

Η Εφαρμογή της Οπτογενετικής στην Έρευνα των Αγχωδών Διαταραχών

Γεωργία Μπεκιάρη (Α.Μ.: neu17008)

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Νευροεπιστήμη της Εκπαίδευσης»

Τμήμα Εκπαιδευτικής και Κοινωνικής Πολιτικής, Πανεπιστήμιο Μακεδονίας

#### Σημείωμα της συγγραφέως

Το δοκίμιο αυτό αποτελεί πτυχιακή εργασία, που συντάχθηκε για το πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Νευροεπιστήμη της Εκπαίδευσης» του τμήματος Εκπαιδευτικής και Κοινωνικής Πολιτικής του Πανεπιστημίου Μακεδονίας και υποβλήθηκε τον Οκτώβριο του 2018.

Η συγγραφέας βεβαιώνει ότι το περιεχόμενο του παρόντος έργου είναι αποτέλεσμα προσωπικής εργασίας και ότι έχει γίνει η κατάλληλη αναφορά στην εργασία τρίτων, όπου κάτι τέτοιο ήταν απαραίτητο, σύμφωνα με τους κανόνες της ακαδημαϊκής δεοντολογίας.

### Περίληψη

Η οπτογενετική είναι μια τεχνική, που χρησιμοποιεί γενετικές και οπτικές μεθόδους. Τα τελευταία χρόνια υπάρχει ένα διαρκώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρήση της οπτογενετικής, στην έρευνα των ψυχικών διαταραχών. Αυτή η εργασία αποτελεί μια βιβλιογραφική ανασκόπηση της χρήσης της οπτογενετικής, στην έρευνα των αγχωδών διαταραχών. Αρχικά, θα αναφερθούν οι μέθοδοι της οπτογενετικής, τα εργαλεία, που χρησιμοποιούνται, και οι διαδικασίες που τη συνοδεύουν. Στο δεύτερο μέρος, η εργασία θα εστιάσει στις αγχώδεις διαταραχές και -κυρίως- στην κατηγοριοποίησή τους, στη συμπτωματολογία και στα αίτια εμφάνισής τους. Στο τρίτο μέρος, θα παρουσιαστούν μελέτες και ευρήματα από έρευνες, όπου μέθοδοι της οπτογενετικής εφαρμόζονται σε νευρωνικά κυκλώματα, που συνδέονται με το άγχος και το φόβο. Τέλος, στον επίλογο, θα αναφερθούν περιορισμοί και σκέψεις για τη μελλοντική χρήση της οπτογενετικής. Η εργασία αναμένεται να αναδείξει τη χρήση της οπτογενετικής στην έρευνα των αγχωδών διαταραχών, κυρίως, μέσω της παρουσίασης του τρόπου, με τον οποίο η οπτογενετική χρησιμοποιείται στο εν λόγω πεδίο αλλά και μέσω της παρουσίασης ευρημάτων, που έχουν ήδη φανερώσει κρυφές πτυχές για τη νευροβιολογική βάση της λειτουργίας του φόβου και του άγχους. Επίσης, αποσκοπεί στη σύνδεση των πεδίων της οπτογενετικής και της ψυχοπαθολογίας, υπό το πρίσμα της διεπιστημονικότητας στις νευροεπιστήμες.

*Λέξεις-κλειδιά: Οπτογενετική, αγχώδεις διαταραχές, ψυχοπαθολογία*

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	2
Πρόλογος .....	4
Οπτογενετική .....	5
Ιστορικά Στοιχεία .....	5
Η Τεχνική της Οπτογενετικής .....	10
Αγχώδεις Διαταραχές .....	29
Ιστορικά Στοιχεία .....	29
Οι Αγχώδεις Διαταραχές .....	33
Παρεμβάσεις .....	48
Η Εφαρμογή της Οπτογενετικής στην Έρευνα των Αγχωδών Διαταραχών .....	52
Η Έρευνα του Άγχους και του Φόβου .....	52
Το Μοντέλου του Εξαρτημένου Φόβου .....	54
Εγκεφαλικές Περιοχές και Νευρωνικά Κυκλώματα .....	55
Επίλογος .....	79
Βιβλιογραφία .....	84
Abstract .....	116

## Πρόλογος

Σε αυτό το σημείο θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα καθηγητή κ. Ευστράτιο Κοσμίδη για τον χρόνο που μου αφιέρωσε κατά την εκπόνηση της παρούσας εργασίας, για τις πολύτιμες συμβουλές του και για την ευχάριστη συνεργασία.

Επίσης, οφείλω να ευχαριστήσω τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, τον κ. Λάζαρο Τριάρχου και την κ. Δέσποινα Τατά, για τον χρόνο και το ενδιαφέρον τους.

Τέλος, ευχαριστώ όλους τους κοντινούς μου ανθρώπους για τη συμπαράστασή τους, την ενθάρρυνση και την υπομονή τους όλο αυτό το διάστημα.

## Οπτογενετική

### **Ιστορικά Στοιχεία**

Ο όρος “οπτογενετική” αρχικά χρησιμοποιήθηκε ως κοινή ονομασία για προσεγγίσεις που συνδυάζουν “γενετική στόχευση συγκεκριμένων νευρώνων ή πρωτεϊνών με οπτική τεχνολογία για απεικόνιση ή έλεγχο των στόχων μέσα σε άθικτα, ζωντανά νευρικά κυκλώματα” (Deisseroth et al., 2006). Το 2019, η αναθεωρημένη έκδοση του Αγγλικού Λεξικού της Οξφόρδης θα ορίσει την οπτογενετική ως “τον κλάδο της βιοτεχνολογίας που συνδυάζει τη γενετική μηχανική με οπτικές τεχνολογίες για την παρατήρηση και τον έλεγχο της λειτουργίας γενετικά στοχευμένων ομάδων κυττάρων με φως, συχνά σε άθικτο ζώο” (Miesenböck, 2009).

Παρά το γεγονός ότι η οπτογενετική είναι ένα πολύ πρόσφατο πεδίο, οι ρίζες της εντοπίζονται πολλές δεκατίες πριν. Ο γνωστός Ισπανός ιστολόγος Santiago Ramón y Cajal, στα τέλη του 19ου αιώνα, ανέφερε ότι το νευρικό σύστημα αποτελείται από επιμέρους μονάδες, που είναι δομικά ανεξάρτητες μεταξύ τους, και ότι η μονάδα δομής του νευρικού συστήματος είναι ο μεμονωμένος νευρώνας (Yuste, 2015). Η χρησιμότητα της επισήμανσης των επιμέρους νευρώνων ήταν σαφής στον Ramón y Cajal, ο οποίος διεξήγαγε λεπτομερή ιστολογική ανάλυση μεμονωμένων νευρώνων σε πυκνά νευρικά κυκλώματα. Πλέον, η εμφάνιση της οπτογενετικής επιτρέπει στους ερευνητές να παρατηρήσουν γενετικά στοχευμένους νευρώνες σε ζωντανούς οργανισμούς και να εντοπίσουν ή να ελέγξουν την ηλεκτρική και βιοχημική δραστηριότητα των κυττάρων (Deisseroth et al., 2006).

Το 1979, ο Francis Crick, στο άρθρο του “Thinking about the Brain”, πρότεινε ότι η κύρια πρόκληση που αντιμετωπίζει η νευροεπιστήμη είναι η ανάγκη να ελέγχεται ένας τύπος κυττάρου στον εγκέφαλο, αφήνοντας τους άλλους αμετάβλητους.

Δεδομένου ότι τα ηλεκτρόδια δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ακριβή στοχοθέτηση των καθορισμένων κυττάρων και τα φάρμακα δρουν πολύ αργά, ο Crick αργότερα σκέφτηκε ότι το φως μπορεί να έχει τις αναγκαίες ιδιότητες, ώστε να χρησιμεύσει ως εργαλείο ελέγχου, αλλά την εποχή εκείνη, οι νευροεπιστήμονες γνώριζαν ότι δεν υπήρχε σαφής τεχνική, ώστε να επιτευχθεί η ανταπόκριση συγκεκριμένων κυττάρων στο φως (Deisseroth, 2010).

Οι πρώτες ιδέες για τον τρόπο εφαρμογής οπτικής μέτρησης της νευρωνικής δραστηριότητας προέκυψαν στα τέλη της δεκαετίας του '60, από τη μελέτη του Cohen και των συνεργατών του πάνω στις αλλαγές της διάχυσης του φωτός, της διδιάθλασης και του φθορισμού, που συνδέονται με τα δυναμικά δράσης (Dugué, Akemann, & Knöpfel, 2012). Περίπου την ίδια εποχή, μικροβιολόγοι βρήκαν ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί παράγουν πρωτεΐνες, οι οποίες, δεσμεύοντας το φως, ρυθμίζουν άμεσα τη ροή των ιόντων, διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης. Το 1971, οι Stoeckenius και Oesterhelt ανακάλυψαν ότι μία πρωτεΐνη, που βρίσκεται σε αρχαιοβακτήρια, δρα ως αντλία ιόντων που μπορεί να ενεργοποιηθεί ταχέως από φωτόνια ορατού φωτός (Oesterhelt & Stoeckenius, 1971). Η πρωτεΐνη αυτή ονομάστηκε βακτηριοροδοψίνη (Bacteriorhodopsin). Αυτή η πρωτότυπη, για τα τότε δεδομένα, εργασία συνεχίστηκε με την περαιτέρω αναγνώριση άλλων πρωτεϊνών, με αντίστοιχες ιδιότητες. Το 1977, αναγνωρίστηκε η αλοροδοψίνη (Halorhodopsin) από τους Matsuno-Yagi και Mukohata, και το 2002, μελετήθηκε η διαυλοροδοψίνη (Channelrhodopsin) από τον Hegemann, τον Nagel και τους συνεργάτες τους (Matsuno-Yagi & Mukohata, 1977; Nagel et al., 2002). Η ομάδα του Nagel ήταν η πρώτη που επέκτεινε την χρηστικότητα της διαυλοροδοψίνης, για τον έλεγχο της νευρωνικής δραστηριότητας σε άθικτο ζώο, δείχνοντας ότι τα κινητικά πρότυπα σε ένα είδος σκουληκιών, το *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), θα μπορούσαν να

ενεργοποιηθούν με στοχευμένη έκφραση και διέγερση της διαυλοροδοψίνης, σε επιλεγμένα νευρικά κυκλώματα (Nagel et al., 2005).

Το 1994, ο Martin Chalfie δημοσίευσε ένα άρθρο στο περιοδικό Science, όπου περιέγραψε τις μελέτες του πάνω σε μία πρωτεΐνη, την Πράσινη Φθορίζουσα Πρωτεΐνη (Green Fluorescent Protein, GFP), που βρίσκεται στη βιοφωταυγή μέδουσα *Aequorea victoria*. Ο σχηματισμός της GFP ρυθμίζεται από ένα γονίδιο που μπορεί να ενσωματωθεί στα γονιδιώματα άλλων οργανισμών. Ο Chalfie ενσωμάτωσε την GFP σε *C. elegans* και κατάφερε να χρωματίσει έξι μεμονωμένα κύτταρα, που μπόρεσαν, στη συνέχεια, να εντοπιστούν. Ο Chalfie έδειξε ότι η GFP, που εκφράζεται σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα, είναι ικανή να παράγει ισχυρό πράσινο φθορισμό, όταν διεγείρεται από μπλε φως και ότι ο σχηματισμός του χρωμοφόρου δεν είναι ειδικός για ένα συγκεκριμένο είδος. Εφηύρε έναν νέο τρόπο, με τον οποίο οι επιστήμονες θα μπορούσαν να αξιοποιήσουν ένα εργαλείο της φύσης, για να παρακολουθήσουν τις ενέργειες των επιμέρους κυττάρων, και ένα εξαιρετικό μέσο για την παρακολούθηση της γονιδιακής έκφρασης και του εντοπισμού της πρωτεΐνης, σε ζωντανά κύτταρα (Chalfie, Tu, Euskirchen, Ward & Prasher, 1994).

Το 2002, οι Gero Miesenböck και Boris Zeman, στο Memorial Sloan Kettering Cancer Center, στη Νέα Υόρκη, έγιναν οι πρώτοι ερευνητές που χρησιμοποίησαν μία οψίνη για να καταστήσουν ένα κύτταρο του εγκεφάλου ευαίσθητο στο φως (Zeman, Lee, Ng & Miesenböck, 2002; Lima & Miesenböck, 2005). Η μέθοδος χρησιμοποιεί ένα οπτικό σήμα, το οποίο μπορεί να αποκωδικοποιηθεί και να μετατραπεί σε ηλεκτρική δραστηριότητα, μόνο από ένα υποσύνολο όλων των φωτεινών νευρώνων. Η εξειδίκευση του τύπου των κυττάρων (cell specificity) μπορεί να προκύψει είτε από τον τροπισμό (η είσοδος του ιού στα κύτταρα μέσω της σύνδεσής του σε ειδικούς υποδοχείς) του ίδιου του ιικού φορέα είτε από θραύσματα

του εκκινητή (promoter) στον κατασκευασμένο ιό, καθώς η εξειδίκευση του εκκινητή διαφέρει μεταξύ των περιοχών και των ειδών του εγκεφάλου και πρέπει να χαρακτηρίζεται ιστολογικά, για την επίτευξη της κυτταρικής εξειδίκευσης, ανάλογα με τον επιλεγμένο ιικό φορέα, τον οργανισμό και την εγκεφαλική περιοχή (Gerits & Vanduffel, 2013). Ο δέκτης του οπτικού σήματος κωδικοποιείται στο DNA και το ανταποκρινόμενο υποσύνολο των νευρώνων μπορεί, επομένως, να περιορίζεται γενετικά σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων ή νευρικά κυκλώματα.

Χρησιμοποίησαν μία οψίνη που λήφθηκε από τον αμφιβληστροειδή ενός είδους μύγας, τη *Drosophila*, καθώς οι φωτοϋποδοχείς των ματιών των σπονδυλωτών και των ασπόνδυλων είναι φυσικά εξοπλισμένοι με οψίνες, που τους επιτρέπουν να ανταποκρίνονται στο φως. Σύντομοι παλμοί φωτός λέιζερ επέτρεψαν στους ερευνητές να ενεργοποιήσουν γενετικά οριοθετημένες ομάδες νευρώνων και να ελέγξουν συγκεκριμένες συμπεριφορές σε μύγες, που κινούνταν ελεύθερα. Ο Miesenböck θεωρείται, πλέον, ένας από τους πατέρες της οπτογενετικής.

Τον Αύγουστο του 2005, ένα άρθρο, που δημοσιεύθηκε στο *Nature Neuroscience* από το Boyden και τους συνεργάτες του, περιέγραψε για πρώτη φορά την εισαγωγή μίας μικροβιακής οψίνης, της διαυλοροδοψίνης, σε νευρικά κύτταρα, χωρίς άλλες χημικές ουσίες ή συστατικά, όπου οι νευρώνες απέκτησαν ευαισθησία στο φως. Το εργαστήριο του Karl Deisseroth, στο Τμήμα της Βιολογικής Μηχανικής του Stanford, συμπεριλαμβανομένων των μεταπτυχιακών φοιτητών Ed Boyden και Feng Zhang, δημοσίευσε την πρώτη επίδειξη ενός συστήματος οπτογενετικής, που δίνει τη δυνατότητα ελέγχου των κυττάρων σε κλίμακα χιλιοστών του δευτερολέπτου (σε αντίθεση με παλαιότερες τεχνικές, που επέτρεπαν τον έλεγχο της νευρωνικής δραστηριότητας σε χρονική κλίμακα λεπτών και δευτερολέπτων), χρησιμοποιώντας καλλιεργημένους νευρώνες θηλαστικών με τη χρήση διαυλοροδοψίνης, η οποία



καθίσταται χρήσιμη για μελέτες οπτογενετικής, λόγω της μοριακής της ταυτότητας και των κύριων ιδιοτήτων της, όπως είχε αναφερθεί για πρώτη φορά, τον Νοέμβριο του 2003, από τον Georg Nagel. Σε αντίθεση με την οψίνη από τη μύγα, η διαυλοροδοψίνη μετατρέπει το φως σε ηλεκτρισμό σε ένα μόνο βήμα, σχεδόν στην ταχύτητα των ηλεκτρικών παλμών (Boyden, Zhang, Bamberg, Nagel & Deisseroth, 2005).

