundaki bireyler arası değişkenliği ve cerrahların bu referans noktalarını belirleme konusundaki farklılıklarını göz önünde bulunduramaması yer almaktadır (Zhou et al., 2025). Doğru hedefleme büyük önem taşır, çünkü DBS'nin terapötik etkileri, elektrotların hedef yapıya doğru ve hassas bir şekilde yerleştirilmesine bağlıdır. Bu bölümde, DBS ile en sık hedeflenen gri madde çekirdeklerinin doğrudan hedeflenmesini geliştiren nörogörüntüleme alanındaki ilerlemeler sunulacaktır.

2.1. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) Optimizasyonu

T1 ağırlıklı (T1w) görüntüleme gibi yaygın olarak kullanılan MRG sekanslarının optimize edilmesi, DBS hedeflerinin daha iyi görselleştirilmesini sağlayabilir. Örneğin, T1w sekanslarında ters çevirme zamanı optimize edilerek gri maddenin baskılanması ve ana talamik grupların belirlenmesi sağlanabilir (Bender, Manz, Korn, Nagele, & Klose, 2011). Ters çevirme iyileştirmesi (Inversion Recovery, IR) gibi diğer MRG sekansları da DBS hedeflerinin görselleştirilmesini artırmıştır. IR sekansları, belirli bir yapıyı daha iyi görüntülemek için belirli doku bileşimlerini seçici olarak baskılamayı amaçlar. Bu sekanslardan biri olan Hızlı Gri Madde T1 İnversiyon İyileştirme (Fast Grey Matter T1 Inversion Recovery, FGATIR), beyaz madde sinyalini baskılayarak GPi ve iç medüller lamina sınırlarının daha net bir şekilde görüntülenmesini sağlar (Sudhyadhom, Haq, Foote, Okun, & Bova, 2009). FGATIR, beyaz maddeye ek olarak beyin omurilik sıvısını (BOS) da baskılayan bir modifikasyonla, GPi ile globus pallidus externus (GPe) arasındaki ayrımı daha da belirginleştirmek için uyarlanmıştır. Beyaz madde sinyalini baskılayan bir başka IR sekansı olan Beyaz Madde Zayıflatılmış İnversiyon İyileştirme (White Matter Attenuated Inversion Recovery, WAIR), Parkinson hastalığı (PD) ve Esansiyel Tremor (ET) hastalarında gri madde bölgeleri arasındaki kontrast farklarını artırarak talamusun iç bölümlerini daha iyi görselleştirmede umut vaat etmektedir (Beaumont et al., 2019).

T2*-ağırlıklı sekanslar, DBS hedeflerinin görselleştirilmesini daha da geliştirmiştir. T2* etkisini kullanan sekanslar, dokular arasındaki manyetik duyarlılık farklarını artırır. Bu sekanslar özellikle demir içeriğine duyarlıdır. T2* görüntüleri, tüm STN sınırlarını görüntülemek ve GPi ile GPe'yi ayırt etmek için başarıyla kullanılmıştır. T2* görüntülerinin post-

processing (sonradan işlenmesi) ile nicel manyetik duyarlılık haritaları (Quantitative Susceptibility Mapping, QSM) oluşturulabilir. Bu yöntem, T2*-ağırlıklı görüntülemeye ortaya çıkan geometrik bozulmaların ölçülmesine ve düzeltilmesine olanak tanır. QSM yöntemi, STN'nin görselleştirilmesinde umut vaat ederken, GPi gibi diğer yapılar için de belirli ölçüde fayda sağlamaktadır (T. Liu et al., 2013).

Olumlu sonuçlara rağmen, bu sekansların klinik kullanımında benimsenme oranı halen düşüktür. Bunun başlıca nedenleri şunlardır: Kullanım için özel uzmanlık bilgisi gerektirmesi, yalnızca belirli üreticilere ait sistemlerle uyumlu olması, yüksek maliyetler ve bulguların daha geniş ölçekli çalışmalarda tekrarlanma gerekliliği (Tasserie & Lozano, 2022). Bunun yanı sıra, görüntü kalitesindeki gözle görülür iyileşmelere rağmen, yeni sekansların kullanımı halen belirli baş ve boyun sargıları gerektirmektedir. Bu sargılar, tüm MRG tarayıcılarında mevcut olmayabilir ve stereotaktik baş çerçeveleri ile fiziksel olarak uyumlu olmayabilir. Ayrıca, bu optimize edilmiş sekansların çoğunda meydana gelen geometrik bozulmalar henüz tam olarak ölçülmemiştir (Welton et al., 2023).

3. PERİOPERATİF DÖNEM

3.1. Anestezi ve DBS

Anestezi altında yapılan DBS cerrahisinin temel varsayımı, elektrotların doğru anatomik konumlandırılmasının, geleneksel uyanık hastalarda yapılan fonksiyonel testlerle yönlendirilen yerleştirme kadar etkili olabileceğidir.

Anestezi Altında DBS, MRG kullanılarak hedef bölgenin belirlenmesi ve elektrot yerleşiminin intraoperatif görüntüleme ile doğrulanması esasına dayanır. Bu teknik, MRG'deki gelişmeler, intraoperatif 3D görüntüleme modalitelerinin artan ve

DBS cerrahisinin klinik etkinliğiyle ilgili uzun yıllara dayanan veriler sayesinde gelişmiştir (Mirzadeh & Ponce, 2015).

Uyanık DBS, hastanın nörolojik muayenesi ile yönlendirilir. Test stimülasyonu sırasında klinik yanıtlar ve yan etkiler değerlendirilir. Elektrofizyolojik verilerin yorumlanması cerrahın deneyimine dayanır. Uykuda DBS, büyük ölçüde Navigasyon yazılımına, MRG kalitesine, cerrahın doğru hedef seçim becerisine bağlıdır. Her iki yöntemde de, elektrot yerleştirme sırasında hata kaynakları dikkate alınmalıdır: Stereotaksik çerçeveden kaynaklanan hatalar, Navigasyon yazılımındaki gizli hatalar, Manyetik alan nedeniyle oluşabilecek görüntü bozulmaları, Pnömoşefalus (hava kabarcıklarının beyin içinde yer değiştirmesi) veya baş pozisyonundaki değişiklikler nedeniyle beyin kayması Bu hataları en aza indirme stratejileri, uykuda ve uyanık DBS arasında farklılık göstermektedir (Ho et al., 2018).

3.2. Görüntüleme ve DBS

1980'lerin sonlarında, hareket bozuklukları için DBS cerrahisi geliştirildi ve radyofrekans talamotomi prosedürlerinin prensiplerinden yararlandı. O dönemde MRI, stereotaktik nöroşirürji planlamasında yaygın olarak kullanılmıyordu. Bunun yerine BT ve nadiren ventrikülografi kullanılarak koordinat belirleme yapılıyordu. İnsan beyni için stereotaktik atlaslar, elektrot yerleştirme için başlangıç noktası olarak kullanılıyordu. Test stimülasyonu (MER ile veya MER olmadan) kullanılarak hedef bölge doğrulama sağlanıyordu. Daha sonraki yıllarda MRG teknolojisindeki gelişmeler, birçok klinikte ventrikülografinin yerini aldı. Yüksek çözünürlüklü ameliyat sonrası görüntüleme, DBS elektrotlarının fonksiyonel sonuçlarla doğrudan karşılaştırılmasına olanak tanıdı (Starr et al., 2006; Wodarg et al., 2012). Bu gelişmeler sayesinde, "dolaylı" atlas tabanlı hedefleme yerine "doğrudan" anatomik hedefleme yöntemi daha fazla tercih

edilmeye başlandı. DBS için en uygun hedefin anatomik mi yoksa fizyolojik mi olduğu hala kesin olarak belirlenmemiş olsa da, uykuda DBS'nin uygulanması kaçınılmaz hale gelmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, uykuda DBS sonrası fonksiyonel sonuçları değerlendirmiş ve yalnızca görüntüleme temelli hedefleme ile elektrot yerleştirmenin, uyanık testler olmadan da güvenilir olduğu yönündeki güveni artırmıştır (Z. Liu, He, & Li, 2019).

3.3. DBS Cerrahisinde Elektrot Yerleşimi ve Doğrulama

Etkili DBS cerrahisi, elektrotun cerrahi sırasında doğru şekilde yerleştirildiğini doğrulamanın bir yolunu içermelidir. Bu, test stimülasyonu, elektrofizyolojik kayıtlar veya intraoperatif görüntüleme ile yapılabilir.