Η χρήση της διαυλοροδοψίνης σε νευρώνες αναδείχθηκε και από άλλες εργασίες, που δημοσιεύθηκαν τον ίδιο καιρό. Ενδεικτικά, η διαυλοροδοψίνη χρησιμοποιήθηκε από την ομάδα του Hiromu Yawo σε άθικτο νευρικό ιστό του ιππόκαμπου τρωκτικών (Ishizuka, Kakuda, Araki & Yawo, 2006), από τους Herlitze και Landmesser στην σπονδυλική στήλη εμβρύων κοτόπουλου, με σκοπό τη μελέτη της ανάπτυξης κινητικών κυκλωμάτων (Xiang et al., 2005) και από το εργαστήριο του Zhuo-Hua Pan σε αμφιβληστροειδείς νευρώνες τρωκτικών, ως πιθανή στρατηγική για την αποκατάσταση της όρασης, μετά από εκφυλισμό ραβδίων και κωνίων (Bi et al., 2006). Το 2009, ο Han και οι συνεργάτες του παρουσίασαν οπτική ενεργοποίηση νευρώνων στον μετωπιαίο φλοιό μη ανθρώπινων πρωτευόντων με τη χρήση διαυλοροδοψίνης, για να εκτιμηθεί η επίδραση της επιλεκτικής ενεργοποίησης φλοιϊκών διεγερτικών νευρώνων. Τα επόμενα χρόνια, άλλοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η βακτηριοροδοψίνη και η αλοροδοψίνη, καθώς και η διαυλοροδοψίνη, είναι ικανές να ενεργοποιούν και να απενεργοποιούν νευρώνες ταχέως και χωρίς κινδύνους για τα κύτταρα, μέσω της ακτινοβολίας από το φως διαφορετικών μηκών κύματος (Erofeev et al., 2015).

Το 2010, η οπτογενετική επιλέχθηκε ως η “Μέθοδος της Χρονιάς”, σε όλα τα πεδία της επιστήμης και της μηχανικής, από το διεπιστημονικό ερευνητικό περιοδικό Nature Methods και επισημάνθηκε από το επιστημονικό περιοδικό Science ως μία

από τις μεγαλύτερες ιδέες των τελευταίων 10 ετών (Stepping Away From the Trees For a Look at the Forest, 2010). Το 2010, το βραβείο HFSP Nakasone, που έχει σχεδιαστεί για να τιμήσει τους επιστήμονες που έχουν πραγματοποιήσει πρωτοποριακή έρευνα στον τομέα της βιολογίας, απονεμήθηκε στον Karl Deisseroth για την “πρωτοποριακή του εργασία για την ανάπτυξη μεθόδων οπτογενετικής για τη μελέτη της λειτουργίας των νευρωνικών δικτύων που αποτελούν τη βάση της συμπεριφοράς”. Το 2012, ο Gero Miesenböck, για τις “πρωτοποριακές οπτογενετικές προσεγγίσεις στον χειρισμό της νευρωνικής δραστηριότητας και τον έλεγχο της συμπεριφοράς των ζώων”, τιμήθηκε με το Διεθνές Βραβείο Υγείας InBev-Baillet Latour, ένα βραβείο με σκοπό την αναγνώριση ατόμων, των οποίων η εργασία έχει συμβάλει σημαντικά στη βελτίωση της ανθρώπινης υγείας. Το 2013, ο Ernst Bamberg, ο Ed Boyden, ο Karl Deisseroth, ο Peter Hegemann, ο Gero Miesenböck και ο Georg Nagel διακρίθηκαν με το Brain Prize, ένα διεθνές επιστημονικό βραβείο που τιμά επιστήμονες με εξαιρετική συμβολή στις νευροεπιστήμες, για την “εφεύρεση και βελτίωση της οπτογενετικής” (Reiner & Isacoff, 2013).

## Η Τεχνική της Οπτογενετικής

**Αισθητήρες.** Οι οπτογενετικές μέθοδοι για την παρακολούθηση της κυτταρικής δραστηριότητας είναι ανεκτίμητες στη νευροβιολογική έρευνα. Οι οπτικοί δείκτες παρέχουν ένα ισχυρό μέσο για την παρακολούθηση της κυτταρικής δραστηριότητας, ιδιαίτερα όταν βασίζονται σε πρωτεΐνες και μπορούν να κωδικοποιηθούν στο γενετικό υλικό των κυττάρων. Οι κωδικοποιήσιμοι ανιχνευτές μπορούν να εισαχθούν σε κύτταρα, ιστούς ή διαγονιδιακούς οργανισμούς με γενετικό χειρισμό, επιλεκτικά εκφρασμένο σε ανατομικά ή λειτουργικά καθορισμένες ομάδες κυττάρων και, ιδανικά, η δραστηριότητα καταγράφεται επί τόπου, χωρίς απαίτηση για

εξωγενείς παράγοντες (Miesenböck, De Angelis & Rothman, 1998). Οι γενετικά κωδικοποιημένοι οπτικοί αισθητήρες της κυτταρικής δραστηριότητας είναι ισχυρά εργαλεία που μπορούν να στοχεύουν σε συγκεκριμένους τύπους κυττάρων. Οι αισθητήρες (sensors) μεταφράζουν τα κυτταρικά φυσιολογικά σήματα σε οπτικά και καθιστούν ορατή την κυτταρική λειτουργία (Miesenböck, 2011). Οι φθορίζοντες αισθητήρες σχεδιάζονται σχεδόν αποκλειστικά με βάση την πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP). Για να δημιουργηθούν πλήρως γενετικά κωδικοποιημένοι φθορίζοντες αισθητήρες, οι κλασικές προσεγγίσεις συνίσταντο στη σύντηξη μιας ή περισσότερων φθορίζουσών πρωτεϊνών με διάφορα τμήματα πρωτεϊνών που προσφέρουν ευαισθησία σε σήματα, όπως το δυναμικό μεμβράνης, ιόντα (π.χ. ασβέστιο, pH, χλωριούχο ή ψευδάργυρο) ή νευροδιαβιβαστές, όπως το γλουταμινικό οξύ (Dugué et al., 2012).

Οι ευαίσθητες στην τάση φθορίζουσες πρωτεΐνες είναι σε θέση να καταγράφουν τις μεταβολές της τάσης στις κυτταρικές μεμβράνες, επιτρέποντας την απεικόνιση των δυναμικών δράσης. Οι περισσότερες προσπάθειες στην απεικόνιση τάσης περιλαμβάνουν τη σύνθεση χρωμοφόρων, που μπορούν να δεσμευτούν στην πλασματική μεμβράνη των κυττάρων (Peterka, Takahashi & Yuste, 2011). Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από μία ευαίσθητη στην τάση δομή (domain), που λαμβάνεται από μια ευαίσθητη στην τάση φωσφατάση (ένα ένζυμο που συμβάλλει στην κυτταρική ρύθμιση και σηματοδότηση) από τον οργανισμό *Ciona intestinalis* (ένα ασκιοειδές του γένους των μαλακίων), σε συνδυασμό με ένα ή δύο φθοροφόρα (Dimitrov et al., 2007; Butler, 2012). Ένα παράδειγμα μηχανισμού ανίχνευσης τάσης, που εξετάστηκε από τον Ehrenberg και τους συνεργάτες του το 1988, είναι η ανακατανομή (redistribution), όπου η αλλαγή στο ηλεκτρικό πεδίο προκαλεί το χρωμοφόρο να μετακινηθεί μέσα ή έξω από το κύτταρο, είτε εντελώς είτε μερικώς,

αλλάζοντας την απόλυτη συγκέντρωση του φθοροφόρου στο κύτταρο, με αποτέλεσμα τον φθορισμό του κυττάρου (Peterka et al., 2011).

Υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία στους γενετικά τροποποιημένους δείκτες τάσης (Genetically encoded voltage indicators, GEVIs), οι οποίοι μετράνε το δυναμικό της κυτταρικής μεμβράνης. Ο πρώτος δείκτης παρουσιάστηκε από τους Siegel και Isacoff, το 1997. Ονομάστηκε FlaSh, και αποτελεί μια σύντηξη της GFP με ευαίσθητα στην τάση κανάλια καλίου (Siegel & Isacoff, 1997). Από τότε, έχουν δημιουργηθεί πολλοί δείκτες τάσης, που διαφέρουν ως προς την ευαισθησία, την ταχύτητα και το μέγεθος του σήματος, την φωτεινότητα, τη φωτοσταθερότητα, την εξειδίκευση και άλλα επιμέρους χαρακτηριστικά (Nakajima, Jung, Yoon & Baker 2016; Miesenböck, 2009). Ενδεικτικά, αναφέρεται ο δείκτης τάσης SPARC (Sodium channel Protein based Activity Reporting Construct), ο οποίος δημιουργήθηκε από τους Kazuto Ataka και Vincent A. Pieribone (2002). Σε αυτή την περίπτωση, η GFP προστέθηκε σε ευαίσθητα στην τάση κανάλια νατρίου και παρατηρήθηκε ταχύτερη ανταπόκριση των καναλιών στο σήμα φθορισμού.

Έναν διαδεδομένο γενετικά κωδικοποιημένο δείκτη τάσης αποτελεί ο ArcLight, που βασίζεται στη σύντηξη της ευαίσθητης στην τάση φωσφατάσης του *Ciona intestinalis* και μιας μεταλλαγμένης έκδοσης της φθορίζουσας πρωτεΐνης pHluorin (Jin et al., 2012). Ο δείκτης ArcLight επιτρέπει γενετικά στοχευμένη οπτική ηλεκτροφυσιολογία σε άθικτα νευρικά κυκλώματα, δίνοντας πληροφορίες για το δυναμικό της μεμβράνης σε σώματα, νευράξονες, δενδρίτες, προσυναπτικά και μετασυναπτικά τερματικά, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* (Cao et al., 2013).

Μία ακόμα κατηγορία αισθητήρων αποτελούν οι γενετικά τροποποιημένοι δείκτες ασβεστίου (Genetically encoded calcium indicators, GECIs). Οι GECIs μετράνε την αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου, ωστόσο, είναι κατάλληλοι, και, για τον

εντοπισμό περιοχών του εγκεφάλου με συσχετιζόμενη δραστηριότητα και των περιοχών που ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένα ερεθίσματα, σε συμπεριφερόμενα ζώα. Καθώς η εισροή ασβεστίου στο κύτταρο συνδέεται με το δυναμικό δράσης, η ανίχνευση του ασβεστίου μπορεί, έμμεσα, να παράσχει πληροφορίες σχετικά με την κυτταρική δραστηριότητα. Επίσης, η αύξηση στο ενδοκυττάριο ασβέστιο συνδέεται με την απελευθέρωση συναπτικών κυστιδίων, συνεπώς και με την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών. Γενικά, οι GECIs αποτελούνται από έναν τομέα (domain) δέσμευσης ασβεστίου (όπως η ενδοκυτταρική ρυθμιστική πρωτεΐνη καλμοδουλίνη και η τροπονίνη C, μέρος του συμπλέγματος της πρωτεΐνης τροπονίνης), συγχωνευμένο με μία ή δύο φθορίζουσες πρωτεΐνες (Tian, Hires & Looger, 2012).

Ο πρώτος δείκτης ασβεστίου κατασκευάστηκε το 1997, και πήρε το όνομα Cameleon-1 (Miyawaki et al., 1997). Ένας πολύ διαδεδομένος γενετικά τροποποιημένος δείκτης ασβεστίου είναι ο GcaMP, ο οποίος αναπτύχθηκε για πρώτη φορά, από το Nakai και τους συνεργάτες του, το 2001. Η αρχική έκδοση βελτιώθηκε διαδοχικά, μέσω στοχευόμενης μεταλλαξιγένεσης για την αύξηση της μεταβολής του φθορισμού ως ανταπόκριση στο ασβέστιο, την τάση δέσμευσης του ασβεστίου και την επιτάχυνση της χρονικής απόκρισης, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη 6 γενεών GcaMP (Simpson & Looger, 2018).

Μία ομάδα οπτικών αισθητήρων αποτελούν οι αισθητήρες χλωρίου (Chloride Sensors). Το χλώριο (Chloride, Cl<sup>-</sup>) είναι ένα ανιόν, το οποίο αποτελεί δομικό στοιχείο των κυττάρων. Οι ανωμαλίες στη ρύθμισή του είναι καθοριστικής σημασίας για την ανάπτυξη πολλών σημαντικών ασθενειών, όπως οι κινητικές διαταραχές και η επιληψία (Markova, Mukhtarov, Real, Jacob & Bregestovski, 2008). Τα ιόντα χλωρίου παίζουν ρόλο σε πολλές φυσιολογικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης του όγκου των κυττάρων, του ενδοκυτταρικού pH και της

σταθεροποίησης του δυναμικού ηρεμίας της μεμβράνης. Στους νευρώνες, το χλώριο είναι ο κύριος μεσολαβητής της συναπτικής αναστολής, καθώς τόσο το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (gamma-Aminobutyric acid, GABA) όσο και η γλυκίνη (Glycine, Gly) ενεργοποιούν διαύλους ιόντων χλωρίου για τη δημιουργία μετασυναπτικών ηλεκτρικών σημάτων (Kuner & Augustine, 2000).

Το 1999, οι Wachter και Remington έδειξαν ότι η Κίτρινη Φθορίζουσα Πρωτεΐνη (Yellow Fluorescent Protein, YFP) μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αδύναμος αισθητήρας χλωρίου (Bregestovski, Waseem & Mukhtarov, 2009). Τον επόμενο χρόνο, οι Kuner και Augustine συνέθεσαν το δείκτη Clomeleon, μια πρωτεΐνη που περιέχει YFP σε συνδυασμό με την Κυανή Φθορίζουσα Πρωτεΐνη (Cyan Fluorescent Protein, CFP) (Kuner & Augustine, 2000). Ο εν λόγω δείκτης διεγείρεται από το ορατό φως και χρησιμοποιείται σε διαγονιδιακά ζώα για την μελέτη της αναλογίας του χλωρίου στους νευρώνες (Markova et al., 2008).

Διαδεδομένοι είναι και οι αισθητήρες pH. Παρόλο που έχουν αναπτυχθεί αρκετές φθορίζουσες πρωτεΐνες ευαίσθητες στο pH, κυρίως οι αισθητήρες pH βάσει της πρωτεΐνης pHluorin χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση της συναπτικής μεταβίβασης (Tantama, Hung & Yellen, 2012). Η pHluorin χρησιμοποιείται ευρέως για την παρακολούθηση, τόσο της προσυναπτικής όσο και της μετασυναπτικής λειτουργίας, κατά τη διάρκεια της συναπτικής μετάδοσης. Οι pHluorins αναπτύχθηκαν από τους Gero Miesenbock, Dino A. De Angelis, και James E. Rothman, το 1998. Είναι GFPs που περιέχουν μεταλλάξεις, οι οποίες προσδίδουν σημαντική ευαισθησία στο pH, κατά τον φθορισμό τους.

Κατά τη διάρκεια ενός δυναμικού δράσης, η απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή προκαλεί απώλεια πρωτονίων του κυττάρου, μειώνοντας έτσι το pH του. Η pHluorin συντήκεται στα τοιχώματα των συναπτικών κυστιδίων εντός του κυττάρου και στο

όξινο pH εντός των κυστιδίων, η pHluorin είναι μη φθορίζουσα. Με την απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή, αυξάνεται το pH του κυστιδίου, προκαλώντας φθορισμό του αισθητήρα pH, ο οποίος μπορεί στη συνέχεια να καταγραφεί (Miesenbock et al., 1998).

Ο ψευδάργυρος (Zinc, Zn) είναι άλλο ένα σημαντικό, στη φυσιολογία του κυττάρου, ιόν, που εικάζεται ότι παίζει ρόλο σε φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες του εγκεφάλου, όπως η συναπτική πλαστικότητα και η διεγερτική τοξικότητα. Ο ψευδάργυρος βρίσκεται κυρίως σε συναπτικά κυστίδια γλουταμινεργικών νευρώνων στον εγκεφαλικό φλοιό. Συσσωρεύεται σε νευρώνες μετά από διεγερτική τοξικότητα και αποτελεί έναν αλλοστερικό τροποποιητή (ένωση που δρα ως ρυθμιστής ενός ενζύμου και μπορεί να αναστέλλει ή να ενεργοποιεί το συγκεκριμένο ένζυμο) γλουταμινικών και GABA υποδοχέων (Frederickson, Koh & Bush, 2005). Οι κύριοι γενετικά κωδικοποιημένοι δείκτες για την παρακολούθηση του ψευδάργυρου στα κύτταρα είναι ο αισθητήρας Cys2His2 και ο δείκτης FluoZin-3, οι οποίοι έδειξαν μεγάλη συγκέντρωση ψευδάργυρου στα μιτοχόνδρια καλλιεργημένων νευρώνων του ιππόκαμπου και αποκάλυψαν ότι η νευρωνική απόκριση στο γλουταμικό οξύ εξαρτάται από το εξωκυτταρικό Zn (Dittmer, Miranda, Gorski & Palmer, 2009; Qian & Noebels, 2005).

Πλέον, είναι δυνατή η οπτική καταγραφή της απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών και οι πιο γνωστοί δείκτες είναι οι γενετικά κωδικοποιημένοι αισθητήρες της συγκέντρωσης του γλουταμινικού οξέος. Το γλουταμινικό οξύ (Glutamate, GLU) είναι ο πρωταρχικός διεγερτικός νευροδιαβιβαστής στον εγκέφαλο και η ακριβής μέτρηση του χωροχρονικού προτύπου της συναπτικής απελευθέρωσής του παρέχει πληροφορίες για διάφορες διεργασίες του εγκεφάλου, συμπεριλαμβανομένων των συναπτικών συνδέσεων, της εγκεφαλικής ισχαιμίας και των μηχανισμών μάθησης και

μνήμης (Hires, Zhu & Tsien, 2008). Οι πιο γνωστοί δείκτες για τη μελέτη του γλουταμινικού οξέος είναι ο FLIPE (FLuorescent Indicator Protein for Glutamate), ο GluSnFR (Glutamate-Sensitive Fluorescent Reporter) και ο SuperGluSnFR.

Οι δείκτες GLU βασίζονται στις κυανές και κίτρινες φθορίζουσες πρωτεΐνες, οι οποίες προσδένονται σε μία βακτηριακή πρωτεΐνη (GluBP) που δεσμεύει το γλουταμινικό οξύ. Η πρόσδεση του γλουταμινικού οξέος αλλάζει την απόσταση μεταξύ της CFP και της YFP, αλλάζοντας, έτσι, την μεταφορά της ενέργειας μεταξύ των δύο φθοροφόρων (Okumoto et al., 2005). Η τεχνική μεταφοράς ενέργειας συντονισμού Förster (Förster resonance energy transfer ή fluorescence resonance energy transfer, FRET) είναι το φυσικό φαινόμενο μεταφοράς ενέργειας μεταξύ δύο μορίων, ενός δότη ενέργειας και ενός αποδέκτη. Όταν δύο φθοροφόρα εμπλέκονται σε μεταφορά ενέργειας, η διέγερση του δότη έχει σαν αποτέλεσμα την εκπομπή φθορισμού του δέκτη. Η τεχνική βασίζεται στην απόσταση των δύο μορίων και ταυτοποιεί μοριακές αλληλεπιδράσεις, μετρώντας την απώλεια φθορισμού του δότη ή την αύξηση φθορισμού του δέκτη. Ως αποτέλεσμα της μεταφοράς ενέργειας, ο φθορισμός του μορίου-δότη μειώνεται και το μόριο-δέκτης διεγείρεται (Sekar & Periasamy, 2003).

Πλέον, υπάρχει μια πληθώρα γενετικά κωδικοποιημένων αισθητήρων, που δίνουν τη δυνατότητα μελέτης ενός μεγάλου συνόλου φυσιολογικών διεργασιών του κυττάρου. Οι αισθητήρες γλυκόζης παρέχουν στοιχεία για τις μεταβολικές διεργασίες των κυττάρων, καθώς η γλυκόζη αποτελεί την πρωταρχική πηγή ενέργειας για το κύτταρο. Αντίστοιχα, οι αισθητήρες τριφωσφορικής αδενοσίνης (Adenosine Triphosphate, ATP) προσφέρουν πολλές πληροφορίες σχετικά με το νευρωνικό και γλοιακό ενεργειακό μεταβολισμό, ειδικά εάν εφαρμόζονται σε συνδυασμό με άλλους οπτικούς δείκτες, όπως ο αισθητήρας γλυκόζης (Tantama et al., 2012). Οι δείκτες



υποδοχέων συζευγμένων με πρωτεΐνη G (G protein–coupled receptors, GPCRs) παρακολουθούν τη δραστηριότητα των αντίστοιχων υποδοχέων, οι οποίοι ενεργοποιούνται από νευροδιαβιβαστές, ορμόνες, αυξητικούς παράγοντες, μόρια οσμής και φως, και προσφέρουν στοιχεία σχετικά με τη σηματοδότηση και τη διαβίβαση των κυττάρων. Επιπλέον, δείκτες μεταβολισμού λιπιδίων ενημερώνουν σχετικά με τη συναπτική μετάδοση και πλαστικότητα, και, συνήθως, συνδυάζονται με τους GPCR δείκτες. Τέλος, δείκτες για παρατήρηση κυκλικών νουκλεοτιδίων, τριφωσφορικής γουανοσίνης, πρωτεΐνάσης και αντιδραστικών ειδών οξυγόνου δίνουν δεδομένα για τη δομή και φυσιολογία των κυττάρων.

**Ενεργοποιητές.** Οι ενεργοποιητές (effectors) είναι πρωτεΐνες που τροποποιούν τη δραστηριότητα του κυττάρου στο οποίο εκφράζονται, όταν το κύτταρο εκτίθεται στο φως. Αυτοί οι ενεργοποιητές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να προκαλέσουν μεμονωμένα ή πολλαπλά δυναμικά δράσης, έχοντας τη δυνατότητα να ελέγχουν τη νευρική δραστηριότητα ή να τροποποιούν βιοχημικές οδούς σηματοδότησης, σε χιλιοστά του δευτερολέπτου (Guru, Post, Ho & Warden, 2015). Οι πιο ισχυροί και ευρέως χρησιμοποιούμενοι ενεργοποιητές είναι οι οψίνες. Οι οψίνες είναι φυσικώς απαντώμενες φωτοευαίσθητες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες και βρίσκονται σε μια ποικιλία οργανισμών, από μικρόβια έως πρωτεύοντα. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν όπως βρίσκονται στη φύση ή να τροποποιηθούν εργαστηριακά, ώστε να βελτιστοποιηθεί η λειτουργία τους. Κάθε οψίνη απαιτεί την ενσωμάτωση ρετινάλης, ενός συναφή με τη βιταμίνη A παράγοντα, που επιτρέπει την απορρόφηση οργανικών φωτονίων και, κατά συνέπεια, προκαλεί την ευαισθησία στο φως. Αυτό το σύμπλεγμα οψίνης-ρετινάλης αναφέρεται ως ροδοψίνη (Zhang et al., 2011). Πήρε το όνομά της από τις ελληνικές λέξεις “ρόδον”, λόγω του ροζ χρώματός του, και “όψις”.

Οι ποικιλίες οψίνης, που απαντώνται στη φύση, μπορούν να ταξινομηθούν ευρέως σε δύο κύριες κατηγορίες: μικροβιακές οψίνες (τύπος I) και οψίνες σπονδυλωτών (τύπος II). Οι οψίνες τύπου I βρίσκονται σε προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς μικροβιακούς οργανισμούς, όπως τα βακτήρια, τα αρχαία βακτήρια και φύκη (Fenko, Yizhar & Deisseroth, 2011). Χρησιμοποιούνται από τους μικροοργανισμούς για μια ποικιλία λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης της μεσολάβησης σε φωτοαισθητικές ή φωτοσυνθετικές λειτουργίες, καθώς λαμβάνουν το φως και χρησιμοποιούν την ενέργειά του είτε για να μεταφέρουν ιόντα στις κυτταρικές μεμβράνες είτε για να ανοίξουν ένα κανάλι, το οποίο μεταφέρει ιόντα διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών (Bernstein & Boyden, 2011).

Οι οψίνες τύπου II βρίσκονται σε ζωικά κύτταρα και εμπλέκονται στην αναγέννηση χρωμοφόρων και φωτοευαίσθητων στοιχείων της οπτικής αντίληψης, και στον κερκαδικό ρυθμό (Larusso, Ruttenberg, Singh & Oakley, 2008). Η πρώτη προσπάθεια εισαγωγής ροδοψίνης θηλαστικού σε άλλο είδους οργανισμού έγινε το 1988, όπου, ο Khorana και οι συνεργάτες του απομόνωσαν το γονίδιο της ροδοψίνης από αγελάδα και, χρησιμοποιώντας ιική διαμόλυνση, εισήγαγαν το γονίδιο σε ωοκύτταρα βατράχων. Τελικά, τα ωάρια άρχισαν να εκφράζουν τη βόεια ροδοψίνη, η οποία, με τη σειρά της, ανταποκρίθηκε στο φως. Βάσει φυλογενετικών αναλύσεων, οι οψίνες τύπου II χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες: οψίνες που προέρχονται από κνιδόζωα (Cnidops), οψίνες κοινές σε σπονδυλωτά, κεφαλοχορδωτά και μαλάκια (Retinal G-protein receptor, RGR), οψίνες σε αμφίπλευρα ζώα (Rhabdomeric class) και οψίνες ευμεταζώων (Ciliary class) (Oakley & Plachetzki, 2010; Porter et al., 2011).

Οι οψίνες ταξινομούνται, επίσης, βάσει του τύπου ελέγχου που προσφέρουν, σε τρεις κατηγορίες: οψίνες εκπόλωσης (οψίνες διέγερσης), οψίνες υπερπόλωσης

(οψίνες αναστολής) και οψίνες βιοχημικής σηματοδότησης (Adamantidis, Zhang, de Lecea, & Deisseroth, 2014). Η κύρια οψίνη, που κατατάσσεται στις οψίνες εκπόλωσης, είναι η διαυλοροδοψίνη. Οι τύποι διαυλοροδοψίνης Channelrhodopsin-1 (ChR1) και η Channelrhodopsin-2 (ChR2), από την πράσινη άλγη Χλαμυδομονά του Ράινχαρτ (*Chlamydomonas reinhardtii*) ήταν οι πρώτοι που ανακαλύφθηκαν. Το γεγονός ότι οι νουκλεοτιδικές αλληλουχίες των συγκεκριμένων οψινών μελετήθηκαν, αρχικά, σχεδόν ταυτόχρονα από τρεις διαφορετικές ερευνητικές ομάδες, είχε δημιουργήσει μια σύγχυση σχετικά με την ονομασία τους, καθώς η ομάδα του Hegemann τις ονόμασε cop-3 και cop-4, η ομάδα του Spudich csoA και csoB, και η ομάδα του Takahashi acop-1 και acop-2 (Nagel et al., 2003, Iseki & Takahashi, 2015). Η ChR2, το 2005, ήταν η πρώτη διαυλοροδοψίνη που χρησιμοποιήθηκε για να διεγείρει νευρώνες με τη χρήση φωτός.

Οι διαυλοροδοψίνες είναι ευαίσθητα στο φως μη επιλεκτικά κανάλια κατιόντων, διαπερατά από  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  και  $\text{Ca}^{2+}$ , και, όταν ανοίγουν με παλμούς φωτός, εκπολώνουν την κυτταρική μεμβράνη. Χρησιμοποιούνται ευρέως στην οπτογενετική και έχουν ανακαλυφθεί και κατασκευαστεί πολλές διαφορετικές εκδοχές, με ποικίλες φασματικές, χρονικές και αγώγιμες ιδιότητες. Μέσω χημαιογένεσης, μεταλλαξιγένεσης και βιοπληροφορικών προσεγγίσεων, έχει δημιουργηθεί μια πληθώρα παραλλαγών της διαυλοροδοψίνης βάσει των διάφορων χαρακτηριστικών της, όπως η κινητική, η αγωγιμότητα των καναλιών, η εκλεκτικότητα των ιόντων, η επαναφορά σε κατάσταση αδράνειας, η ευαισθησία στο φως, η φασματική απόκριση και η έκφραση στη μεμβράνη (Lin, 2011). Οι πιο γνωστές εκδοχές είναι η ChR2/H134R, η ChR2/E123T(ChETA), η ChD, η ChEF και η ChIEF. Ενδεικτικά, οι ChEF και ChIEF αποτελούν χίμαιρες των ChR1 και ChR2, και παρέχουν, μεταξύ άλλων, βελτιωμένη έκφραση, ενώ η ChETA παρέχει ταχύτερη ανάκαμψη από την

απενεργοποίηση, ταχύτερη κινητική απενεργοποίησης και βελτιωμένη χρονική ακρίβεια (Adamantidis et al., 2014).

Μία ομάδα μεταλλάξεων της ChR2, ονόματι Step-Function opsins (SFOs), κατάφερε να διατηρήσει την ενεργοποίηση, μετά την παύση του ερεθίσματος φωτός, για διάστημα μέχρι και 29 λεπτά. Οι SFOs διαθέτουν το πρόσθετο χαρακτηριστικό ότι μπορούν να αδρανοποιηθούν από έναν παλμό φωτός διαφορετικού μήκους κύματος. Κατά συνέπεια, οι SFOs αντιπροσωπεύουν για πρώτη φορά έναν πραγματικό “on-off διακόπτη” για τον έλεγχο της νευρωνικής ενεργοποίησης μέσω του φωτός (Kalanithi & Purger, 2017). Τέλος, ο Zhang και οι συνεργάτες του (2008) απομόνωσαν, από την πράσινη άλγη *Volvox carteri*, ένα είδος διαυλοροδοψίνης (VChR1) που ενεργοποιείται με κόκκινο ή μεγαλύτερου μήκους κύματος παλμό φωτός και, όταν εκφράζεται σε κύτταρα θηλαστικών ως υβρίδιο με τη ChR1, επιτρέπει συνδυαστικό έλεγχο δύο διαφορετικών πληθυσμών νευρώνων, μαζί με τη ChR2.

Στην κατηγορία των οψινών αναστολής κατατάσσονται, κυρίως, δύο οψίνες: η αλοροδοψίνη και η βακτηριοροδοψίνη, καθώς και οι διάφορες εκδοχές τους. Η πρώτη ευαίσθητη στο φως αντλία ιόντων (κυρίως χλωρίου), που αποδείχθηκε αποτελεσματική στην αναστολή της νευρωνικής λειτουργίας, ήταν η αλοροδοψίνη (*N. pharaonis* Halorhodopsin, NpHR), ένας διάυλος χλωρίου που απομονώθηκε από το αρχαιοβακτήριο *Natronomonas pharaonis* (Han, 2012). Η NpHR έχει τη δυνατότητα να απενεργοποιεί διεγερμένα κύτταρα με σύντομους παλμούς κίτρινου φωτός, με υψηλή χρονική ακρίβεια. Μπορεί, επίσης, να χρησιμοποιηθεί για παρατεταμένη αναστολή των νευρώνων για πολλά λεπτά, με τη δυνατότητα της γρήγορης ανάκαμψης. Πρόσφατες βελτιώσεις στη NpHR έχουν δημιουργήσει τις ενισχυμένες εκδοχές eNpHR2.0 και eNpHR3.0 (Butler, 2012). Η αλοροδοψίνη και η διαυλοροδοψίνη μπορούν να χρησιμοποιηθούν μαζί, επιτρέποντας ταυτόχρονη οπτική

ενεργοποίηση πολλών χρωμάτων, σίγαση και αποσυγχρονισμό της νευρικής δραστηριότητας (Zhang et al., 2007).