3.3.1. Mikroelektrot Kayıtları

DBS cerrahisinde kullanılan hedefleme yöntemine bakılmaksızın, görüntüleme ve teknik hatalar, birbirlerini telafi edebilecek ya da toplanan hatalara neden olabilecek yanlışlıklar yaratabilir. Yukarıda belirtilen hataların yanı sıra, kanül ve elektrotların beyin parankimasına yerleştirilmesiyle meydana gelen zorlanma ve sıkıştırma hareketleri de kaçınılmazdır. Gerçek kullanımda, preoperatif MRG'de görülen anatomi ile nörofizyolojik haritalama verileri arasında önemli bir uyumsuzluk olduğu ve bu nedenle yaklaşık %20'lik bir oranda yeni hedefleme gerekliliği olduğu görülmüştür. Mikroelektrot Kayıtları (MER) ve Yerel Alan Potansiyelleri (LFP), beyin hedef yerinin nörofizyolojik olarak doğrulanmasını sağlar (Shamir et al., 2019).

MER, aksiyon potansiyellerinin kaydedilmesini ve elektriksel stimülasyona yanıt olarak nöronların özel imzalarını (örneğin, ateşleme oranı, genlik, morfoloji) tanımlamayı sağlar. Substantia nigra pars reticulata hücreleri, yüksek frekanslı, düşük

genlikli sivrilerle karakterizedir ve bu hücreler elektriksel stimölasyonla inhibe edilirken, STN hücreleri düşük frekanslı ve yüksek genlikli sivrilere sahiptir, bu hücreler stimölasyona karşı inhibisyon göstermez (Hutchison et al., 1998). LFP'ler, yalnızca yüksek empedanslı mikroelettrotlardan, aynı zamanda düşük empedanslı DBS elettrotlarından da elde edilebilir. LFP'ler: Hedeflerin fonksiyonel alt bölgelerini milimetrik ölçekte ayırt etmeye yardımcı olabilir. Örneğın, motor STN'de beta bandı gücündeki artış, motor olmayan ventral bölgesiyle karşılaştırıldığında daha belirgin olmuştur. LFP'ler, intraoperatif hedef lokalizasyonunu iyileştirmekle kalmaz, aynı zamanda stimölasyon için optimum temas noktalarını seçmek ve kapalı döngü sistemleri için terapiyi optimize etmek amacıyla fizyolojik biyomarker olarak da kullanılabilir (Flouty, Yamamoto, Green, & Aziz, 2021; S. A. Shah, Tinkhauser, Chen, Little, & Brown, 2018).

3.3.2. MER Kayıtlarının Avantajları ve Dezavantajları

Avantajlar: İnsan beynindeki nöronlar ve devreler üzerinde fonksiyonel analiz yapma fırsatı. Yapay zekâ (AI) algoritmalarının kullanılmasıyla, MER ve LFP verilerinin yorumlanmasında otomatikleştirilmiş süreçler ortaya çıkmaktadır. Bu sistemler, 5 elettrotu aynı anda analiz edebilir ve gerçek zamanlı verilere dayalı olarak en iyi yerleştirme noktasını önerebilir. AI'nın ayrıca tedavi etkilerini izleme, anesteziyi optimize etme ve kapalı döngü programlamasını yönlendirme gibi uygulamalarda kullanılması beklenmektedir. Dezavantajlar: Veri yorumlama konusunda yetkin bir ekip gereklidir. Ameliyat süresinin uzaması, artan beyin parankiması geçiş sayısı ve buna bağılı olarak enfeksiyon ve kanama riski artabilir (Allen & Smith, 2001; Connor, 2019; Gao et al., 2018).

3.4. İntraoperatif Stimölasyon

İntraoperatif stimölasyon, stereotaktik fonksiyonel prosedürlerin temel bir parçası olmuştur. Radyo frekans (RF) elektrotu kullanılarak, hedef bölge fizyolojik olarak keşfedilmiş ve lezyon oluşturmada önce stimölasyonun pozitif ve negatif etkileri gözlemlenmiştir. Lezyon oluşturmada önce intraoperatif stimölasyon, kapsüler yanıtın tespiti ve ventrolateral talamusta yüksek frekanslı stimölasyonun titremeyi durdurması gibi önemli bulgulara yol açmıştır (Schulder et al., 2023).

DBS cerrahisinde, intraoperatif makrostimölasyon, elektrotun yerini değerlendirmek ve doğrulamak için uyanık hastalarda fizyolojik haritalama için altın standart olmuştur. Dört kontak kullanımı, RF elektrotuna kıyasla hedefin ve çevresinin haritalanmasında daha yüksek bir çözünürlük sağlar. Bu yaklaşım, stimölasyon ile final elektrot yerleştirilmesi arasında elektrot pozisyonundaki değişikliklerin önlenmesi avantajına da sahiptir (A. Shah et al., 2020).

Son zamanlarda, "yönlü" DBS elektrotları, elektrot çevresindeki alanı daha ayrıntılı bir şekilde intraoperatif olarak haritalamayı sağlayan yeni bir teknoloji olarak tanıtılmıştır. Oluşturulan "stimölasyon haritaları", bölgenin değerlendirilmesi ve yönlendirilmesi için değerli araçlardır. Ancak, bu yaklaşımın bazı sınırlamaları vardır, özellikle semptomların hafifletilmesi ile ilgili olarak: Bazı hedeflerde, örneğin GPi, intraoperatif stimölasyonun hemen klinik olumlu etkileri nadiren görülür. Yürüyüş ve denge değerlendirmesi intraoperatif olarak yapılamaz. Titreme durdurma, talamusun Vim bölgesi ve caudal zona incerta (cZi) gibi komşu yapılardan da elde edilebilir. Geç ortaya çıkan yan etkiler, intraoperatif stimölasyonda belirgin olmayan kronik DBS sonrasında görülebilir; örneğin, STN DBS sonrasında konuşma bozukluğu (Fyttagoridis, Astrom, Samuelsson, & Blomstedt, 2016; Tripoliti et al., 2011).

Onaylayıcı görüntüleme, stereotaksik nöroşirürjide oldukça önemli bir ilkedir, çünkü kullanılan yüksek teknolojiye rağmen doğruluğun tek garantisi görsel doğrulama ile elde edilebilir. Bu ilke, farklı alanlarda da görülmektedir; örneğin, uçaklar, hassas hedefleme sistemleriyle yapılan bombalama operasyonlarında bile, hedefin başarıyla vurulduğunu ve herhangi bir yan hasarın olup olmadığını görmek için tekrar hedefin üzerinden uçmak zorundadır. Aynı şekilde, stereotaksik nöroşirürjiler de DBS elektrotlarının veya lezyonlarının tam olarak doğru yerleştirildiğini doğrulamak için görüntüleme tekniklerini kullanmak zorundadır (O'Gorman et al., 2009).

3.5. İntraoperatif Doğrulamanın Tarihsel Bağlamı

Tarihte, Ernest Spiegel ve Henry Wycis gibi cerrahlar, lezyonlama işlemi sonrasında hemen kontrast maddesi enjekte eder ve stereotaktik röntgen ile lezyonun yerini doğrularlardı. Irving Cooper de benzer bir yöntemle, hedef bölgesinde bir balon şişirerek röntgenle görsel doğrulama yapıyordu. Lars Leksell, stereotaktik nöroşirürjinin öncülerinden biri olarak, pallidotomi sonrasında hedef bölgelerine gümüş klips yerleştirir ve stereotaktik röntgenle doğrulama yapardı. Bu erken dönem prosedürlerinde, lezyon veya hedefin doğrulaması stereotaktik çerçeveye dayalı koordinatlar ile yapılırdı, çünkü beyin dokusu röntgenle görüntülenemezdi. CT ve MRI teknolojilerinin gelişmesiyle, hemen sonrası veya intraoperatif stereotaktik görüntüleme devrim yaratmıştır. Bu teknolojiler, cerrahların pneumoefalus veya erken hematoma gibi komplikasyonları görmelerini sağlamakla kalmaz, aynı zamanda lezyonun veya DBS elektrotunun hedef beyin yapısıyla ilişkilendirilerek doğru şekilde yerleştirilip yerleştirilmediğini de doğrulamalarına olanak tanır. Daha önceki tekniklerin aksine, bu görüntüleme artık sadece stereotaktik alanda değil, aynı zamanda hastanın gerçek beyin anatomisiyle de ilişkilendirilerek yapılmaktadır. Preoperatif görüntüleme işlemiyle elde edilen geometrik

doğruluğa büyük bir özen gösterilmesine rağmen, postoperatif görüntüleme konusunda aynı özen çoğu zaman gösterilmemektedir. Bu durum, pek çok yayında postoperatif MRI görüntülerinin, elektrotların yerini gösterse de, anatomik hedefle olan doğru ilişkilendirmelerini net bir şekilde ortaya koymamasından anlaşılmaktadır. Birçok merkezde hemen sonrası stereotaktik CT veya MRI rutin olarak yapılmamaktadır. Bunun yerine genellikle, CT veya MRI görüntüleri birkaç gün sonra yapılır ve esas olarak kanama olup olmadığı kontrol edilir. Daha sonra, görüntü füzyon yazılımları kullanılarak elektrotların yaklaşık konumları değerlendirilir, ancak bu yaklaşım füzyon hataları içerebilir ve doğru doğrulama sağlamada eksikliklere yol açabilir (Hariz et al., 2003).

Görüntü kılavuzlu ve görüntü ile doğrulanmış fonksiyonel stereotaktik nöroşirurji kavramının önemi yadsınamaz. DBS cerrahisi için prosedür tamamlanmış sayılmamalı ve çerçeve baştan çıkarılmadan önce elektrotların doğru yerleştirilmesi stereotaktik görüntüleme ile doğrulanmalıdır. Bu titiz süreç, hastaların bu son derece hassas prosedürlerden en iyi sonuçları almasını sağlamaktadır. Cerrahi sırasında veya hemen sonrasında doğru stereotaktik görüntülemenin birçok avantajı vardır: prosedürün doğruluğunu stereotaktik alanda doğrulamak; eğer elektrotun konumu optimal değilse aynı cerrahi seansta elektrotu yeniden yerleştirmek ve her elektrot kontaktının hedef bölgesindeki doğru konumunu kesin bir şekilde doğrulamak. İstenirse uyku cerrahisi yapılmasına olanak tanıyacak; yapı ve işlev arasındaki ilişkiyi doğru ve kesin bir şekilde değerlendirmeyi kolaylaştıracak ve stimülasyonla modüle edilen yolları ve devreleri değerlendirmeyi amaçlayan gelecekteki bir difüzyon tensör görüntüleme (DTI) MRG için kesin anatomik temeli sağlayacaktır. Son olarak, yüksek çözünürlüklü postoperatif görüntüleme, beklenmedik ancak olumlu stimülasyon etkileri ortaya çıktığında tesadüfi keşiflere olanak

tanıyabilir ve mevcut beyin hedefleri için yeni indikasyonlara ya da mevcut veya yeni indikasyonlar için yeni beyin hedeflerine kapı aralayabilir. DBS cihazı takılı hastalarda doğru intraoperatif ve postoperatif yapısal MRG'nin istenen bir teknik ilerleme olduğu yönünde uzman görüşlerine dayanan kanıt, DBS sistemleri yerleştirilmiş hastalarda MRG'nin, 1.5T'yi aşan manyetik alan güçlerinde bile uyumluluğunu ve güvenliğini araştırmak ve sağlamak için özverili ekiplerin çabalarını göstermektedir (Sammartino et al., 2017).

4. SONUÇ

DBS'te görüntüleme teknikleri ve mikroelektrot kayıtları, klinik etkinliği büyük ölçüde etkilemekte ve hasta özelinde optimize edilmiş tedavi stratejileri geliştirilmesine el vermektedir. Bu yöntemlerin ileri teknoloji ile entegrasyonu, DBS uygulamalarında hassasiyet ve uygulama alanı anlamında büyük katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Allen, R., & Smith, D. (2001). Neuro-fuzzy closed-loop control of depth of anaesthesia. *Artif Intell Med*, 21(1-3), 185-191. doi:10.1016/s0933-3657(00)00084-1
2. Beaumont, J., Saint-Jalmes, H., Acosta, O., Kober, T., Tanner, M., Ferre, J. C., . . . Gambarota, G. (2019). Multi T1-weighted contrast MRI with fluid and white matter suppression at 1.5 T. *Magn Reson Imaging*, 63, 217-225. doi:10.1016/j.mri.2019.08.010
3. Bender, B., Manz, C., Korn, A., Nagele, T., & Klose, U. (2011). Optimized 3D magnetization-prepared rapid acquisition of gradient echo: identification of thalamus substructures at 3T. *AJNR Am J Neuroradiol*, 32(11), 2110-2115. doi:10.3174/ajnr.A2705
4. Connor, C. W. (2019). Artificial Intelligence and Machine Learning in Anesthesiology. *Anesthesiology*, 131(6), 1346-1359. doi:10.1097/ALN.0000000000002694
5. Flouty, O., Yamamoto, K., Green, A., & Aziz, T. (2021). Commentary: Operative Technique and Lessons Learned From Surgical Implantation of the NeuroPace Responsive Neurostimulation(R) System in 57 Consecutive Patients. *Oper Neurosurg (Hagerstown)*, 20(2), E110-E111. doi:10.1093/ons/opaa349
6. Fytagoridis, A., Astrom, M., Samuelsson, J., & Blomstedt, P. (2016). Deep Brain Stimulation of the Caudal Zona Incerta: Tremor Control in Relation to the Location of Stimulation Fields. *Stereotact Funct Neurosurg*, 94(6), 363-370. doi:10.1159/000448926
7. Gao, C., Sun, H., Wang, T., Tang, M., Bohnen, N. I., Muller, M., . . . Dinov, I. D. (2018). Model-based and Model-free Machine Learning Techniques for Diagnostic Prediction

- and Classification of Clinical Outcomes in Parkinson's Disease. *Sci Rep*, 8(1), 7129. doi:10.1038/s41598-018-24783-4
8. Hariz, M. I., Krack, P., Melvill, R., Jorgensen, J. V., Hamel, W., Hirabayashi, H., . . . Yousry, T. A. (2003). A quick and universal method for stereotactic visualization of the subthalamic nucleus before and after implantation of deep brain stimulation electrodes. *Stereotact Funct Neurosurg*, 80(1-4), 96-101. doi:10.1159/000075167
 9. Ho, A. L., Ali, R., Connolly, I. D., Henderson, J. M., Dhall, R., Stein, S. C., & Halpern, C. H. (2018). Awake versus asleep deep brain stimulation for Parkinson's disease: a critical comparison and meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 89(7), 687-691. doi:10.1136/jnnp-2016-314500
 10. Hutchison, W. D., Allan, R. J., Opitz, H., Levy, R., Dostrovsky, J. O., Lang, A. E., & Lozano, A. M. (1998). Neurophysiological identification of the subthalamic nucleus in surgery for Parkinson's disease. *Ann Neurol*, 44(4), 622-628. doi:10.1002/ana.410440407
 11. Liu, T., Eskreis-Winkler, S., Schweitzer, A. D., Chen, W., Kaplitt, M. G., Tsiouris, A. J., & Wang, Y. (2013). Improved subthalamic nucleus depiction with quantitative susceptibility mapping. *Radiology*, 269(1), 216-223. doi:10.1148/radiol.13121991
 12. Liu, Z., He, S., & Li, L. (2019). General Anesthesia versus Local Anesthesia for Deep Brain Stimulation in Parkinson's Disease: A Meta-Analysis. *Stereotact Funct Neurosurg*, 97(5-6), 381-390. doi:10.1159/000505079