Η βακτηριοροδοψίνη (Bacteriorhodopsin, BR) είναι μία φωτοευαίσθητη πρωτεϊνική αντλία πρωτονίων, που βρίσκεται, κυρίως, στο αρχαιοβακτήριο *Halobacterium salinarum* (Schenkl, Zgrablic, Portuondo-Campa, Haacke & Chergui, 2007). Ο κύριος ρόλος της είναι να μεταφέρει ενεργά ιόντα διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης, συνεπώς χρησιμοποιείται για την αναστολή των νευρώνων, αντλώντας πρωτόνια από το κύτταρο. Πέρα από τον ανασταλτικό της ρόλο, η BR έχει την ικανότητα να μη μεταβάλλει τη συγκέντρωση του χλωρίου, σε αντίθεση με τη NpHR, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπει την αλλαγή συγκεντρώσεων πρωτονίων κοντά στη μεμβράνη (Adamantidis et al., 2014).

Άλλες δύο αντλίες πρωτονίων είναι η Αρχαιοροδοψίνη (Archaeorhodopsin, Arch), από το αρχαιοβακτήριο *Halorubrum Sodomense*, και η Mac, από το μύκητα *Leptosphaeria maculans*. Πρόκειται για αντλίες πρωτονίων που, όταν ενεργοποιηθούν από φως συγκεκριμένου μήκους κύματος, εξάγουν πρωτόνια από το νευρώνα, επηρεάζοντας, με αυτό το τρόπο, το δυναμικό δράσης. Η Arch και η Mac ενεργοποιούνται από διαφορετικά μήκη κύματος φωτός, ως εκ τούτου είναι δυνατή η ταυτόχρονη και ανεξάρτητη χρήση τους σε δύο νευρωνικούς πληθυσμούς (Chow et al., 2011). Τέλος, ο Berndt και οι συνεργάτες του (2014) τροποποίησαν τη χιμαιρική, από τις διαυλοροδοψίνες CHR1 και Chr2, οψίνη C1C2, ώστε να μεταφέρει ιόντα χλωρίου (iC1C2) και να αναστέλλει τη νευρωνική δραστηριότητα, με το ίδιο φάσμα ενεργοποίησης του μπλε φωτός, στο οποίο βασίζονται. Μετά την διέγερση, η iC1C2 έχει τη δυνατότητα να απενεργοποιείται σύντομα με κόκκινο φως. Αυτές οι ιδιότητες οδηγούν σε λιγότερη έκθεση στο φως και, συνεπώς, μικρότερη θερμική βλάβη του ιστού (Mahmoudi, Veladi & Pakdel, 2017).

Στις αρχές του 20ου αιώνα, αναπτύχθηκαν οι πρώτες οψίνες βιοχημικής σηματοδότησης. Υποδοχείς συζευγμένοι με πρωτεΐνη G (GPCRs) από θηλαστικά, όπως η ροδοψίνη και η μελανοσίνη, προσαρμόστηκαν για χρήση σε νευρώνες ή σε άλλους τύπους κυττάρων, με σκοπό να γίνει δυνατή η παρέμβαση σε γεγονότα της σηματοδότησής τους, όπως το άνοιγμα διαύλων καλίου ή η απελευθέρωση ασβεστίου (Bernstein & Boyden, 2011). Ο Airan και η ομάδα του (2009) ανέπτυξαν ένα σύνολο χημικών οψινών (optoXRs), αντικαθιστώντας τους ενδοκυτταρικούς βρόχους ροδοψίνης θηλαστικών με ενδοκυτταρικούς βρόχους GPCR σηματοδότησης. Τα OptoXRs μπορούν να χρησιμοποιηθούν για υψηλής χωροχρονικής ακρίβειας έλεγχο και οργάνωση της λειτουργίας βιοχημικών οδών σηματοδότησης των GPCR, σε γενετικά καθορισμένους νευρικούς πληθυσμούς, και έχουν τη δυνατότητα να τροποποιούν την κυτταρική διεγερσιμότητα με βιοχημικό τρόπο.

**Τρόποι εισαγωγής πρωτεϊνών.** Οι οπτογενετικοί δείκτες μπορούν να εκφραστούν επιλεκτικά σε έναν συγκεκριμένο τύπο νευρώνων στον εγκέφαλο. Η αποτελεσματική απελευθέρωση και έκφρασή τους είναι κρίσιμη για την επίτευξη χειρισμών των κυττάρων, με χωροχρονική ακρίβεια. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με πολλούς τρόπους. Τα συστήματα έκφρασης ιών έχουν το διπλό πλεονέκτημα της γρήγορης και ευέλικτης εφαρμογής και του υψηλού βαθμού μολυσματικότητας με ισχυρά επίπεδα έκφρασης. Η κυτταρική εξειδίκευση μπορεί να ληφθεί μέσω ιών με συγκεκριμένους εκκινητές (τμήματα του DNA που βοηθούν στην έναρξη της μεταγραφής ενός γονιδίου), με χωρική στόχευση της έγχυσης του ιού και με περιορισμό της ενεργοποίησης των οψινών σε συγκεκριμένα κύτταρα (Fenko et al., 2011). Ιικοί φορείς όπως ο λεντιός (Lentivirus), ο ιός της λύσσας (Rabies virus), ο απλός ερπητοϊός (Herpes simplex virus) και οι αδενοϊοί (Adeno-associated virus, AAV) χρησιμοποιούνται για να στοχεύσουν την έκφραση οψινών σε ένα ευρύ φάσμα

πειραματικών υποκειμένων, που κυμαίνονται από τρωκτικά έως πρωτεύοντα (Zhang et al., 2010).

Η μέθοδος *in utero* ηλεκτροδιαμόλυνση (electroporation) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ορισμένες ημέρες της εμβρυϊκής ανάπτυξης, για την εισαγωγή του DNA σε συγκεκριμένες περιοχές του εμβρυϊκού εγκεφάλου ζώων, χρησιμοποιώντας *in utero* και *exo utero* χειρουργικές επεμβάσεις. Αυτή η μέθοδος μπορεί να εξασφαλίσει τη στοχευμένη έκφραση γονιδίων στα φλοιϊκά στρώματα I και III και στους νευρώνες του ραβδωτού και του ιπποκάμπου τρωκτικών (Zhang et al., 2010). Σε αντίθεση με τις υκές μεθόδους, η ηλεκτροδιαμόλυνση μπορεί να μεταφέρει περισσότερους τύπους DNA (διάφορα μεγέθη και μεγάλα τμήματα υποκινητών) και να προσφέρει υψηλή κυτταρική εξειδίκευση. Επίσης, επιτρέπει τη διαμόλυνση πολλαπλών γονιδίων σε ένα κύτταρο (Saito & Nakatsuji, 2001).

Τα διαγονιδιακά ζώα χρησιμοποιούνται εδώ και δεκαετίες στην επιστημονική έρευνα. Ανασυνδυασμένοι υποκινητές ή βακτηριακά τεχνητά χρωμοσώματα (Bacterial Artificial Chromosomes, BAC) εισάγονται στο έμβρυο ενός ποντικού ή αρουραίου, το οποίο, στη συνέχεια, εκτρέφεται μέχρις ότου παραχθεί μια σταθερή ομάδα απογόνων με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά (Ting & Feng, 2013). Ο Arenkiel και οι συνεργάτες του (2007) μελέτησαν διαγονιδιακά τρωκτικά που εκφράζουν ChR2, με σκοπό τη διερεύνηση των ιδιοτήτων του νευρικού κυκλώματος. Η ομάδα του Zhao (2008) περιέγραψε διαγονιδιακά ποντίκια που εκφράζουν NpHR. Έδειξαν ότι οι νευρώνες σε αυτά τα ποντίκια εξέφραζαν υψηλά επίπεδα NpHR σε νευρικά κύτταρα και είχαν τη δυνατότητα γρήγορης αναστολής του δυναμικού ενεργείας. Τέλος, έχουν δημιουργηθεί διαγονιδιακά ζώα που εκφράζουν γενετικά κωδικοποιημένους δείκτες ασβεστίου, όπως τις G-CaMPs (Zeng & Madisen, 2012). Αυτός ο τρόπος εισαγωγής οπινών απαιτεί μεγαλύτερη προσπάθεια και χρόνο για τη

δημιουργία μίας σταθερής διαγονιδιακής γραμμής, και η χρήση αυτών των ζώων είναι περιορισμένη, καθώς ο ακριβής χωρικός εντοπισμός, που επιτυγχάνεται μέσω της έγχυσης ιικού φορέα, χάνεται. Επιπλέον, μια νέα διαγονιδιακή γραμμή τρωκτικών πρέπει να δημιουργείται κάθε φορά που επιθυμείται η μελέτη μιας νέας οψίνης (Guru et al., 2015).

Ένας διαδεδομένος τρόπος εισαγωγής οψινών είναι το εξαρτώμενο από Cre σύστημα έκφρασης. Οι ρεκομπινάσες (Recombinases) είναι ένζυμα που προάγουν τον γενετικό ανασυνδυασμό. Η Cre Recombinase, συγκεκριμένα, είναι ένα ένζυμο τυροσίνης ανασυνδυασμού, προερχόμενο από το βακτηριοφάγο P1. Η χρήση της Cre recombinase για τη διεξαγωγή μεταλλαξιγένεσης των διαγονιδίων (transgenes) και την εισαγωγή DNA σε χρωμοσώματα ευκαρυωτικών κυττάρων είναι ευρέως διαδεδομένη. Επιτρέπει την επιλεκτική απαλοιφή τμημάτων γονιδίων, η οποία επιτυγχάνεται με τη χρήση ειδικών ανασυνδετασών, οι οποίες τέμνουν το DNA σε συγκεκριμένες προεπιλεγμένες τοποθεσίες. Στην οπτογενετική, αυτή η μέθοδος συνδυάζει ικές και διαγονιδιακές μεθόδους. Παράγεται μια διαγονιδιακή γραμμή τρωκτικού, η οποία εκφράζει Cre recombinase σε προεπιλεγμένα κύτταρα και, στη συνέχεια, ένας ιικός φορέας χρησιμοποιείται, για να εισαχθεί μία οψίνη. Όποια κύτταρα εκφράζουν Cre recombinase, θα ενεργοποιήσουν την οψίνη. Δεν έχει σημασία αν ο ιός μολύνει έτερα κύτταρα, καθώς σε εκείνα που δεν εκφράζεται η Cre-recombinase, η οψίνη θα παραμείνει ανενεργή (Wang, Yau, Perkins-Balding & Thomson, 2011; Van Duyn, 2015).

Σε άρθρο που δημοσιεύθηκε στις 30 Απριλίου του 2018 στο Nature Biomedical Engineering, ο Tian και οι συνεργάτες του έδειξαν, για πρώτη φορά, τη χρήση φωτός για τον έλεγχο της συμπεριφοράς, χωρίς γενετική τροποποίηση. Αυτό επιτεύχθηκε με τη βοήθεια ενός εμφυτεύματος από σιλικόνη. Η σιλικόνη μπορεί να τροποποιηθεί



ώστε να αποκρίνεται στο φως, εκπέμποντας ένα μικρό ιοντικό ρεύμα, το οποίο διεγείρει τους νευρώνες. Η σιλικόνη διαμορφώνεται για να είναι ομοιόμορφη, μαλακή και εύκαμπτη, ώστε να μπορεί να συνδεθεί στενά στην επιφάνεια του εγκεφάλου. Η ομάδα δοκίμασε την ιδέα σε ποντίκια και διαπίστωσαν ότι μπορούσαν να διεγείρουν τις κινήσεις των άκρων, μέσω του φωτισμού των εγκεφαλικών εμφυτευμάτων σιλικόνης (Jiang et al., 2018).

**Τρόποι φωτισμού.** Μετά την επίτευξη της έκφρασης των οψινών στους νευρώνες, τα κύτταρα είναι ικανά να ανταποκρίνονται σε ακτίνες φωτός. Οι απαιτήσεις για τον τύπο φωτός, που θα χρησιμοποιηθεί, ποικίλλουν ανάλογα με τις συνθήκες του πειράματος και εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, όπως ο τύπος του εκφρασμένου οπτικού δείκτη, το μήκος κύματος της ακτινοβολίας που απαιτείται, η αναγκαία ένταση και διάρκεια του φθορισμού, ακόμη και γεγονότα που συνέβησαν πριν την έναρξη της ακτινοβολίας (Erofeev et al., 2015).

Οι οπτικές ίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απελευθέρωση του φωτός σε συγκεκριμένες ενδοκρανιακές περιοχές και για τον οπτικό έλεγχο των βαθιών δομών του εγκεφάλου. Οι οπτικές ίνες μικρής διαμέτρου ελαχιστοποιούν τη βλάβη των ιστών και μπορούν να κοπούν στο κατάλληλο μήκος για να στοχεύσουν μια συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου. Έχουν τη δυνατότητα είτε να στερεωθούν απευθείας στο κρανίο είτε να εισαχθούν μέσω ενός σωληνίσκου, για να διευκολύνουν ταυτόχρονους φαρμακολογικούς χειρισμούς. Ο τρόπος τοποθέτησης των ινών μπορεί να διαμορφωθεί ώστε να στοχευθούν μεγάλες περιοχές του εγκεφάλου (Warden, Cardin & Deisseroth, 2014). Για τον έλεγχο πολλαπλών ομάδων νευρώνων που εκφράζουν διαφορετικές οψίνες, πολλαπλά μήκη κύματος ενεργοποίησης μπορούν να συζευχθούν στην ίδια ίνα και να οδηγηθούν στην περιοχή ενδιαφέροντος (Mohanty &

Lakshminarayanan, 2015). Το πάχος των ινών επιλέγεται, επίσης, ανάλογα με τη φύση του αντικειμένου που μελετάται (Erofeev et al., 2015).

Οι οπτικές ίνες χρησιμοποιούνται για την κατασκευή των αποκαλούμενων optrodes, τα οποία είναι όργανα για την ταυτόχρονη καταγραφή ηλεκτροφυσιολογικών παραμέτρων και οπτικής διέγερσης των οφθινών. Η διάταξη τους αποτελείται συνήθως από έναν οπτικό οδηγό κυμάτων (waveguide) για την παροχή φωτός και πολλαπλά κανάλια ηλεκτροδίων για καταγραφή. Το ηλεκτρόδιο είναι ένα κρίσιμο στοιχείο στα optrodes, το οποίο καθορίζει την ποιότητα εγγραφής σήματος, που απαιτείται για τη μελέτη του εκάστοτε νευρικού κυκλώματος (Wang, Huang, Zhong, Wang & Lu, 2018).

Τα λέιζερ (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, Laser) χρησιμοποιούνται ευρέως στην οπτογενετική επειδή επιτρέπουν την εφαρμογή ακτινοβολίας στενού εύρους, διευκολύνοντας τον πολυτροπικό οπτικό έλεγχο σε περισσότερες από μία οψίνες. Μπορούν να συζευχθούν αποτελεσματικά με οπτικές ίνες, γεγονός που αποτελεί ιδιαίτερο πλεονέκτημα, καθώς επιτρέπει βαθύτερο χειρισμό των δομών του εγκεφάλου. Οι πηγές φωτός λέιζερ παράγουν συνεκτικό φως, βοηθώντας έτσι στην αποδοτικότητα της σύζευξης τους με τις ίνες (Packer, Roska & Häusser, 2013). Η χαμηλή απόκλιση και η υψηλή ισχύς της ακτίνας λέιζερ επιτρέπουν την εφαρμογή της σε πολλαπλούς οπτικούς δείκτες (Olofsson, Lazaridis, Meletis & Carlén, 2015).

Η μέθοδος φωτισμού μέσω διόδων εκπομπής φωτός (Light-emitting diodes, LEDs) είναι πολύ διαδεδομένη στην οπτογενετική, λόγω του χαμηλού κόστους και της δυνατότητας στενού φασματικού συντονισμού με ποικίλες επιλογές χρωμάτων. Ωστόσο, η αδυναμία σύνδεσης των οπτικών ινών με LEDs περιορίζει τη χρησιμότητα των τελευταίων για ορισμένα μήκη κύματος φωτός, λόγω της χαμηλής ισχύος και της

παραγωγή θερμότητας, η οποία μπορεί να αποδειχθεί προβληματική. Ωστόσο, το μικρό τους μέγεθος και οι χαμηλές απαιτήσεις ισχύος καθιστούν τις πηγές φωτισμού LED πολύ χρήσιμες για τον πολλαπλό φωτισμό (Guru et al., 2015).

**Εφαρμογές οπτογενετικής.** Η οπτογενετική υπόσχεται νέους τρόπους μελέτης του νευρικού συστήματος, καθώς επιτρέπει ακριβείς χειρισμούς, που είναι αδύνατοι με τη χρήση άλλων τεχνικών. Το πεδίο της οπτογενετικής έχει προωθήσει τη θεμελιώδη επιστημονική κατανόηση του τρόπου, με τον οποίο ειδικοί τύποι κυττάρων συμβάλλουν στη λειτουργία ενός ευρέως φάσματος δομών, στους έμβιους οργανισμούς.

Πέραν από την εφαρμογή της οπτογενετικής στην έρευνα των αγχωδών διαταραχών, πεδίο που θα αναλυθεί εκτενώς σε επόμενο κεφάλαιο, η εν λόγω μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί σε μία πληθώρα ερευνών σχετικά με τη λειτουργία και τις διαταραχές του κεντρικού νευρικού συστήματος. Από τη λειτουργία του ύπνου και της εγρήγορσης (Adamantidis, Zhang, Aravanis, Deisseroth & de Lecea, 2007) μέχρι ψυχιατρικές διαταραχές, όπως η σχιζοφρένεια (Sohal, Zhang, Yizhar & Deisseroth, 2009), ο εθισμός (Witten et al., 2010) και η κατάθλιψη (Ramirez et al., 2015), έχουν βρεθεί στο επίκεντρο οπτογενετικών μελετών. Επιπροσθέτως, η οπτογενετική έχει προσφέρει πληροφορίες σχετικά με αναπτυξιακά σύνδρομα, όπως ο αυτισμός (Yizhar et al., 2011), και νευρολογικές διαταραχές, όπως η νόσος Πάρκινσον (Chen, Xiong & Zhang, 2015).

Η οπτογενετική έχει, ήδη, αρχίσει να μελετάται ως μία νέα θεραπευτική επιλογή, για κλινική χρήση στον άνθρωπο. Εξετάζεται ως παρέμβαση σε τύπους φαρμακοανθεκτικής επιληψίας (Tønnesen, Sørensen, Deisseroth, Lundberg & Kokaia, 2009), σε νευρομυϊκές παθήσεις (Llewellyn, Thompson, Deisseroth & Delp, 2010), σε καρδιακές αρρυθμίες (Nussinovitch & Gepstein, 2015), σε παθήσεις που

σχετίζονται με τραυματισμό της σπονδυλικής στήλης (Erofeev et al., 2016) και σε διαταραχές όρασης, όπως η μελαγχρωστική αμφιβληστροειδοπάθεια (Busskamp et al., 2010).

### Αγχώδεις Διαταραχές

#### **Ιστορικά Στοιχεία**

Σύμφωνα με την πέμπτη έκδοση του Διαγνωστικού και Στατιστικού Εγχειριδίου Ψυχικών Διαταραχών (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, DSM), οι αγχώδεις διαταραχές αποτελούν μία ομάδα ψυχικών διαταραχών, που χαρακτηρίζονται από σημαντικά αισθήματα άγχους και φόβου, καθώς και σχετικές διαταραχές της συμπεριφοράς. Ως φόβος ορίζεται η συναισθηματική αντίδραση στην πραγματική ή αντιληπτή επικείμενη απειλή, ενώ ως άγχος η πρόβλεψη της μελλοντικής απειλής. Οι αγχώδεις διαταραχές διαφέρουν μεταξύ τους, ως προς τους τύπους αντικειμένων ή καταστάσεων, που προκαλούν φόβο, άγχος ή συμπεριφορά αποφυγής, προς τη σχετική γνωστική λειτουργία της σκέψης.

Το DSM εκδίδεται από την Αμερικανική Ψυχιατρική Εταιρεία (American Psychiatric Association, APA) και αποσκοπεί στην αξιολόγηση και διάγνωση των ψυχικών διαταραχών, από τους ειδικούς του κλάδου της ψυχικής υγείας. Εκδόθηκε, για πρώτη φορά, το 1952 και συνεχίζει να επανεξετάζεται και να αναθεωρείται περιοδικά, από τότε. Η πέμπτη αναθεώρηση δημοσιεύθηκε το 2013. Το DSM χρησιμοποιείται μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με τη Διεθνή Στατιστική Ταξινόμηση Ασθενειών και Σχετικών Προβλημάτων Υγείας (International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, ICD) του Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization, WHO). Η δέκατη αναθεώρηση του ICD κυκλοφόρησε το 1992 και η εντέκατη αναμένεται το 2018. Αυτά είναι τα δύο διαγνωστικά εγχειρίδια, που χρησιμοποιούνται για τη ταξινόμηση και διάγνωση ψυχοπαθολογικών καταστάσεων, και, κατ' επέκταση, των αγχωδών διαταραχών.

Σύμφωνα με το DSM-5, στις αγχώδεις διαταραχές κατατάσσεται η διαταραχή του άγχους αποχωρισμού, η επιλεκτική αλαλία, η ειδική φοβία, η διαταραχή κοινωνικού άγχους, η κρίση πανικού και η διαταραχή πανικού, η αγοραφοβία, η γενικευμένη αγχώδης διαταραχή, η προκαλούμενη από ουσίες αγχώδης διαταραχή, η αγχώδης διαταραχή οφειλόμενη σε σωματική κατάσταση, η αγχώδης διαταραχή προσδιοριζόμενη αλλιώς και η απροσδιόριστη διαταραχή άγχους. Η αντίστοιχη κατηγορία στο ICD-10 (Neurotic, stress-related and somatoform disorders) περιλαμβάνει, επιπρόσθετα, ιδεοψυχαναγκαστικές διαταραχές, διαταραχές αντίδρασης στο έντονο στρες και διαταραχές προσαρμογής, αποσυνδεδετικές διαταραχές, σωματόμορφες διαταραχές και άλλες νευρωτικές διαταραχές. Από τις διαταραχές, που το ICD-10 κατατάσσει στην αντίστοιχη κατηγορία των αγχωδών διαταραχών, η APA, αναγνώριζε, μέχρι πρότινος, την οξεία αντίδραση στο stress, την διαταραχή stress μετά από ψυχοτραυματική εμπειρία και την ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή ως αγχώδεις διαταραχές, μέχρι να ενταχθούν σε ξεχωριστές κατηγορίες, στην πέμπτη αναθεώρηση του DSM. Στην παρούσα εργασία, θα συμπεριληφθούν οι παραπάνω διαταραχές, λόγω της στενής τους σχέσης με την κατηγορία των αγχωδών διαταραχών του DSM-5.

Παρά το γεγονός ότι οι αγχώδεις διαταραχές θεωρούνται ένα σχετικά πρόσφατο πεδίο της ψυχοπαθολογίας, παρατηρούνται περιγραφές τους, ήδη, από την εποχή της αρχαίας Ελλάδας και της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας (Crocq, 2015). Κείμενα του Ιπποκράτη (460 π.Χ.-370 π.Χ.) αναφέρουν φοβικά συμπτώματα, ενώ οι Ρωμαίοι, στην εποχή του Κικέρωνα (106 π.Χ.-43 π.Χ.), χρησιμοποιούσαν τη λέξη *anxietas*, για να περιγράψουν μια διαρκή κατάσταση φόβου, σε αντίθεση με τη λέξη *angor*, που σήμαινε μια στιγμιαία κατάσταση έντονης φοβίας, παρόμοια με τη σύγχρονη έννοια του πανικού (Stone, 2010). Κατά την περίοδο της Αναγέννησης και μέχρι τον 18ο

αιώνα, ο Stone (2010) αναφέρει ότι το άγχος αποδιδόταν σε ερωτοχτύπημα (lovesickness), και, συχνά, οριζόταν ως μελαγχολία. Από το 18ο μέχρι τις αρχές του 20ου αιώνα, το άγχος ερμηνεύτηκε ως σύμπτωμα οργανικών ασθενειών, γεγονός που ανετράπη από τις μελέτες του Sigmund Freud (1856-1939), ο οποίος πρότεινε το διαχωρισμό συμπτωμάτων άγχους από άλλες διαταραχές του νευρικού συστήματος, καθώς θεωρούσε ότι θα πρέπει να αποτελούν μια ξεχωριστή και ενιαία κατάσταση, που ονόμασε αγχώδη νεύρωση (*anxiety neuroses*) (Gee, Hood & Antony, 2013).

Ο Δεύτερος Παγκόσμιος Πόλεμος αποτέλεσε σημείο καμπής στην αντιμετώπιση των αγχωδών διαταραχών και, γενικότερα, των νευροψυχιατρικών νοσημάτων. Οι ψυχίατροι που υπηρέτησαν στο στρατό διαπίστωσαν ότι οι ψυχιατρικές διαταραχές ήταν ένα πρόβλημα, σοβαρότερο από ό,τι είχε αναγνωριστεί προηγουμένως, ότι το περιβαλλοντικό στρες, απόρροια της μάχης, συνέβαλε στη διανοητική δυσλειτουργία και ότι η έγκαιρη θεραπεία απέδωσε ευνοϊκά αποτελέσματα (Grob, 1991). Ως συνέπεια, ακολούθησε η ανάπτυξη συγκεκριμένων διαγνωστικών κατηγοριών, για τη διευκόλυνση των κλινικών δοκιμών και τη θεραπεία ψυχιατρικών διαταραχών, όπως το DSM. Οι διαταραχές άγχους εισήχθησαν το 1980, ως ξεχωριστή νοσολογική ομάδα, στην τρίτη έκδοση του DSM (Starcevic, 2010).

Σύμφωνα με στοιχεία του Παγκοσμίου Οργανισμού Υγείας (2017), οι αγχώδεις διαταραχές αποτελούν τον έκτο κυριότερο συντελεστή αναπηρίας παγκοσμίως και επηρεάζουν το 3,4% του πληθυσμού. Στοιχεία του WHO για το 2015 δείχνουν ότι ο συνολικός εκτιμώμενος αριθμός ατόμων, που ζουν με αγχώδεις διαταραχές, ανά τον κόσμο, είναι 264 εκατομμύρια, αριθμός που αντικατοπτρίζει μια αύξηση της τάξεως του 14,9%, από το 2005, γεγονός που αποδίδεται στην αύξηση του πληθυσμού και στην αύξηση του προσδόκιμου ζωής. Μία μετα-ανάλυση των Baxter, Scott, Vos και Whiteford (2013) αναφέρει ότι ο παγκόσμιος επιπολασμός των διαταραχών άγχους

είναι 7,3%, γεγονός που υποδηλώνει ότι ένας στους 14 ανθρώπους, σε όλο τον κόσμο, σε οποιαδήποτε δεδομένη στιγμή, πάσχει από μια αγχώδη διαταραχή και ένας στους εννέα θα αντιμετωπίσει μια διαταραχή άγχους, σε ένα δεδομένο έτος. Η ίδια μετα-ανάλυση αναφέρει ότι οι γυναίκες έχουν διπλάσιες πιθανότητες να διαγνωσθούν με διαταραχή άγχους, σε σχέση με τους άνδρες, ενώ ενήλικες άνω των 55 ετών έχουν 20% λιγότερες πιθανότητες να πάσχουν από κάποια αγχώδη διαταραχή, σε σχέση με νεαρότερους ενήλικες (35-54 έτη). Έρευνες για την επίδραση του κοινωνικοοικονομικού επιπέδου των ατόμων στην εμφάνιση των αγχωδών διαταραχών υποστηρίζουν ότι οι μειονεκτούσες κοινωνικοοικονομικές ομάδες αντιμετωπίζουν μεγαλύτερη επιμονή των συμπτωμάτων και μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης των νόσων (Green & Benzval, 2013).

Αξίζει να σημειωθεί ο ρόλος του εκάστοτε πολιτισμικού πλαισίου, στη συχνότητα εμφάνισης των διαταραχών. Παραδείγματος χάριν, ποσοστά επιπολασμού διαταραχών άγχους από το Λίβανο, το Μεξικό και την Ουκρανία φαίνεται να είναι συγκρίσιμα με τις χώρες της Δυτικής Ευρώπης, ενώ έρευνες στην Κίνα, την Ιαπωνία και τη Νιγηρία αποκάλυψαν σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά εμφάνισης αγχωδών διαταραχών (Michael, Zetsche & Margraf, 2007). Επίσης, το πολιτισμικό πλαίσιο επηρεάζει τη μορφή εκδήλωσης των εν λόγω διαταραχών, ως αποτέλεσμα της πολιτισμικής σχετικοκρατίας, που χαρακτηρίζει τον ορισμό και την έκφραση της ψυχοπαθολογίας. Ενδεικτικά, το σύνδρομο “ταϊτζιν-κιοφουσο” (Taijin kyofusho, TKS) εμφανίζεται, κυρίως, στην Ιαπωνία και αναφέρεται στο άγχος του ασθενή ότι το σώμα του είναι απωθητικό στους ανθρώπους, λόγω της οσμής, της κίνησης ή της εμφάνισής του (Χριστοπούλου, 2008). Τα συμπτώματα του συγκεκριμένου συνδρόμου αντιστοιχούν, εν μέρει, σε συμπτώματα της κοινωνικής φοβίας. Ένα άλλο, συχνά αναφερόμενο, παράδειγμα ενός πολιτισμικά ειδικού συνδρόμου είναι η



“επίθεση των νεύρων” (Ataque de nervios). Εμφανίζεται στο Πουέρτο Ρίκο και τη Δομινικανή Δημοκρατία και μπορεί να συγκριθεί περιγραφικά με τη διαταραχή stress μετά από ψυχοτραυματική εμπειρία και τη διαταραχή πανικού. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν το φόβο μίας επικείμενης απώλειας του ελέγχου, σφίξιμο στο στήθος, αίσθημα υπερβολικής θερμότητας στο σώμα, τρόμος στα άκρα και αίσθημα επικείμενης λιποθυμίας (Hofmann & Hinton, 2014).

Τα τελευταία χρόνια, το επιστημονικό ενδιαφέρον έχει στραφεί στην πρόληψη της εμφάνισης των αγχώδων διαταραχών, μέσω της αναγνώρισης μηχανισμών, που σχετίζονται με το άγχος, στην παιδική ηλικία. Οι αγχώδεις διαταραχές αποτελούν την πιο κοινή ομάδα ψυχιατρικών διαταραχών της παιδικής ηλικίας, καθώς σε 11 από τις 15 παγκόσμιες μελέτες, σχετικά με τις διαταραχές άγχους στην παιδική ηλικία, ο επιπολασμός ήταν μεγαλύτερος από 10% (Piacentini & Roblek, 2002). Παράγοντες όπως η αναχαίτηση της συμπεριφοράς (behavioral inhibition), η οποία συμβάλλει στην ανταπόκριση του ατόμου σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα, η ποιότητα του συναισθηματικού δεσμού του παιδιού με τους γονείς και αρνητικά γεγονότα ζωής έχουν αναγνωριστεί ως παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση άγχους (Greene, Bailey & Neumeister, 2013).

### **Οι Αγχώδεις Διαταραχές**

**Άγχος Αποχωρισμού.** Η διαταραχή του άγχους αποχωρισμού (Separation anxiety disorder, SAD) είναι μια διαταραχή άγχους που επηρεάζει, περίπου, το 4% των παιδιών (Connolly et al., 2006). Το βασικό της χαρακτηριστικό είναι το υπερβολικό άγχος, όταν λαμβάνει χώρα ή αναμένεται ο αποχωρισμός από τη γονεϊκή φιγούρα. Ο φόβος και το άγχος εκφράζονται μέσω σημαντικής αγωνίας, αποφυγής καταστάσεων αποχωρισμού και εξασθένισης της προσαρμοστικής λειτουργίας

(Karalka & Peters, 2013). Επιπροσθέτως, τα άτομα με άγχος αποχωρισμού ανησυχούν για την ευημερία ή το θάνατο των ατόμων προσκόλλησης, ιδιαίτερα όταν διαχωρίζονται από αυτά, ενώ παρατηρείται μία έντονη ανησυχία σχετικά με δυσάρεστα γεγονότα, που θα μπορούσαν να συμβούν στους ίδιους τους ασθενείς, όπως μία απαγωγή ή ένα ατύχημα, καθώς θα τους εμπόδιζε από το να επανασυνδεθούν με το άτομο προσκόλλησης (APA, 2013). Άλλα χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν μία επίμονη απροθυμία να πάνε στο σχολείο, να παραμείνουν μόνοι τους ή να πάνε για ύπνο χωρίς το άτομο προσκόλλησης, καθώς και εφιάλτες σχετικά με τον αποχωρισμό (Grills, Seligman & Ollendick, 2014).