13. Mirzadeh, Z., & Ponce, F. A. (2015). Reply: DBS with versus without MER: clinical equipoise or malpractice? *Mov Disord*, 30(3), 439-441. doi:10.1002/mds.26168
14. O'Gorman, R. L., Jarosz, J. M., Samuel, M., Clough, C., Selway, R. P., & Ashkan, K. (2009). CT/MR image fusion in the postoperative assessment of electrodes implanted for deep brain stimulation. *Stereotact Funct Neurosurg*, 87(4), 205-210. doi:10.1159/000225973
15. Sammartino, F., Krishna, V., Sankar, T., Fisico, J., Kalia, S. K., Hodaie, M., . . . Lozano, A. M. (2017). 3-Tesla MRI in patients with fully implanted deep brain stimulation devices: a preliminary study in 10 patients. *J Neurosurg*, 127(4), 892-898. doi:10.3171/2016.9.JNS16908
16. Schulder, M., Mishra, A., Mammis, A., Horn, A., Boutet, A., Blomstedt, P., . . . Chang, J. W. (2023). Advances in Technical Aspects of Deep Brain Stimulation Surgery. *Stereotact Funct Neurosurg*, 101(2), 112-134. doi:10.1159/000529040
17. Shah, A., Vogel, D., Alonso, F., Lemaire, J. J., Pison, D., Coste, J., . . . Hemm, S. (2020). Stimulation maps: visualization of results of quantitative intraoperative testing for deep brain stimulation surgery. *Med Biol Eng Comput*, 58(4), 771-784. doi:10.1007/s11517-020-02130-y
18. Shah, S. A., Tinkhauser, G., Chen, C. C., Little, S., & Brown, P. (2018). Parkinsonian Tremor Detection from Subthalamic Nucleus Local Field Potentials for Closed-Loop Deep Brain Stimulation. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*, 2018, 2320-2324. doi:10.1109/EMBC.2018.8512741

19. Shamir, R. R., Duchin, Y., Kim, J., Patriat, R., Marmor, O., Bergman, H., . . . Harel, N. (2019). Microelectrode Recordings Validate the Clinical Visualization of Subthalamic-Nucleus Based on 7T Magnetic Resonance Imaging and Machine Learning for Deep Brain Stimulation Surgery. *Neurosurgery*, 84(3), 749-757. doi:10.1093/neuros/nyy212
20. Starr, P. A., Turner, R. S., Rau, G., Lindsey, N., Heath, S., Volz, M., . . . Marks, W. J., Jr. (2006). Microelectrode-guided implantation of deep brain stimulators into the globus pallidus internus for dystonia: techniques, electrode locations, and outcomes. *J Neurosurg*, 104(4), 488-501. doi:10.3171/jns.2006.104.4.488
21. Sudhyadhom, A., Haq, I. U., Foote, K. D., Okun, M. S., & Bova, F. J. (2009). A high resolution and high contrast MRI for differentiation of subcortical structures for DBS targeting: the Fast Gray Matter Acquisition T1 Inversion Recovery (FGATIR). *Neuroimage*, 47 Suppl 2, T44-52. doi:10.1016/j.neuroimage.2009.04.018
22. Tasserie, J., & Lozano, A. M. (2022). Editorial. 7T MRI for neuronavigation: toward better visualization during functional surgery. *J Neurosurg*, 137(5), 1262-1263. doi:10.3171/2021.12.JNS212655
23. Tripoliti, E., Zrinzo, L., Martinez-Torres, I., Frost, E., Pinto, S., Foltynie, T., . . . Limousin, P. (2011). Effects of subthalamic stimulation on speech of consecutive patients with Parkinson disease. *Neurology*, 76(1), 80-86. doi:10.1212/WNL.0b013e318203e7d0
24. Vedam-Mai, V., Deisseroth, K., Giordano, J., Lazaro-Munoz, G., Chiong, W., Suthana, N., . . . Okun, M. S. (2021). Proceedings of the Eighth Annual Deep Brain Stimulation Think Tank: Advances in Optogenetics,

- Ethical Issues Affecting DBS Research, Neuromodulatory Approaches for Depression, Adaptive Neurostimulation, and Emerging DBS Technologies. *Front Hum Neurosci*, 15, 644593. doi:10.3389/fnhum.2021.644593
25. Welton, T., Hartono, S., Shih, Y. C., Schwarz, S. T., Xing, Y., Tan, E. K., . . . Chan, L. L. (2023). Ultra-high-field 7T MRI in Parkinson's disease: ready for clinical use?-a narrative review. *Quant Imaging Med Surg*, 13(11), 7607-7620. doi:10.21037/qims-23-509
26. Wodarg, F., Herzog, J., Reese, R., Falk, D., Pinsker, M. O., Steigerwald, F., . . . Volkmann, J. (2012). Stimulation site within the MRI-defined STN predicts postoperative motor outcome. *Mov Disord*, 27(7), 874-879. doi:10.1002/mds.25006
27. Zhou, Y., Song, Y., Song, X., He, F., Xu, M., & Ming, D. (2025). Review of directional leads, stimulation patterns and programming strategies for deep brain stimulation. *Cogn Neurodyn*, 19(1), 33. doi:10.1007/s11571-024-10210-0

ELEKTROFİZYOLOJİK TEKNİKLER: VOLTAJ CLAMP, PATCH CLAMP VE AP CLAMP

Tanju MERCAN¹

1. GİRİŞ

Elektrofizyoloji, hücrelerin elektriksel özelliklerini inceleyen bir bilim dalıdır (Bures, Petran, & Zachar, 2013). Bu alanda, hücre zarındaki iyon kanallarının aktivitesini ölçmek ve analiz etmek için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bu tekniklerden en önemlileri Voltaj Clamp, Patch Clamp ve Aksiyon Potansiyel (AP) Clamp yöntemleridir (Kornreich, 2007). Her bir teknik, farklı amaçlar için kullanılır ve kendine özgü avantajlar ve sınırlamalar sunmaktadır.

Voltaj clamp tekniği, hücre zarındaki iyon kanallarının elektriksel özelliklerini incelemek için kullanılan temel elektrofizyolojik yöntemlerden biridir (Rubaiy, 2017). Bu teknik, 1940'larda Kenneth Cole ve George Marmont tarafından geliştirilmiş, daha sonra Alan Hodgkin ve Andrew Huxley tarafından sinir hücrelerindeki aksiyon potansiyellerinin mekanizmasını aydınlatmak için kullanılmıştır (Tandon & Chandra, 2022). Voltaj clamp, hücre zarındaki voltajı sabit bir değerde tutarak, iyon kanallarından geçen akımları ölçer. Bu sayede, iyon kanallarının dinamik davranışları ve voltaja bağımlı özellikleri detaylı bir şekilde incelenebilir (Halliwell, Plant, Robbins, & Standen, 1994).

¹ Dr. Öğretim Üyesi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, tanjumercan@mu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-6711-6003.

Voltaj clamp tekniği, özellikle büyük hücreler (örneğin, dev aksonlar) üzerinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır (Moore & Cole, 1963). İki elektrot yardımıyla çalışan bu yöntem, bir elektrot ile zar potansiyelini kontrol ederken, diğeri elektrot ile iyon akımlarını ölçer. Bu teknik, iyon kanallarının aktivasyon, inaktivasyon ve deaktivasyon süreçlerini anlamak için kritik bir araçtır. Ancak, küçük hücrelerde uygulanması teknik olarak zorluklar içerir ve yüksek düzeyde hassasiyet gerektirmektedir (Hille, 1978). Voltaj clamp, elektrofizyolojinin temel taşlarından biri olarak, sinirbilim ve hücre biyolojisi alanlarında önemli keşiflere öncülük etmiştir.

Patch clamp tekniği, biyofizik ve elektrofizyoloji alanlarında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu teknik, tek bir iyon kanalının veya bir hücre zarındaki toplam iyon akımının detaylı bir şekilde incelenmesine olanak tanımaktadır. İlk olarak 1970'lerin sonunda Erwin Neher ve Bert Sakmann tarafından geliştirilmiş ve bu çalışmalarıyla 1991 yılında Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'nü kazanmışlardır (Neher & Sakmann, 1976).

Patch clamp yöntemi, hücre zarındaki iyon kanallarının fonksiyonlarını anlamak için kullanılan en hassas tekniklerden biridir. İyon kanalları, hücre içi ve dışı arasındaki iyon hareketini düzenleyerek elektriksel aktiviteyi kontrol eder. Bu yüzden, bu kanalların düzgün çalışması sinir iletimi, kas kasılması ve hormon salgılanması gibi temel biyolojik işlevler için kritik öneme sahiptir (Hille, 2001). Patch clamp tekniği, bu iyon kanallarının açılma-kapanma mekanizmalarını, farmakolojik etkileşimlerini ve hastalıklarla ilişkisini araştırmak için geniş çapta kullanılmaktadır (Hamill, Marty, Neher, Sakmann, & Sigworth, 1981).