Η αιτιολογία εμφάνισης της διαταραχής του άγχους αποχωρισμού είναι άγνωστη, ωστόσο, η κληρονομικότητα θεωρείται ότι παίζει ρόλο, καθώς τα παιδιά των ενηλίκων με άγχος είναι πολύ πιο πιθανό να εμφανίσουν συμπτώματα διαφόρων αγχώδων διαταραχών, συμπεριλαμβανομένης και της διαταραχής του άγχους αποχωρισμού (Karalka & Peters, 2013). Επιπροσθέτως, στο DSM-5 αναφέρεται ότι η κληρονομικότητα εκτιμάται στο 73%, μετά από έρευνες διδύμων, ενώ η εμφάνιση της διαταραχής μπορεί να σχετίζεται με τη γονική υπερπροστασία. Άλλος ένας παράγοντας, στον οποίο αποδίδεται, εν μέρει, η εμφάνιση της διαταραχής, είναι η αυξημένη ευαισθησία σε υψηλές συγκεντρώσεις διοξειδίου του άνθρακα (Carbon dioxide, CO<sub>2</sub>), στον αέρα (Battaglia & Khan, 2018). Η διαταραχή άγχους διαχωρισμού αναπτύσσεται, συχνά, μετά από ένα αγχογόνο γεγονός ζωής, όπως η απώλεια ενός κοντινού προσώπου, και παρουσιάζει συννοσηρότητα με άλλες αγχώδεις διαταραχές, με διαταραχές προσωπικότητας και με διαταραχές διάθεσης, όπως η κατάθλιψη και η διπολική διαταραχή (APA, 2013). Εμφανίζεται, συνήθως, στην παιδική ηλικία, αλλά μπορεί να εμφανιστεί και σε ενήλικες, με τη μορφή διαφόρων τρόπων εξασφάλισης εγγύτητας ή διατήρησης της στενής επαφής με το

άτομο προσκόλλησης, όπως οι επαναλαμβανόμενες τηλεφωνικές κλήσεις, η προσπάθεια αποτροπής ή καθυστέρησης του αποχωρισμού και μη λεκτικές υποδείξεις αγωνίας του ατόμου, όταν υπάρχει αντιληπτή απειλή αποχωρισμού (Silove & Rees, 2014).

**Επιλεκτική αλαλία.** Η επιλεκτική αλαλία (Selective Mutism, SM) χαρακτηρίζεται από συνεχή αποτυχία ομιλίας σε συγκεκριμένες κοινωνικές καταστάσεις, στις οποίες υπάρχει η αντίστοιχη προσδοκία. Η αποτυχία ομιλίας δεν οφείλεται στην έλλειψη γνώσης της ομιλούμενης γλώσσας, που απαιτείται στην κοινωνική κατάσταση, και δεν εξηγείται καλύτερα από μια διαταραχή της επικοινωνίας. Η εν λόγω διαταραχή μπορεί να συνοδεύεται από υπερβολική συστολή, κοινωνική αμηχανία, κοινωνική απομόνωση και απόσυρση, υπερβολική προσκόλληση, ψυχαναγκαστικά χαρακτηριστικά, αναχαίτηση της συμπεριφοράς και μία γενική αρνητικότητα. Μπορεί να υπάρξει κάποια περιστασιακή σχετική διαταραχή επικοινωνίας και συννοσηρότητα με άλλη διαταραχή άγχους, όπως η διαταραχή κοινωνικού άγχους (APA, 2013).

Η επιλεκτική αλαλία είναι σχετικά σπάνια, καθώς ο επιπολασμός κυμαίνεται από 0,11% έως και 2,2%, και εμφανίζεται, κυρίως, στην παιδική ηλικία, με μέση ηλικία εμφάνισης τα 2 με 5 έτη (Hua & Major, 2016). Στους αιτιολογικούς παράγοντες συγκαταλέγονται ανεπίλυτες ψυχικές συγκρούσεις, τραυματικές εμπειρίες, κακή οικογενειακή δυναμική, ενίσχυση της δυσλειτουργίας και ύπαρξη αντίστοιχης ψυχοπαθολογίας στο στενό οικογενειακό περιβάλλον (Viana, Beidel & Rabian, 2009). Υπάρχουν ενδείξεις για την ύπαρξη γενετικού παράγοντα, καθώς έρευνες αναφέρουν ότι το 9% των πατέρων, το 18% των μητέρων και το 18% των αδελφών ατόμων με επιλεκτική αλαλία έχουν ιστορικό SM, ενώ μελετώνται και επιμέρους γονίδια, όπως το γονίδιο CNTNAP2 (Muris & Ollendick, 2015).

**Ειδικές φοβίες.** Το κύριο χαρακτηριστικό της ειδικής φοβίας (Specific Phobia, SP) είναι ο σημαντικός φόβος ή άγχος για ένα συγκεκριμένο αντικείμενο ή κατάσταση. Το φοβικό αντικείμενο ή κατάσταση, σχεδόν πάντα, προκαλεί άμεσο φόβο ή άγχος και αποφεύγεται ενεργά. Ο εν λόγω φόβος είναι επίμονος, δεν είναι ανάλογος με τον πραγματικό κίνδυνο, που δημιουργεί το συγκεκριμένο ερέθισμα, και προκαλεί κλινικά σημαντική εξασθένηση κοινωνικών, επαγγελματικών ή άλλων σημαντικών τομέων λειτουργίας. Τα πιο κοινά φοβικά ερεθίσματα αναφέρονται σε διάφορα ζώα, σε καταστάσεις του φυσικού περιβάλλοντος (π.χ. ύψη ή καταιγίδες), σε τραυματισμούς που περιέχουν αίμα, σε καταστάσεις με αεροπλάνα, ανελκυστήρες ή γενικότερα κλειστούς χώρους (καταστασιακός υπότυπος) και σε καταστάσεις που μπορεί να οδηγήσουν σε πνιγμό ή έμετο. Στα παιδιά μπορεί να εμφανιστούν φοβίες για δυνατούς ήχους ή για συγκεκριμένα κουστούμια. Συχνά, οι ασθενείς, σε ποσοστό 75%, εμφανίζουν πολλαπλές ειδικές φοβίες (APA, 2013).

Οι ειδικές φοβίες ανήκουν στις πιο διαδεδομένες ψυχικές διαταραχές, καθώς ο επιπολασμός κυμαίνεται, περίπου, στο 12%, με τη φοβία για συγκεκριμένα ζώα να είναι ο συχνότερος υπότυπος των ειδικών φοβιών στους ενήλικες του γενικού πληθυσμού, ενώ σε κλινικά δείγματα, ο πιο κοινός υπότυπος είναι ο καταστασιακός (Starcevic, 2010). Διαγιγνώσκονται συχνότερα στις γυναίκες απ' ό,τι στους άνδρες και φαίνεται να υπάρχει ένα γενετικό υπόβαθρο, καθώς οικογενειακές μελέτες και μελέτες διδύμων δείχνουν ότι οι συγγενείς των ατόμων με ειδικές φοβίες έχουν υψηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν κάποιου είδους ειδικής φοβίας, απ' ό,τι τα άτομα ελέγχου (Merckelbach & Muris, 2001). Η αιτιολογία εμφάνισης των ειδικών φοβιών περιλαμβάνει, επίσης, οικογενειακούς λόγους (π.χ. υπερπροστατευτικότητα από τους γονείς), γνωστικές προοπτικές (π.χ. η γνωστική νοοτροπία του ατόμου), συνειρμικές

διεργασίες (π.χ. κλασική εξαρτημένη μάθηση) και εξελικτικούς παράγοντες, όπως η εξελικτική προσαρμογή (Adams, Sawchuk, Cisler, Lohr & Olatunji, 2014).

**Διαταραχή κοινωνικού άγχους (Κοινωνική φοβία).** Η διαταραχή κοινωνικού άγχους (Social Anxiety Disorder) χαρακτηρίζεται από φόβο ή άγχος σχετικά με μία ή περισσότερες κοινωνικές καταστάσεις, στις οποίες το άτομο εκτίθενται σε πιθανή εξέταση από τους άλλους, όπως είναι οι κοινωνικές αλληλεπιδράσεις και η απόδοση μπροστά σε κοινό. Το άτομο φοβάται, ότι θα δράσει με κάποιο τρόπο ή θα δείξει συμπτώματα άγχους, που θα εκτιμηθούν αρνητικά από τους άλλους, με αποτέλεσμα οι κοινωνικές καταστάσεις να προκαλούν, σχεδόν πάντα, φόβο ή άγχος και να αποφεύγονται. Σε αυτήν την περίπτωση, όπως και στις περισσότερες αγχώδεις διαταραχές, ο φόβος είναι επίμονος, δεν είναι ανάλογος με τον πραγματικό κίνδυνο που δημιουργεί το περιβαλλοντικό ερέθισμα και προκαλεί κλινικά σημαντική εξασθένηση κοινωνικών, επαγγελματικών ή άλλων σημαντικών τομέων λειτουργίας (APA, 2013).

Η κοινωνική φοβία είναι μία από τις συχνότερες διαταραχές άγχους, καθώς επιδημιολογικές μελέτες έχουν υπολογίσει τον επιπολασμό σε ποσοστό της τάξεως του 2,4%-13,3%, ενώ φαίνεται ότι, στον γενικό πληθυσμό, η διαταραχή εμφανίζεται συχνότερα σε γυναίκες, σε άγαμους ανθρώπους και σε άτομα χαμηλότερου μορφωτικού επιπέδου και χαμηλότερου εισοδήματος (Schneier, Luterek, Heimberg & Leonardo, 2004). Στις αιτίες παθογένεσης περιλαμβάνονται βιολογικοί και γενετικοί παράγοντες, καθώς οικογενειακές μελέτες έδειξαν ότι το 16% των συγγενών των ατόμων με διαταραχή κοινωνικού άγχους πληρούν τα διαγνωστικά κριτήρια για κοινωνική φοβία, σε σχέση με το 5% των συγγενών των υποκειμένων ελέγχου (Morreale, Tancer & Uhde, 2010). Στους παράγοντες ψυχολογικής φύσεως εντάσσονται εμπειρίες μάθησης, όπως τραυματικές εμπειρίες και γονικά μοντέλα,

ελλείμματα κοινωνικών δεξιοτήτων, γνωστικές προκαταλήψεις και ευαισθησία στα πρόσωπα, διότι θεωρίες έχουν προτείνει ότι τα άτομα με κοινωνική φοβία είναι βιολογικά καθορισμένα, ώστε να είναι πιο ευαίσθητα στις εκφράσεις του ανθρώπινου προσώπου, και δείχνουν μεγαλύτερη επαγρύπνηση για ενδείξεις κοινωνικής απειλής (Hofmann, Aka & Piquer, 2014).

**Κρίση Πανικού και Διαταραχή Πανικού.** Η κρίση πανικού (Panic Attack, PA) μπορεί να εμφανιστεί στο πλαίσιο οποιασδήποτε διαταραχής άγχους, καθώς και άλλων ψυχικών και οργανικών διαταραχών. Χαρακτηρίζεται από απότομη εμφάνιση έντονου φόβου και έντονης δυσφορίας, που κορυφώνεται μέσα σε λίγα λεπτά, και περιλαμβάνει επιτάχυνση του καρδιακού ρυθμού, τάση για έμετο, τρόμο των άκρων, αίσθημα δύσπνοιας ή πνιγμού, πόνο στο στήθος, κοιλιακή δυσφορία και ναυτία, αίσθημα ζάλης και λιποθυμίας, αστάθεια, ρίγη, εξάψεις, παραισθήσεις, συμπτώματα αποπροσωποποίησης και φόβο θανάτου ή απώλειας ελέγχου. Ένας υπότυπος των κρίσεων πανικού είναι οι νυχτερινές κρίσεις πανικού, οι οποίες προκαλούν αφύπνιση από τον ύπνο σε κατάσταση πανικού. Η διαταραχή πανικού (Panic Disorder, PD) αναφέρεται σε επαναλαμβανόμενες απροσδόκητες κρίσεις πανικού με έντονη ανησυχία για επιπρόσθετες κρίσεις πανικού ή τις συνέπειές τους και προσαρμογή της συμπεριφοράς, που σχετίζεται με τις κρίσεις (π.χ. αποφυγή καταστάσεων). Η συχνότητα και η σοβαρότητα των κρίσεων πανικού ποικίλλουν σημαντικά (APA, 2013).

Τα ποσοστά επιπολασμού της διαταραχής πανικού κυμαίνονται από 1,4% μέχρι και 20,5% ενώ τα ποσοστά εμφάνισης είναι υψηλότερα σε άτομα ηλικίας 30-59 ετών, με μέση ηλικία εμφάνισης τα 23 έτη (Charney, Kredlow, Bui & Simon, 2013). Βιολογικά και γενετικά μοντέλα, μοντέλα ψυχολογικών παραμέτρων αλλά και μοντέλα επιγενετικής προσπαθούν να εξηγήσουν τη παθογένεση της διαταραχής

πανικού. Έρευνες εκτιμούν την κληρονομικότητα σε ποσοστό 48% και φαίνεται μια ισχυρή σύνδεση της διαταραχής με τα χρωμοσώματα 4, 9, 13 και 15 (Schmidt, Korte, Norr, Keough & Timpano, 2014). Επιπροσθέτως, εξετάζονται μοντέλα, που δίνουν βάση στη σημασία του υπεραερισμού και στη φυσιολογική απάντηση στα επίπεδα του CO<sub>2</sub>, ως αιτιολογία για την εμφάνιση των κρίσεων πανικού (Shrestha, Natarajan & Coplan, 2010). Οι πρώτες κρίσεις πανικού συνδέονται, συνήθως, με στρεσογόνα γεγονότα ζωής και αποδίδονται σε τραυματικά συμβάντα, σε υπερπροστατευτικότητα των γονέων και σε χαρακτηριστικά της προσωπικότητας των ασθενών, όπως η απαισιοδοξία, η υπερβολική ανησυχία σχετικά με τις φυσικές λειτουργίες, η ανασφάλεια, ο εγωκεντρισμός, η ανωριμότητα, η αναποφασιστικότητα και τα υπερβολικά υψηλά πρότυπα της ηθικής (Faravelli & Paionni, 2001).

**Αγοραφοβία.** Η αγοραφοβία (Agoraphobia, AG) αποτελεί φόβο ή ανησυχία για δύο (ή περισσότερες) από πέντε συγκεκριμένες καταστάσεις, οι οποίες περιλαμβάνουν τη χρήση δημόσιων μέσων μεταφοράς, τους ανοιχτούς χώρους (π.χ. χώρους στάθμευσης, αγορές, γέφυρες), τους κλειστούς χώρους (π.χ. καταστήματα, θέατρα, κινηματογράφους), την πολυκοσμία και τις καταστάσεις, όπου το άτομο πρέπει να βρίσκεται μοναχό εκτός σπιτιού. Οι ασθενείς αποφεύγουν τις εν λόγω καταστάσεις, λόγω της ιδέας ότι θα είναι δύσκολη η διαφύγη, σε περίπτωση εμφάνισης συμπτωμάτων κρίσης πανικού. Οι αγοραφοβικές καταστάσεις, σχεδόν πάντα, προκαλούν φόβο ή άγχος και είτε αποφεύγονται ενεργά, είτε απαιτούν την παρουσία συντρόφου ή υπομένονται με έντονο άγχος. Όπως και στις προηγούμενες διαταραχές, ο φόβος είναι επίμονος, δεν είναι ανάλογος με τον πραγματικό κίνδυνο που δημιουργεί το περιβαλλοντικό ερέθισμα και προκαλεί κλινικά σημαντική εξασθένιση κοινωνικών, επαγγελματικών ή άλλων σημαντικών τομέων λειτουργίας (APA, 2013).