AP clamp tekniği, hücrelerin elektrofizyolojik özelliklerini incelemek için kullanılan modern bir yöntemdir. Bu teknik, özellikle kardiyak hücrelerdeki iyon kanallarının

aktivitesini, gerçek aksiyon potansiyeli dalga formlarını taklit ederek analiz etmeyi amaçlar. AP clamp, hücreye fizyolojik koşullara uygun bir voltaj dalga formu uygular ve bu sırada iyon kanallarından geçen akımları ölçer. Bu sayede, iyon kanallarının doğal davranışları, hücrenin gerçek elektriksel aktivitesine benzer bir ortamda incelenebilir (Arreola, Dirksen, Shieh, Williford, & Sheu, 1991).

AP clamp, özellikle kalp hücrelerindeki iyon kanallarının aktivitesini anlamak için kullanılır (Banyasz, Horvath, Jian, Izu, & Chen-Izu, 2011; Banyasz et al., 2008). Bu teknik, voltaj clamp ve patch clamp gibi geleneksel yöntemlerden farklı olarak, hücrenin fizyolojik koşullarına daha yakın bir ortam sunar. Örneğin, kardiyak aritmilerin mekanizmalarını incelemek veya ilaçların kalp hücreleri üzerindeki etkilerini test etmek için idealdir. Ancak, AP clamp tekniği, özellikle veri analizi açısından karmaşıklık içerir ve genellikle belirli hücre tipleri (örneğin, kardiyomiyositler) üzerinde kullanılır. Bu yöntem, elektrofizyolojik araştırmalarda yeni bir perspektif sunarak, hücrelerin elektriksel davranışlarını daha gerçekçi bir şekilde anlamamıza olanak tanımaktadır (Chen-Izu, Izu, Nanasi, & Banyasz, 2012).

2. ELEKTROFİZYOLOJİK TEKNİKLERİN TARİHÇESİ VE GELİŞİMİ

Voltaj clamp tekniği, 1940'larda Kenneth Cole ve George Marmont tarafından geliştirildi. Bu dönemde, hücre zarındaki elektriksel olayları incelemek için kullanılan yöntemler sınırlıydı. Cole ve Marmont, hücre zarındaki voltajı sabit tutarak, iyon akımlarını ölçmeyi başaran ilk düzeneği oluşturdular. Bu, iyon kanallarının voltaja bağlı davranışlarını incelemek için devrim niteliğinde bir adımdı (Cole, 1950; Marmont, 1949).

Voltaj clamp tekniği, Alan Hodgkin ve Andrew Huxley tarafından 1950'lerde daha da geliştirildi. Bu ikili, dev kalamar aksonlarını kullanarak, aksiyon potansiyellerinin altında yatan iyon akımlarını detaylı bir şekilde inceledi. Hodgkin ve Huxley, sodyum (Na^+) ve potasyum (K^+) iyonlarının zar potansiyeline nasıl tepki verdiğini açıklayan matematiksel bir model geliştirdi. Bu alışmaları, 1963 yılında Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödölü'ne layık görüldü (Hodgkin & Huxley, 1952).

1960'lardan itibaren, voltaj clamp tekniği, farklı hücre tiplerinde ve organizmalarda kullanılmaya başlandı. Özellikle sinir hücreleri ve kas hücrelerindeki iyon kanallarının incelenmesinde yaygın olarak kullanıldı. Bu dönemde, teknik daha da hassas hale getirildi ve elektronik cihazların gelişmesiyle birlikte daha kullanışlı bir hale geldi (Hille, 2001).

1970'lerde, Erwin Neher ve Bert Sakmann tarafından geliştirilen patch clamp tekniği, voltaj clamp'in sınırlamalarını aşmaya yardımcı oldu. Patch clamp, tek bir iyon kanalının aktivitesini ölçebilme yeteneği sayesinde, voltaj clamp'in daha gelişmiş bir versiyonu olarak kabul edildi. Ancak, voltaj clamp hala büyük hücreler üzerinde yapılan çalışmalarda önemli bir araç olarak kullanılmaya devam etti (Neher & Sakmann, 1976).

Patch clamp tekniği, geleneksel elektrofizyolojik kayıt yöntemlerine kıyasla çok daha hassas ölçümler yapabilen bir sistemdir. 1950'lerde voltaj clamp tekniği kullanılarak iyon kanallarının elektriksel özellikleri incelenmeye başlanmıştır. Ancak, bu teknik büyük hücre grupları üzerinde çalıştığından tek tek iyon kanallarını incelemek mümkün olmamaktaydı. Patch clamp, bireysel iyon kanallarının çalışma prensiplerini anlamak için devrim niteliğinde bir adım olmuştur (Hamill et al., 1981).

Erwin Neher ve Bert Sakmann, tek iyon kanal düzeyinde kayıt yapmayı mümkün kılan patch clamp yöntemini geliştirerek

elektrofizyoloji alanında çığır açmıştır. Bu teknik sayesinde iyon kanallarının nasıl açılıp kapandığı, farklı voltaj ve kimyasal uyaranlara nasıl tepki verdiğı ve farmakolojik maddelerin etkisi gibi konular detaylı bir şekilde incelenabilmektedir. Günümüzde, gelişmiş elektronik sistemler ve bilgisayar destekli analiz yazılımları sayesinde patch clamp deneyleri daha hassas ve verimli hale gelmiştir (Sakmann, 2013).

AP clamp tekniğı, voltaj clamp ve patch clamp gibi geleneksel yöntemlerin sınırlamalarını aşmak amacıyla geliştirilmiştir. Voltaj clamp, hücre zarındaki voltajı sabit tutarak iyon akımlarını ölçerken, patch clamp tek bir iyon kanalının aktivitesini inceler. Ancak, bu yöntemler, hücrenin gerçek fizyolojik koşullarını tam olarak yansıtmaz. Özellikle kardiyak hücrelerde, aksiyon potansiyeli sırasında iyon kanallarının davranışlarını anlamak için daha gerçekçi bir yönteme ihtiyaç duyuldu. Bu ihtiyaç, AP clamp tekniğinin geliştirilmesine yol açtı (Decker, Heijman, Silva, Hund, & Rudy, 2009; Mahajan et al., 2008).

AP clamp tekniğı, 1990'larda özellikle kardiyak elektrofizyoloji alanında kullanılmaya başlandı. Bu teknik, hücreye gerçek bir aksiyon potansiyeli dalga formu uygulayarak, iyon kanallarının fizyolojik koşullardaki davranışlarını incelemektedir. AP clamp, voltaj clamp'in bir varyasyonu olarak kabul edilir, ancak sabit bir voltaj yerine, dinamik bir voltaj dalga formu kullanır. Bu sayede, iyon kanallarının aksiyon potansiyeli sırasındaki aktiviteleri daha gerçekçi bir şekilde analiz edilebilir (Banyasz et al., 2011).

2000'lerde, AP clamp tekniğı özellikle kalp hücrelerindeki iyon kanallarının incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaya başlandı. Bu teknik, kardiyak aritmilerin mekanizmalarını anlamak ve antiaritmik ilaçların etkilerini test etmek için idealdi. AP clamp, kardiyomiyositlerdeki sodyum, potasyum ve kalsiyum

kanallarının aksiyon potansiyeli sırasındaki davranışlarını detaylı bir şekilde incelemeyi mümkün kıldı (Pogwizd, 1995; Pogwizd, Schlotthauer, Li, Yuan, & Bers, 2001).

3. VOLTAJ CLAMP TEKNİKLERİ

Voltaj clamp tekniği, 1930 ila 1940'lı yıllar arasında ilk uygulanmaya başladığında iki büyük elektrot kullanılıyordu fakat bu elektrotlar çok büyük olduğu için yalnızca mürekkeple balığının dev aksonu gibi büyük hücrelere uygulanabiliyordu (Cole, 1950; Marmont, 1949). Daha sonra daha keskin uçlara sahip camdan yapılmış elektrotlar kullanılmaya başlanmıştır. Temel mantık olarak aynı olmasına rağmen keskin uçlu elektrotlar ile daha küçük hücreler üzerinden de kayıtlar alınabilmektedir (Hodgkin & Huxley, 1952). Bu gelişme, voltaj clamp tekniğinin daha geniş bir hücre yelpazesinde kullanılmasını mümkün kılmıştır.

Bu tekniği iki kısma ayırabilmemiz mümkündür. İlki iki elektrotlu voltaj clamp. Bu yöntem voltaj clamp'in en temel şeklidir ve iki elektrot kullanılır (Hodgkin & Huxley, 1952). Burada bir elektrot hücre içi voltajı algılarken diğeri hücre içini istenilen voltaj değerinde tutmak için akım enjekte eder. Diğer bir yöntem ise tek elektrotlu voltaj clamp. Burada tek bir elektrot kullanılmaktadır ve bu elektrot iki elektrotun sığamayacağı kadar küçük hücrelerde tercih edilmektedir (Neher & Sakmann, 1976). Tek elektrot kullanıldığı için hem akım geçiren hem de voltaj kaydeden elektrot olarak görev yapmaktadır.

4. PATCH CLAMP TEKNİKLERİ

Patch clamp, dört ana konfigürasyon kullanarak iyon kanal kayıtları yapar:

4.1. Hücre Üzerinde (Cell-Attached) Konfigürasyonu

Bu teknikte, cam mikropipet bir hücre zarına sıkıca tutturularak iyon kanalının aktivitesi doğal ortamında incelenir. Hücre bütünlüğü bozulmadan iyon kanalı dinamikleri gözlemlenebilir. Hücre içi ortam değiştirilmeden iyon kanallarının uyarılara verdiği tepkiler incelenebilir (Neher & Sakmann, 1976). Bu yöntem, hücre zarındaki tek kanal aktivitelerini incelemek için yaygın olarak kullanılır (Zheng & Trudeau, 2015).

4.2. Tam Hücre (Whole-Cell) Konfigürasyonu

Pipet, hücre zarını hafifçe delinerek hücre içi sıvısı ile doğrudan temas sağlar. Bu yöntemle, hücrenin genel iyon akımları ve elektriksel özellikleri kaydedilir. Sinir hücreleri, kardiyomiyositler gibi farklı hücre tiplerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Hamill et al., 1981). Tam hücre konfigürasyonu, hücrenin toplam iyon akımlarını ölçmek ve hücre içi elektriksel aktiviteyi analiz etmek için idealdir (Molleman, 2003).

4.3. İç Dışarıda (Inside-Out) Konfigürasyonu

sitoplazmik tarafı dış ortama maruz bırakılır. Bu teknik, hücre içi faktörlerin kanal aktivitesine nasıl etki ettiğini anlamak için kullanılır. Fizyolojik ve farmakolojik çalışmalarda önemli bir yere sahiptir (Sakmann, 2013). Bu yöntem, iyon kanallarının modülasyonunu anlamak için değerlidir (Zheng & Trudeau, 2015).

4.4. Dışı Dışarıda (Outside-Out) Konfigürasyonu

Pipet elektrotu yavaşça geri çekildiğinde, zar parçası yeniden kapanarak dış ortamı simüle eden bir yapı oluşturur. Bu yöntem, dış ortamdan gelen sinyallerin kanal aktivitesine etkisini incelemek için idealdir (Hamill et al., 1981). Dışı dışarıda konfigürasyon, özellikle hücre dışı ligandların veya ilaçların iyon

kanalları üzerindeki etkilerini analiz etmek için kullanılır bu yüzden bu yöntem, farmakolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Molleman, 2003).

5. AP CLAMP TEKNİKLERİ

AP clamp tekniği, hücreye gerçek bir aksiyon potansiyeli dalga formu uygular ve bu sırada iyon kanallarından geçen akımları ölçer (Chen-Izu et al., 2012). Bu yöntem, iyon kanallarının fizyolojik koşullardaki davranışlarını daha gerçekçi bir şekilde yansıtır. AP clamp, voltaj clamp'ın bir varyasyonu olarak kabul edilir, ancak sabit bir voltaj yerine, dinamik bir voltaj dalga formu kullanır. AP clamp tekniği, farklı konfigürasyonlarda ve uygulama alanlarında kullanılabilir.

5.1. Standart AP Clamp

Bu yöntem, hücreye önceden kaydedilmiş veya modellenmiş bir aksiyon potansiyeli dalga formu uygular ve bu sırada iyon kanallarından geçen akımları ölçer (Arreola et al., 1991). Bu teknik, özellikle kardiyak hücrelerdeki iyon kanallarının aktivitesini incelemek için kullanılır.

5.2. Dinamik AP Clamp

Özelleşmiş bir AP clamp tekniğidir (Berecki et al., 2005). Bu yöntem ile akım clamp altındaki bir hücreden veya matematiksel bir modelden alınan AP dalga formu voltaj clamp altındaki bir başka hücreye veya matematiksel modele komut olarak verilir. Daha sonra komut olarak verilen hücre veya matematiksel modelden akım kaydedilir ve ilk hücreye veya matematiksel modele geri besleme olarak verilir. Bu şekilde iki hücrede birbirlerine gerçek zamanlı olarak bağlantı içinde olmaktadır. Bu sayede iki hücrede AP morfolojisi dinamik olarak değişebilmektedir. İki hücrenin dinamik olarak etkileşimi incelemek için kullanılmaktadır (Mahajan et al., 2008).

5.3. Onion-Peeling AP Clamp

Onion-Peeling tekniği, AP clamp yönteminin özel bir uygulamasıdır (Banyasz et al., 2011). Bu yöntem, aksiyon potansiyeli sırasında aktif olan iyon akımlarını katman katman ayırarak analiz etmek için geliştirilmiştir. İsmi, bir soğanın kabuklarının tek tek soyulmasına benzer şekilde bireysel iyon akımlarının sırasıyla izole edilmesinden alır. Bunu yapmak için de her bir kanalın blokörü sırasıyla hücreye verilerek kayıt alınır (Chen-Izu et al., 2012).

6. ELEKTROFİZYOLOJİK YÖNTEMLERİN UYGULAMA ALANLARI

Voltaj Clamp, Patch Clamp ve AP Clamp teknikleri, elektrofizyolojide hücre zarındaki iyon kanallarının elektriksel özelliklerini incelemek için kullanılan temel yöntemlerdir ve her biri farklı uygulama alanlarında öne çıkmaktadır.

Voltaj clamp tekniği, hücre zarındaki iyon kanallarının elektriksel özelliklerini incelemek için kullanılan temel bir yöntemdir ve özellikle büyük hücreler üzerinde etkili bir şekilde uygulanır. Bu teknik, sinir hücrelerindeki (nöronlar) aksiyon potansiyellerinin mekanizmasını aydınlatmak için kritik bir rol oynamıştır. Özellikle, sinir iletiminde rol oynayan sodyum (Na^+), potasyum (K^+) ve kalsiyum (Ca^{+2}) kanallarının aktivasyon, inaktivasyon ve deaktivasyon süreçlerini detaylı bir şekilde analiz etmek için kullanılır (Hodgkin & Huxley, 1952). Kardiyolojide, voltaj clamp, kalp hücrelerindeki (kardiyomiyositler) iyon kanallarının çalışma prensiplerini anlamak ve kalp ritim bozukluklarının (aritmiler) altında yatan mekanizmaları incelemek için yaygın olarak kullanılır (Noble, 1962). Ayrıca, bu teknik, antiaritmik ilaçların kalp hücreleri üzerindeki etkilerini test etmek için de önemli bir araçtır (Grant, 2009). Farmakolojide, voltaj clamp, yeni ilaç adaylarının iyon kanalları üzerindeki

etkilerini değerlendirmek için kullanılır. Özellikle, iyon kanallarını hedef alan ilaçların keşfi ve geliştirilmesinde bu teknikten büyük ölçüde yararlanılır (Catterall, 2000). Hücre biyolojisinde ise, voltaj clamp, hücre zarındaki iyon kanallarının yapı-işlev ilişkilerini incelemek ve hücrelerin elektrofizyolojik özelliklerini anlamak için kullanılır. Bu teknik, hücrelerin elektriksel davranışlarını kontrol eden mekanizmaların aydınlatılmasında önemli bir rol oynar (Hille, 2001).