Η αγοραφοβία μπορεί να ξεκινήσει από την παιδική ηλικία και το ποσοστό επιπολασμού κυμαίνεται μεταξύ 2,5% και 6,7% (Cornacchio, Chou, Sacks, Pincus & Comer, 2015). Η μέση ηλικία έναρξης της διαταραχής είναι, περίπου, τα 21 έτη, με μία διακύμανση μεταξύ 17 και 25 ετών (de Lijster et al., 2017). Το DSM-5 (2013) αναφέρει, ως παράγοντες επικινδυνότητας, για την εμφάνιση της αγοραφοβίας, στοιχεία ιδιοσυγκρασίας (π.χ. αναχαίτηση της συμπεριφοράς και ευαισθησία στο άγχος), περιβαλλοντικές επιρροές (τραυματικά γεγονότα στην πρώιμη ηλικία και υπερπροστατευτική οικογένεια) και γενετικούς παράγοντες, καθώς η κληρονομικότητα για την αγοραφοβία υπολογίζεται στο 61%. Μέχρι πρότινος, η αγοραφοβία αποτελούσε μέρος της διάγνωσης της διαταραχής πανικού, βάσει τριών υποτύπων (διαταραχή πανικού με αγοραφοβία, διαταραχή πανικού χωρίς αγοραφοβία και αγοραφοβία χωρίς ιστορικό διαταραχής πανικού) (Asmundson, Taylor & Smits, 2014). Πλέον, οι δύο διαταραχές διαγιγνώσκονται ξεχωριστά, ωστόσο, στα δύο τρίτα των περιπτώσεων, η διαταραχή πανικού συνυπάρχει με την αγοραφοβία και οι εν λόγω ασθενείς λαμβάνουν διάγνωση συννοσηρότητας διαταραχής πανικού και αγοραφοβίας (Bandelow, 2017).

**Γενικευμένη αγχώδης διαταραχή.** Η Γενικευμένη αγχώδης διαταραχή (Generalized Anxiety Disorder, GAD) χαρακτηρίζεται από υπερβολικό άγχος και ανησυχία, που το άτομο δυσκολεύεται να ελέγξει, σχετικά με μια σειρά εκδηλώσεων ή δραστηριοτήτων (όπως η εργασία ή η σχολική απόδοση), για ένα διάστημα τουλάχιστον έξι μηνών. Η ένταση, η διάρκεια ή η συχνότητα του άγχους και των ανησυχιών δεν είναι ανάλογες με την πραγματική επίδραση του αναμενόμενου γεγονότος. Επιπροσθέτως, ο ασθενής παρουσιάζει ταραχή, δυσκολία συγκέντρωσης, ευερεθιστότητα, μυϊκή ένταση, διαταραχές στον ύπνο και κουράζεται εύκολα. Πολλά άτομα με γενικευμένη διαταραχή άγχους εμφανίζουν, επίσης, σωματικά συμπτώματα



(π.χ. εφίδρωση, ναυτία, διάρροια) και μια υπερβολική απόκριση στον τρόμο. Αξίζει να σημειωθεί ότι η διάγνωση για GAD δίνεται μόνο αν η διαταραχή δεν οφείλεται σε φυσιολογικές επιδράσεις ουσιών ή σε άλλη ιατρική κατάσταση ή ψυχική διαταραχή (APA, 2013).

Η γενικευμένη αγχώδης διαταραχή είναι από τις πιο διαδεδομένες ψυχικές διαταραχές, καθώς τα ποσοστά επιπολασμού, παγκοσμίως, κυμαίνονται από 2,8-6,6% στις γυναίκες και 0,9-3,6% στους άνδρες (Comaty & Advokat, 2013). Η τυπική ηλικία έναρξης της διαταραχής είναι, συνήθως, μεταξύ του τέλους της εφηβείας και των 20 ετών, αν και μπορεί να εμφανιστεί, επίσης, στην παιδική ηλικία και την πρόωμη εφηβεία ή και να αρχίσει σε μεγαλύτερη ηλικία, σε έναν σημαντικό αριθμό ασθενών (Starcevic, 2010). Στα αίτια παθογένεσης περιλαμβάνονται νευροβιολογικοί και γενετικοί παράγοντες, με αξιοσημείωτο το γεγονός ότι τα ποσοστά κληρονομικότητας φθάνουν έως και 50-60%, αλλά και ψυχολογικές παράμετροι, όπως αναχαίτηση της συμπεριφοράς, αυστηρή οικογένεια, τραυματικά γεγονότα, μια γενικότερα αγχώδης ιδιοσυγκρασία, γνωστικές διαστρεβλώσεις (π.χ. επιλεκτική προσοχή, καταστροφικές αυτόματες σκέψεις) και διαφορετικός τρόπος επεξεργασίας απειλητικών πληροφοριών (Lightfoot, Seay Jr. & Goddard, 2010).

**Ιδιοψυχαναγκαστική διαταραχή.** Η ιδιοψυχαναγκαστική διαταραχή (Obsessive-Compulsive Disorder, OCD) χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενες ιδεοληψίες ή/και ψυχαναγκασμούς, που είναι αρκετά σοβαρές, ώστε να είναι χρονοβόρες (καταναλώνεται περισσότερο από μία ώρα την ημέρα στην ενασχόληση με αυτές) ή να προκαλέσουν έντονη δυσφορία ή σημαντική βλάβη. Ως ιδεοληψίες ορίζονται επαναλαμβανόμενες και επίμονες σκέψεις, παρορμήσεις ή εικόνες, που εκλαμβάνονται από το άτομο, κάποια στιγμή κατά τη διάρκεια της διαταραχής, ως παρεμβατικές και ανεπιθύμητες. Στα περισσότερα άτομα προκαλούν έντονο άγχος ή

αγωνία και οι ασθενείς επιχειρούν να τις αγνοήσουν ή να τις καταστείλουν, ή προσπαθούν να τις εξουδετερώσουν με κάποια άλλη σκέψη ή δράση. Οι ψυχαναγκασμοί είναι επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές (π.χ. πλύσιμο χεριών, συχνός έλεγχος) ή ψυχικές πράξεις (π.χ. προσευχή, απαρίθμηση, επανάληψη λέξεων σιωπηλά), στις οποίες το άτομο αισθάνεται ότι ωθείται, ως απάντηση σε μία εμμονή ή σύμφωνα με κανόνες, που πρέπει να εφαρμόζονται αυστηρώς. Οι συμπεριφορές αυτές στοχεύουν στην πρόληψη ή τη μείωση του άγχους ή στην αποτροπή κάποιου φόβου ή κατάστασης, παρά το γεγονός ότι δεν συνδέονται, με ρεαλιστικό τρόπο, με το φόβο ή την κατάσταση, που στοχεύουν να εξουδετερώσουν ή να αποτρέψουν, και είναι σαφώς υπερβολικές. Το περιεχόμενο των ιδεοληψιών και των ψυχαναγκασμών ποικίλλει μεταξύ των ατόμων. Εντούτοις, ορισμένα θέματα είναι κοινά, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που σχετίζονται με τον καθαρισμό (ιδεοληψίες για πιθανή μόλυνση και παρορμήσεις καθαρισμού), με τη συμμετρία (ιδεοληψίες σχετικά με συμμετρία και επαναλαμβανόμενοι ψυχαναγκασμοί καταμέτρησης), με απαγορευμένες ή ταμπού σκέψεις (π.χ. επιθετικές, σεξουαλικές ή θρησκευτικές ιδεοληψίες και συναφείς ψυχαναγκασμοί) και με πιθανές βλάβες (π.χ. φόβοι για βλάβη στον εαυτό του ή σε άλλους) (APA, 2013).

Πιο παλιά, η ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή θεωρείτο εξαιρετικά σπάνια, ωστόσο, πλέον, ο επιπολασμός φθάνει το 2,9%, με ηλικία έναρξης τα 25 έτη (Abramowitz & Jacoby, 2014). Επιπροσθέτως, επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι η αναλογία γυναικών και ανδρών, στην εμφάνιση της διαταραχής, είναι 2 προς 1 και ότι η πορεία της νόσου είναι, συνήθως, χρόνια (Sasson, Chopra, Amiaz, Iancu & Zohar, 2001). Στους βιολογικούς παράγοντες παθογένεσης περιλαμβάνονται νευροχημικές, νευροανατομικές και γενετικές παράμετροι, με εντυπωσιακό το γεγονός ότι μελέτες σε ομοζυγωτικά δίδυμα αναφέρουν ποσοστά κληρονομικότητας

μέχρι και 87% (Rauch, Corá-Locatelli & Greenberg, 2002). Στους ψυχολογικούς παράγοντες παθογένεσης κατατάσσονται αναπτυξιακές παράμετροι, χαρακτηριστικά της προσωπικότητας (π.χ. υψηλή αποφυγή βλάβης), γνωστικές αποκλίσεις (π.χ. υπερεκτίμηση της πιθανότητας δυσμενών αποτελεσμάτων, υπερβολικό αίσθημα ευθύνης, υπερεκτίμηση της απειλής, τελειομανία, υπερβολική ανάγκη για έλεγχο κ.α.) και λανθασμένη επεξεργασία πληροφοριών (Dougherty, Rauch & Greenberg, 2010).

**Διαταραχή stress μετά από ψυχοτραυματική εμπειρία.** Η διαταραχή stress μετά από ψυχοτραυματική εμπειρία (Posttraumatic Stress Disorder, PTSD) περιλαμβάνει έκθεση σε πραγματικό ή απειλούμενο θάνατο, σοβαρό τραυματισμό ή σεξουαλική βία μέσω άμεσης προσωπικής εμπειρίας, μέσω μαρτύρων, μέσω επαναλαμβανόμενης ή ακραίας έκθεσης σε λεπτομέρειες του τραυματικού συμβάντος, ή μαθαίνοντας ότι τα τραυματικά γεγονότα συνέβησαν σε ένα στενό μέλος της οικογένειας ή σε κοντινό φίλο. Μετά από την έκθεση στο τραυματικό γεγονός, παρουσιάζονται επαναλαμβανόμενες, ακούσιες και παρεμβατικές θλιβερές αναμνήσεις του τραυματικού γεγονότος, επαναλαμβανόμενα οδυνηρά όνειρα, που σχετίζονται με το τραυματικό συμβάν, αποσυνδεδετικές αντιδράσεις, στις οποίες το άτομο αισθάνεται ή δρα σα να επαναλαμβάνεται η τραυματική εμπειρία, έντονη ή παρατεταμένη ψυχολογική δυσφορία και φυσιολογικές αντιδράσεις κατά την έκθεση σε εσωτερικές ή εξωτερικές ενδείξεις, που συμβολίζουν ή μοιάζουν με μια πτυχή του τραυματικού γεγονότος. Παρατηρείται μία συνεχής αποφυγή ερεθισμάτων που σχετίζονται με το τραυματικό συμβάν, όπως αναμνήσεις, σκέψεις, συναισθήματα και εξωτερικές υπενθυμίσεις (π.χ. άνθρωποι, τόποι, συνομιλίες, δραστηριότητες, αντικείμενα, καταστάσεις). Στα γνωστικά συμπτώματα περιλαμβάνονται επίμονες και υπερβολικές αρνητικές πεποιθήσεις ή προσδοκίες για τον εαυτό, τους άλλους ή τον κόσμο, αδυναμία θύμησης μιας σημαντικής πτυχής του τραυματικού γεγονότος,

παραμορφωμένες νοήσεις σχετικά με την αιτία ή τις συνέπειες των τραυματικών γεγονότων, επίμονη αρνητική συναισθηματική κατάσταση, σημαντικά μειωμένο ενδιαφέρον ή συμμετοχή σε δραστηριότητες, συναισθήματα αποξένωσης από τον κοινωνικό περίγυρο και επίμονη αδυναμία βίωσης θετικών συναισθημάτων.

Σημειώνονται σημαντικές αλλοιώσεις στη διέγερση και την αντιδραστικότητα, όπως είναι η ευερέθιστη συμπεριφορά και εκρήξεις θυμού, η αυτοκαταστροφική συμπεριφορά, η υπερβολική επαγρύπνηση, η υπερβολική απόκριση στον τρόμο, τα προβλήματα συγκέντρωσης και οι διαταραχές ύπνου. Τα συμπτώματα της διαταραχής πρέπει να είναι παρόντα για τουλάχιστον ένα μήνα, ώστε να δοθεί η διάγνωση για PTSD (APA, 2013).

Περίπου 1% έως 14% του γενικού πληθυσμού μπορεί να αναπτύξει διαταραχή μετατραυματικού στρες κατά τη διάρκεια της ζωής του (Connolly, 2006). Αν και οι άνδρες είναι πιο πιθανό να βιώσουν ένα τραυματικό συμβάν, οι γυναίκες έχουν περισσότερες πιθανότητες να αναπτύξουν PTSD, καθώς τα ποσοστά επιπολασμού της διαταραχής για τις γυναίκες είναι 10%, ενώ για τους άνδρες κυμαίνονται στο 5% (Williams, Richardson & Galovski, 2013). Στους παράγοντες κινδύνου ανάπτυξης της διαταραχής συγκαταλέγονται δημογραφικοί παράγοντες (π.χ. χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο), το οικογενειακό ιστορικό, αναπτυξιακές μεταβλητές (π.χ. διαταραγμένη σχέση παιδιού-γονέων, ψυχολογική και σεξουαλική κακοποίηση, πρόωμη απομάκρυνση από τους γονείς κ.α.), ύπαρξη κάποιας μορφής ψυχοπαθολογίας (κατάθλιψη, αγχώδεις διαταραχές, διαταραχές προσωπικότητας) και άλλοι κλινικοί, περιβαλλοντικοί και βιολογικοί παράγοντες (Starcevic, 2010). Θεωρητικά μοντέλα προτείνουν, επίσης, ελλείμματα στην επεξεργασία συναισθημάτων, λανθασμένα συστήματα αναπαραστάσεων και γενικότερα γνωστικά

σφάλματα, ως αιτίες εμφάνισης του PTSD (Bovin, Wells, Rasmusson, Hayes & Resick, 2014).

**Οξεία αντίδραση στο stress.** Η οξεία αντίδραση στο stress (Acute Stress Disorder, ASD) θυμίζει τη διαταραχή stress μετά από ψυχοτραυματική εμπειρία, καθώς το κύριο χαρακτηριστικό της είναι η έκθεση σε πραγματικό ή απειλούμενο θάνατο, σοβαρό τραυματισμό ή σεξουαλική βία μέσω άμεσης προσωπικής εμπειρίας, μέσω μαρτύρων, μέσω επαναλαμβανόμενης ή ακραίας έκθεσης σε λεπτομέρειες του τραυματικού συμβάντος, ή μαθαίνοντας ότι τα τραυματικά γεγονότα συνέβησαν σε ένα στενό μέλος της οικογένειας ή σε κοντινό φίλο, ενώ περιλαμβάνει και παρόμοια γνωστικά και αποσυνδεδετικά συμπτώματα και συμπτώματα διάθεσης, αποφυγής και διέγερσης. Ωστόσο, τα απαραίτητα, για τη διάγνωση, συμπτώματα διαρκούν από τρεις μέρες έως ένα μήνα. Η κλινική εικόνα της διαταραχής μπορεί να ποικίλει ανά άτομο, αλλά συνήθως χαρακτηρίζεται από μια αγχώδη ανταπόκριση, η οποία περιλαμβάνει κάποια μορφή επανεμφάνισης ή αντιδραστικότητας στο τραυματικό συμβάν (APA, 2013).