Patch clamp tekniği, voltaj clamp'in daha gelişmiş bir versiyonu olarak, tek bir iyon kanalının aktivitesini ölçebilme yeteneği sayesinde benzersiz bir hassasiyet sunar. Bu teknik, nörobilimde sinir hücrelerindeki tek kanal akımlarını incelemek için yaygın olarak kullanılır. Özellikle, sinir iletiminde rol oynayan iyon kanallarının ve reseptörlerin işlevlerini anlamak için kritik bir araçtır. Kardiyolojide, patch clamp, kalp hücrelerindeki iyon kanallarının davranışlarını analiz etmek ve kardiyak aritmilerin mekanizmalarını aydınlatmak için kullanılır (Grant, 2009). Farmakolojide, bu teknik, yeni ilaç adaylarının iyon kanalları üzerindeki etkilerini test etmek için önemli bir araçtır (Catterall, 2000). Patch clamp, aynı zamanda hücre biyolojisinde hücre zarındaki iyon kanallarının yapı-işlev ilişkilerini anlamak için de kritik bir rol oynar. Bu teknik, hücrelerin elektriksel özelliklerini kontrol eden mekanizmaların aydınlatılmasında önemli bir araçtır (Hille, 2001). Patch clamp, farklı konfigürasyonları (hücreye bağlı, tüm hücre, içe dönük, dışa dönük) sayesinde, hücre içi ve dışı faktörlerin iyon kanalları üzerindeki etkilerini ayrı ayrı incelemeyi mümkün kılar (Molleman, 2003).

AP clamp tekniği, özellikle kardiyak hücrelerdeki iyon kanallarının fizyolojik koşullardaki davranışlarını incelemek için geliştirilmiş modern bir yöntemdir. Bu teknik, gerçek aksiyon potansiyeli dalga formlarını taklit ederek, iyon kanallarının doğal davranışlarını daha gerçekçi bir şekilde yansıtır. AP clamp,

kardiyak aritmilerin mekanizmalarını anlamak için yaygın olarak kullanılır. Özellikle, kalp hücrelerindeki sodyum, potasyum ve kalsiyum kanallarının aksiyon potansiyeli sırasındaki davranışlarını detaylı bir şekilde incelemeyi mümkün kılar (Banyasz et al., 2011). Bu teknik, antiaritmik ilaçların etkilerini test etmek ve yeni ilaç adaylarının kalp hücreleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek için de önemli bir araçtır (Chen-Izu et al., 2012). AP clamp, aynı zamanda sinir hücrelerindeki iyon kanallarının fizyolojik koşullardaki davranışlarını incelemek için de kullanılabilir. Bu teknik, hücrelerin gerçek elektriksel aktivitesini taklit ederek, iyon kanallarının doğal davranışlarını daha gerçekçi bir şekilde analiz etmeyi mümkün kılar (Arreola et al., 1991). AP clamp, özellikle kardiyak araştırmalarda ve ilaç keşfi çalışmalarında önemli bir araç olarak kullanılmaya devam etmektedir (Zheng & Trudeau, 2015).

7. AVANTAJLAR VE KISITLAMALAR

Voltaj clamp tekniğinin en büyük avantajlarından biri, belirli bir potansiyelde gerçekleşen toplam iyon akımını hassas bir şekilde ölçebilmesidir. Bu sayede, özellikle sinir hücrelerinde aksiyon potansiyelinin oluşumu sırasında sodyum (Na^+), potasyum (K^+) ve kalsiyum (Ca^{2+}) gibi iyonların kanal bazında hareketleri ayrıntılı bir şekilde incelenebilir (Hodgkin & Huxley, 1952). Ayrıca, farmakolojik çalışmalar için ideal olup, iyon kanal düzenleyici ilaçların etkilerini test etmek ve iyon kanal bozukluklarına bağlı hastalıkların mekanizmalarını anlamak için yaygın olarak kullanılır (Catterall, 2000). Bununla birlikte, voltaj clamp yöntemi genellikle bütün hücre veya büyük hücre gruplarında uygulanır ve tek kanal seviyesinde ayrıntılı bilgi sağlamakta yetersiz kalabilir (Hille, 2001). Ayrıca, hücre zarının karmaşık yapısına ve iç ortamına müdahale edilebileceği için bazı hücresel regülasyon mekanizmalarının doğal haliyle

korunması zor olabilir (Molleman, 2003). Yöntemin bir diğer kısıtlaması ise özellikle küçük hücreler veya yüksek dirençli hücre membranlarında voltaj kontrolünün ideal şekilde sağlayamamasıdır (Grant, 2009).

Patch clamp tekniği, voltaj clamp tekniğinin daha hassas ve gelişmiş bir versiyonu olarak tek bir iyon kanalının aktivitesini doğrudan ölçme imkanı sunar. En büyük avantajı, tek kanallı kayıt yapabilmesi ve iyon kanallarının bireysel davranışlarını detaylı bir şekilde inceleyebilmesidir (Polder, Weskamp, Linz, & Meyer, 2005). Bu yöntem, hücre zarının belirli bir bölgesini cam pipet ile izole ederek çalıştığı için farklı hücresel ortamlarda (örneğin bütün hücre, hücre içi-outside-out, hücre dışı-inside-out gibi konfigürasyonlarla) iyon kanal dinamikleri hakkında kapsamlı bilgi sağlar. Patch clamp, hücresel sinyal iletimi, nörotransmitter salınımı, aksiyon potansiyeli oluşumu ve hücresel homeostazın düzenlenmesi gibi konularda önemli bir rol oynar (Dubyak, 2004). Ancak yöntemin bazı kısıtlamaları da vardır. Öncelikle, teknik oldukça hassas ve zahmetli olup, deney sırasında hücreye zarar verme riski bulunmaktadır (Molleman, 2003). Ayrıca, hücreden alınan membran bölgesi bazen doğal biyolojik ortamdan farklı özellikler gösterebilir, bu da kanal aktivitesinin fizyolojik koşullardaki halinden sapmasına neden olabilir (Zheng & Trudeau, 2015). Elektrotlarla oluşturulan bağlantının (gigaseal) stabilitesi çok önemlidir ve deney boyunca korunması zor olabilir (Grant, 2009; Suchyna, Markin, & Sachs, 2009). Buna ek olarak, büyük ölçekli iyon akımlarını ölçmek yerine daha çok tek kanal bazında çalışıldığı için, hücre geneli üzerindeki etkileri doğrudan değerlendirmek zor olabilir (Catterall, 2000). Ayrıca, patch clamp deneylerinin hazırlanması ve gerçekleştirilmesi uzun zaman alabilir.

AP clamp yöntemin en büyük avantajı, aksiyon potansiyelini gerçekçi bir şekilde taklit ederek iyon kanallarının doğal fizyolojik ortamda nasıl çalıştığını göstermesidir. AP

clamp, hücrelerin uyarılabilirliği, aksiyon potansiyel süresi ve iyon akımlarının zaman içindeki değişimini detaylı bir şekilde analiz etmeye olanak tanır (Banyasz et al., 2011). Kardiyak elektrofizyolojide, özellikle anti-aritmik ilaçların test edilmesi ve aksiyon potansiyeli süresini etkileyen iyon kanal mutasyonlarının anlaşılması açısından büyük öneme sahiptir (Chen-Izu et al., 2012). Ancak AP clamp'in de bazı kısıtlamaları bulunmaktadır. Öncelikle, bu yöntem için aksiyon potansiyelinin doğal dalga formunu oluşturmak ve bunu hücreye uygulamak gereklidir, bu da teknik olarak karmaşık bir süreçtir. Ayrıca, aksiyon potansiyel sürecinde birçok farklı iyon kanalı eş zamanlı olarak çalıştığından, belirli bir iyon kanalına özgü akımları ayırmak zor olabilir (Zheng & Trudeau, 2015). Voltaj clamp tekniğine kıyasla, daha az kontrollü bir ortam sunduğundan, tek tek iyon kanal türlerinin bağımsız etkilerini analiz etmek güçleşebilir (Grant, 2009). Bunun yanı sıra, elektrot bağlantılarının stabilitesi ve hücrenin uzun süre sağlıklı tutulması da deneyin başarısı açısından kritik öneme sahiptir (Molleman, 2003).

Genel olarak, voltaj clamp iyon akımlarını kontrol altında tutarak geniş ölçekli incelemeler yapmaya olanak sağlarken, patch clamp tek kanal seviyesinde hassas ölçümler yapmaya imkan tanır, AP clamp ise aksiyon potansiyelinin doğal fizyolojik sürecini taklit ederek iyon kanallarının doğal koşullardaki işleyişini anlamaya yardımcı olur. Her üç teknik de biyofizik ve elektrofizyoloji alanlarında önemli roller üstlenmekte olup, çalışmanın amacına göre farklı avantajlar ve kısıtlamalar içermektedir.

8. SONUÇ

Elektrofizyolojik teknikler, elektrofizyoloji ve biyofizik alanlarında hücrelerin elektriksel özelliklerini ve iyon

kanallarının davranışlarını anlamak için vazgeçilmez araçlardır. Voltaj Clamp, Patch Clamp ve AP Clamp teknikleri, her biri kendi avantajları ve sınırlamaları ile farklı araştırma ihtiyaçlarına cevap verir. Voltaj clamp, hücre membran potansiyelini sabit tutarak toplam iyon akımlarını ölçmede etkili olup, aksiyon potansiyellerinin ve iyon kanal kinetiklerinin anlaşılmasında kritik bir rol oynar. Patch clamp tek bir iyon kanalının aktivitesini ölçebilme yeteneği ile benzersiz bir hassasiyet sunar. AP clamp ise, özellikle kardiyak hücrelerde iyon kanallarının fizyolojik koşullardaki davranışlarını gerçekçi bir şekilde analiz etmek için geliştirilmiş modern bir yöntemdir.

Bu teknikler, nörobilim, kardiyoloji, farmakoloji ve hücre biyolojisi gibi birçok alanda önemli keşiflere öncülük etmiştir. Voltaj clamp, sinir hücrelerindeki aksiyon potansiyellerinin mekanizmasını aydınlatırken, patch clamp tek kanal düzeyinde yapılan çalışmalarla iyon kanallarının yapı-işlev ilişkilerini anlamamıza yardımcı olmuştur. AP clamp ise, özellikle kardiyak aritmilerin mekanizmalarını anlamak ve yeni ilaç adaylarının etkilerini test etmek için kritik bir rol oynamaktadır.

Her bir teknik, kendi kullanım alanları ve sınırlamaları ile birlikte, elektrofizyolojik araştırmalarda farklı perspektifler sunar. Bu tekniklerin gelişimi, hücrelerin elektriksel davranışlarını daha derinlemesine anlamamıza ve yeni tedavi yöntemleri geliştirmemize olanak tanımıştır. Gelecekte, bu tekniklerin daha da geliştirilmesi ve yeni uygulama alanlarının keşfedilmesi, biyolojik sistemlerin elektrofizyolojik özelliklerini anlamada yeni ufuklar açacaktır.

KAYNAKÇA

- Arreola, J., Dirksen, R. T., Shieh, R., Williford, D. J., & Sheu, S.-S. (1991). Ca^{2+} current and Ca^{2+} transients under action potential clamp in guinea pig ventricular myocytes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 261(2), C393-C397. doi:10.1152/ajpcell.1991.261.2.C393
- Banyasz, T., Horvath, B., Jian, Z., Izu, L. T., & Chen-Izu, Y. (2011). Sequential dissection of multiple ionic currents in single cardiac myocytes under action potential-clamp. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 50(3), 578-581. doi:10.1016/j.yjmcc.2010.12.020
- Banyasz, T., Lozinskiy, I., Payne, C. E., Edelmann, S., Norton, B., Chen, B., . . . Balke, C. W. (2008). Transformation of adult rat cardiac myocytes in primary culture. *Experimental Physiology*, 93(3), 370-382. doi:10.1113/expphysiol.2007.040659
- Berecki, G., Zegers, J. G., Verkerk, A. O., Bhuiyan, Z. A., De Jonge, B., Veldkamp, M. W., . . . van Ginneken, A. C. (2005). HERG channel (dys) function revealed by dynamic action potential clamp technique. *Biophysical journal*, 88(1), 566-578. doi:10.1529/biophysj.104.047290
- Bures, J., Petran, M., & Zachar, J. (2013). *Electrophysiological methods in biological research*: Academic Press.
- Catterall, W. A. (2000). From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 26(1), 13-25. doi:10.1016/s0896-6273(00)81133-2
- Chen-Izu, Y., Izu, L. T., Nanasi, P. P., & Banyasz, T. (2012). From action potential-clamp to 'onion-

- peeling'technique—recording of ionic currents under physiological conditions. *Patch Clamp Technique*, 143-162.
- Cole, K. S. (1950). *Dynamic electrical characteristics of the squid axon membrane*: Naval Medical Research Institute, National Naval Medical Center.
- Decker, K. F., Heijman, J., Silva, J. R., Hund, T. J., & Rudy, Y. (2009). Properties and ionic mechanisms of action potential adaptation, restitution, and accommodation in canine epicardium. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 296(4), H1017-H1026. doi:10.1152/ajpheart.01216.2008
- Dubyak, G. R. (2004). Ion homeostasis, channels, and transporters: an update on cellular mechanisms. *Advances in physiology education*, 28(4), 143-154. doi:10.1152/advan.00046.2004
- Grant, A. O. (2009). Cardiac ion channels. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology*, 2(2), 185-194. doi:10.1161/CIRCEP.108.789081
- Halliwel, J. V., Plant, T. D., Robbins, J., & Standen, N. B. (1994). *Voltaj clamp techniques*. Paper presented at the Microelectrode Techniques. The Plymouth Workshop Handbook.
- Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B., & Sigworth, F. J. (1981). Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Archiv*, 391(2), 85-100. doi:10.1007/BF00656997
- Hille, B. (1978). Ionic channels in excitable membranes. Current problems and biophysical approaches. *Biophysical*

- journal*, 22(2), 283-294. doi:10.1016/S0006-3495(78)85489-7
- Hille, B. (2001). Ion channels of excitable membranes third edition. (*No Title*).
- Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of physiology*, 117(4), 500. doi:10.1113/jphysiol.1952.sp004764
- ITS SELECTED PIONEERS. *Neurology India*, 70(Suppl 1), S1-S113.
- Kornreich, B. G. (2007). The patch clamp technique: principles and technical considerations. *Journal of Veterinary Cardiology*, 9(1), 25-37. doi:10.1016/j.jvc.2007.02.001
- Mahajan, A., Shiferaw, Y., Sato, D., Baher, A., Olcese, R., Xie, L.-H., . . . Karma, A. (2008). A rabbit ventricular action potential model replicating cardiac dynamics at rapid heart rates. *Biophysical journal*, 94(2), 392-410. doi:10.1529/biophysj.106.98160
- Marmont, G. (1949). Studies on the axon membrane. I. A new method. *Journal of cellular and comparative physiology*, 34(3), 351- 382. doi:10.1002/jcp.1030340303
- Molleman, A. (2003). *Patch clamping: an introductory guide to patch clamp electrophysiology*: John Wiley & Sons.
- Moore, J. W., & Cole, K. S. (1963). Voltaj clamp techniques. *Physical techniques in biological research*, 6, 263-321.
- Neher, E., & Sakmann, B. (1976). Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature*, 260(5554), 799-802. doi:10.1038/260799a0

- Noble, D. (1962). A modification of the Hodgkin—Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials. *The Journal of physiology*, 160(2), 317. doi:10.1113/jphysiol.1962.sp006849
- Pogwizd, S. M. (1995). Nonreentrant mechanisms underlying spontaneous ventricular arrhythmias in a model of nonischemic heart failure in rabbits. *Circulation*, 92(4), 1034- 1048. doi:10.1161/01.cir.92.4.1034
- Pogwizd, S. M., Schlotthauer, K., Li, L., Yuan, W., & Bers, D. M. (2001). Arrhythmogenesis and contractile dysfunction in heart failure: roles of sodium-calcium exchange, inward rectifier potassium current, and residual β -adrenergic responsiveness. *Circulation research*, 88(11), 1159-1167. doi:10.1161/hh1101.091193
- Polder, H. R., Weskamp, M., Linz, K., & Meyer, R. (2005). Voltaj-clamp and patch-clamp techniques. In *Practical methods in cardiovascular research* (pp. 272-323): Springer.
- Rubaiy, H. N. (2017). A short guide to electrophysiology and ion channels. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 20, 48-67. doi:10.18433/J32P6R
- Sakmann, B. (2013). *Single-channel recording*: Springer Science & Business Media.
- Suchyna, T. M., Markin, V. S., & Sachs, F. (2009). Biophysics and structure of the patch and the gigaseal. *Biophysical journal*, 97(3), 738-747.
- Tandon, P., & Chandra, P. S. (2022). EVOLUTION OF NEUROSCIENCES: A HISTORICAL REVIEW WITH BRIEF BIOGRAPHIES OF SOME OF
- Zheng, J., & Trudeau, M. C. (2015). *Handbook of ion channels*: Crc Press.

BİYOFİZİK KONULARI

yaz
yayınları

YAZ Yayınları

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3

İscehisar / AFYONKARAHİSAR

Tel : (0 531) 880 92 99

yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com