Έρευνες έχουν δείξει ότι η οξεία αντίδραση στο stress αποτελεί προβλεπτικό παράγοντα για την επακόλουθη ανάπτυξη PTSD, και, ενώ δεν υπάρχουν πολλές μελέτες πάνω στο θέμα, τα ποσοστά επιπολασμού διαφόρων τύπων τραυμάτων υπολογίζονται από 7% έως 33% (Yehuda & Wong, 2001). Τα ποσοστά επιπολασμού της διαταραχής εξαρτώνται, εν μέρει, από τον τύπο της τραυματικής εμπειρίας, καθώς φαίνεται να κυμαίνονται στο 13% για ατυχήματα με αυτοκίνητα, 14% μετά από ήπιο εγκεφαλικό τραύμα, 16-19% μετά από επίθεση, 10% σε θύματα πυρκαγιάς, 6-12% μετά από βιομηχανικά ατυχήματα, 9% στους επιζώντες των τρομοκρατικών επιθέσεων της 11ης Σεπτεμβρίου και 33% μετά από μαζικές ένοπλες επιθέσεις (mass shooting) (Nickerson & Bryant, 2013). Οι προγνωστικοί παράγοντες για την

ανάπτυξη ASD περιλαμβάνουν το γυναικείο φύλο, μια τάση προς κατάθλιψη, το αποφευκτικό στυλ αντιμετώπισης καταστάσεων, ιστορικό συναισθηματικής ή αγχώδους διαταραχής και ύπαρξη ψυχοπαθολογίας στο στενό οικογενειακό περιβάλλον (κυρίως στους γονείς) (Yehuda & Sarapas, 2010).

**Προκαλούμενη από ουσίες αγχώδης διαταραχή.** Στην προκαλούμενη από ουσίες αγχώδη διαταραχή (Substance/Medication-Induced Anxiety Disorder) κυριαρχεί το άγχος και οι κρίσεις πανικού. Τα συμπτώματα πανικού ή άγχους πρέπει να έχουν αναπτυχθεί κατά τη διάρκεια ή αμέσως μετά την τοξίκωση ή την στέρηση ή μετά από έκθεση στο φάρμακο ενώ οι ουσίες ή τα φάρμακα πρέπει να είναι ικανά να προκαλέσουν τα εν λόγω συμπτώματα. Οι κύριες κατηγορίες ουσιών είναι η αλκοόλη, η καφεΐνη, η κάνναβη, η φαινκυκλιδίνη (phencyclidine, PCP) και άλλες παραισθησιογόνες ουσίες, εισπνεόμενες ουσίες, διεγερτικές ουσίες (συμπεριλαμβανομένης της κοκαΐνης) και άλλες (ή άγνωστες) ουσίες, ενώ τα αγχώδη συμπτώματα μπορεί να εμφανιστούν και σε οπιοειδή, ηρεμιστικά, υπνωτικά και αγχολυτικά φάρμακα, κατά την αποστέρηση. Μερικά από τα φάρμακα που προκαλούν συμπτώματα άγχους είναι αναισθητικά και αναλγητικά φάρμακα, βρογχοδιασταλτικά, αντιχολινεργικά, παρασκευάσματα για διαταραχές του θυρεοειδούς, ινσουλίνη, αντισυλληπτικά, αντισταμινικά, αντιπαρκινσονικά φάρμακα, λίθιο, κορτικοστεροειδή, αντιυπερτασικά και φάρμακα για καρδιαγγειακά νοσήματα, αντισπασμωδικά, αντιψυχωσικά και αντικαταθλιπτικά φάρμακα. Βαρέα μέταλλα και τοξίνες (π.χ. εντομοκτόνα, νευροπαραλυτικά αέρια, μονοξείδιο του άνθρακα, διοξείδιο του άνθρακα, ουσίες όπως βενζίνη και βαφή) μπορεί επίσης να προκαλέσουν συμπτώματα πανικού ή άγχους. Ο επιπολασμός της διαταραχής δεν είναι σαφής, ωστόσο επιδημιολογικές μελέτες προτείνουν το ποσοστό 0,002%, καθιστώντας τη μία αρκετά σπάνια νόσο (APA, 2013; Craske & Stein, 2016).

**Αγχώδης διαταραχή οφειλόμενη σε σωματική κατάσταση.** Η αγχώδης διαταραχή οφειλόμενη σε σωματική κατάσταση (Anxiety Disorder Due to Another Medical Condition) αναφέρεται σε άγχος ή κρίσεις πανικού, που, μέσω του ιστορικού του ασθενούς, της σωματικής εξέτασης και εργαστηριακών ευρημάτων, αποτελούν άμεση παθοφυσιολογική συνέπεια μιας άλλης ιατρικής νόσου. Επιπροσθέτως, για τη διάγνωση απαιτείται η παρουσία μιας σαφούς χρονικής συσχέτισης μεταξύ της εμφάνισης, της παρόξυνσης ή της ύφεσης της ιατρικής κατάστασης και των συμπτωμάτων άγχους, η παρουσία άτυπων, μιας πρωτοταγούς διαταραχής άγχους, χαρακτηριστικών και στοιχεία στη βιβλιογραφία ότι, αποδεδειγμένα, ένας γνωστός φυσιολογικός μηχανισμός προκαλεί άγχος (APA, 2013).

Κοινές ιατρικές καταστάσεις, που μπορεί να προκαλέσουν άγχος, αποτελούν τα καρδιαγγειακά νοσήματα (π.χ. αναιμία, αρρυθμία και στεφανιαία νόσος), οι αναπνευστικές διαταραχές (π.χ. άσθμα και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, υποξία, υπεραερισμός, πνευμονία, πνευμονική εμβολή), ενδοκρινολογικά σύνδρομα (π.χ. δυσλειτουργία των επινεφριδίων, υπογλυκαιμία, εμμηνόπαυση και δυσλειτουργία των ωοθηκών, υποφυσιακές διαταραχές, προεμμηνορροϊκό σύνδρομο και δυσλειτουργίες του θυρεοειδούς), μεταβολικά νοσήματα (π.χ. υπασβεστιαμία, υποκαλцаιμία, υπερθερμία, υποφωσφαταιμία, μεταβολική οξέωση, ανεπάρκεια βιταμίνης B12) και νευρολογικές διαταραχές (π.χ. εγκεφαλική ανοξία, εγκεφαλική αγγειακή νόσος, εγκεφαλοπάθεια, πολλαπλή σκλήρυνση, βαρεία μυασθένεια, νόσος του Parkinson κ.α.). Έρευνες σημειώνουν ότι τα ποσοστά επιπολασμού των συμπτωμάτων άγχους σε ασθενείς με χρόνιες ιατρικές παθήσεις κυμαίνονται μεταξύ 15,3% και 21,3%, ενώ ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα δεδομένα, που υποστηρίζουν ότι στα εξωτερικά ιατρεία, το 4%-8% των ασθενών παρουσιάζει διαταραχές άγχους, ενώ

στους νοσηλευόμενους ασθενείς, ο επιπολασμός μπορεί φτάσει το 23% (Raster, Wise & Cai, 2001).

**Αγχώδης διαταραχή προσδιοριζόμενη αλλιώς.** Η κατηγορία της αγχώδους διαταραχής προσδιοριζόμενης αλλιώς (Other Specified Anxiety Disorder) περιλαμβάνει διαγνώσεις, στις οποίες κυριαρχούν τα συμπτώματα που χαρακτηρίζουν μια διαταραχή άγχους αλλά δεν πληρούν τα απαραίτητα κριτήρια για οποιαδήποτε από τις διαταραχές, στην κατηγορία των αγχωδών διαταραχών. Η εν λόγω κατηγορία χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις στις οποίες ο ειδικός ψυχικής υγείας επιλέγει να κοινοποιήσει το λόγο, για τον οποίο η διάγνωση δεν πληροί τα κριτήρια για οποιαδήποτε διαταραχή άγχους. Παραδείγματα διαγνώσεων, που μπορούν να προσδιοριστούν χρησιμοποιώντας την ονομασία “προσδιοριζόμενη αλλιώς”, αποτελούν διαγνώσεις που δεν περιλαμβάνουν όλα τα απαραίτητα κριτήρια για μια διαταραχή ή όπου τα συμπτώματα δεν έχουν την απαραίτητη διάρκεια (APA, 2013).

**Απροσδιόριστη διαταραχή άγχους.** Στην απροσδιόριστη διαταραχή άγχους (Unspecified Anxiety Disorder) ανήκουν διαγνώσεις, στις οποίες κυριαρχούν τα συμπτώματα που χαρακτηρίζουν μια διαταραχή άγχους αλλά δεν πληρούν τα απαραίτητα κριτήρια για οποιαδήποτε από τις διαταραχές, στην κατηγορία των διαταραχών άγχους. Η κατηγορία αυτή χρησιμοποιείται σε καταστάσεις όπου ο ειδικός ψυχικής υγείας επιλέγει να μην προσδιορίσει το λόγο, για τον οποίο τα κριτήρια δεν πληρούνται, και περιλαμβάνει διαγνώσεις, στις οποίες δεν υπάρχουν επαρκείς πληροφορίες, ώστε να γίνει μία συγκεκριμένη διάγνωση, όπως σε καταστάσεις επειγόντων περιστατικών (APA, 2013).

## **Παρεμβάσεις**

Πλέον, υπάρχει η πληθώρα μεθόδων παρεμβάσεων, με στόχο τη μείωση των



αρνητικών επιπτώσεων των αγχώδων διαταραχών ή, ακόμα, και τη θεραπεία τους. Οι παρεμβάσεις εστιάζουν κυριώς, αλλά όχι μόνο, στην φαρμακευτική προσέγγιση και στη ψυχοθεραπεία. Για χιλιετίες, χρησιμοποιούνταν φυσικές φυτικές ουσίες (π.χ. βαλεριάνα) και αλκοόλ για την βελτίωση του άγχους (Julien, 2013). Σήμερα, τα φάρμακα, που χρησιμοποιούνται για τις διαταραχές άγχους, περιλαμβάνουν, κυριώς, αντικαταθλιπτικά όπως εκλεκτικούς αναστολείς επαναπρόσληψης σεροτονίνης (Selective Serotonin Reuptake Inhibitors, SSRIs), αναστολείς επαναπρόσληψης σεροτονίνης-νοραδρεναλίνης (Serotonin-Noradrenaline Reuptake Inhibitors, SNRIs), τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά (Tricyclic Antidepressants, TCAs), αναστολείς της μονοαμινοξειδάσης (Monoamine Oxidase Inhibitors, MAOIs), το ρυθμιστή ασβεστίου πρεγαβαλίνη (Pregabalin), αγχολυτικά (π.χ. βουσπιρόνη), βενζοδιαζεπίνες (benzodiazepines), αντιισταμινικές ουσίες, όπως η υδροξυζίνη, η οποία έχει και ηρεμιστική ιδιότητα, και άτυπα αντιψυχωσικά (π.χ. κουετιαπίνη) (Brawman-Mintzer & Yonkers, 2004; Bandelow et al., 2015). Επιπροσθέτως, σε φαρμακοανθεκτικές αγχώδεις διαταραχές, και ειδικά σε βαριές μορφές OCD, εφαρμόζονται νευροχειρουργικές παρεμβάσεις, όπως η πρόσθια καψουλοτομή (anterior capsulotomy), η πρόσθια προσαγωγιτομή (anterior cingulotomy) και η εν τω βάθει εγκεφαλική διέγερση (Deep brain stimulation, DBS) (Heeramun-Aubeeluck & Lu, 2013). Ως πιθανή θεραπευτική επιλογή για τις διαταραχές άγχους, εξετάζεται και η επαναλαμβανόμενη διακρανιακή μαγνητική διέγερση (repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, rTMS) (Vennwald, Diemer & Zwanzger, 2013).

Η πιο διαδεδομένη μέθοδος ψυχοθεραπείας για τις αγχώδεις διαταραχές είναι η γνωσιακή-συμπεριφοριστική θεραπεία (Cognitive-Behavioral Therapy, CBT). Η CBT θεωρείται μια βραχυπρόθεσμη θεραπεία, επικεντρωμένη στις δεξιότητες του ατόμου, που στοχεύει στη μεταβολή των δυσπροσαρμοστικών συναισθηματικών αντιδράσεων

μεταβάλλοντας τις σκέψεις, τις συμπεριφορές ή και τα δύο (Kaczurkin & Foa, 2015). Πολλές διαφορετικές στρατηγικές και τεχνικές χρησιμοποιούνται για την κατανόηση και τη διαχείριση των γνωστικών, συμπεριφορικών και φυσιολογικών συνιστωσών του άγχους, όπως τεχνικές χαλάρωσης, γνωστική αναδιάρθρωση και έκθεση σε φοβικά ερεθίσματα (Wolgensinger, 2015). Η θεραπεία προσφέρεται τόσο σε ατομικό όσο και σε ομαδικό επίπεδο. Μία πρωτοποριακή ιδέα είναι η θεραπεία μέσω διαδικτύου (transdiagnostic therapy), η οποία αποτελεί μια τροποποιημένη μορφή CBT, που έχει σχεδιαστεί, ώστε είναι εφαρμόσιμη σε ασθενείς με αγχώδεις και συναισθηματικές διαταραχές. Στόχος του εν λόγω προγράμματος είναι να άρει τα εμπόδια της διάδοσης και της προσβασιμότητας, παρέχοντας μια ενιαία προσέγγιση θεραπείας. Δεδομένα από κλινικές δοκιμές και μετα-αναλύσεις επιβεβαιώνουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας, η οποία είναι συγκρίσιμη με τις παραδοσιακές προσεγγίσεις CBT (Norton & Roberge, 2017).

Μία σχετικά πρόσφατη μορφή ψυχοθεραπείας αποτελεί η απευαισθητοποίηση και επανεπεξεργασία μέσω οφθαλμικών κινήσεων (Eye Movement Desensitization and Reprocessing, EMDR), η οποία βασίζεται στην πλευρική κίνηση των οφθαλμών και, σε συνδυασμό με εξωτερικά ερεθίσματα, στοχεύει στην ανακούφιση της δυσφορίας που σχετίζεται με τραυματικές μνήμες (Shapiro, 2014). Άλλες μορφές θεραπείας, που χρησιμοποιούνται ως παρέμβαση στις αγχώδεις διαταραχές, είναι η διαπροσωπική ψυχοθεραπεία, προγράμματα ενσυνειδητότητας (mindfulness) και οι ψυχοδυναμικές προσεγγίσεις. Έρευνες υπογραμμίζουν, επίσης, τα οφέλη της φυσικής άσκησης (DeBoer, Powers, Utschig, Otto & Smits, 2012; Jayakody, Gunadasa & Hosker, 2014), αλλά και εναλλακτικών μεθόδων ιατρικής, όπως ο βελονισμός (Pilkington, Kirkwood, Rampes, Cummings & Richardson, 2007; Errington-Evans, 2012) και η

θεραπεία Morita, η οποία βασίζεται στη φιλοσοφία Ασιατικών χωρών, όπως η Ιαπωνία και η Κίνα (Sugg, Richards & Frost, 2016).

### Η Εφαρμογή της Οπτογενετικής στην Έρευνα των Αγχωδών Διαταραχών

#### **Η Έρευνα του Άγχους και του Φόβου**

Οι μέθοδοι των νευροεπιστημών έχουν συνεισφέρει στην έρευνα των αγχωδών διαταραχών και έχουν συμβάλει σημαντικά στην αναγνώριση των εγκεφαλικών περιοχών, που συνδέονται με την εμφάνιση της αγχώδους ψυχοπαθολογίας. Από τις βιοχημικές αναλύσεις σε καλλιεργημένους νευρώνες μέχρι την ολική απεικόνιση του εγκεφάλου, οι νευροαπεικονιστικές και ηλεκτροφυσιολογικές τεχνικές έχουν προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες για την παθολογία του εγκεφάλου των ασθενών με αγχώδεις διαταραχές, που αποσκοπούν στην κατανόηση των αιτιών εμφάνισης των εν λόγω νόσων και στην ανάπτυξη πιθανών παρεμβάσεων. Για δεκαετίες, η ερευνητική κοινότητα προσπαθεί να εντοπίσει τις περιοχές του εγκεφάλου, που εμπλέκονται στην εμφάνιση και εξάλειψη του φόβου, στο άγχος και στις συναφείς συμπεριφορές.

Οι κύριες εγκεφαλικές περιοχές, που έχει βρεθεί ότι σχετίζονται με αγχώδεις και φοβικές καταστάσεις, είναι η αμυγδαλή (Amygdala), ο προμετωπιαίος φλοιός (Prefrontal Cortex, PFC) και ειδικά ο οπισθοπλάγιος προμετωπιαίος φλοιός (Dorsolateral Prefrontal Cortex, dlPFC), ο έσω ραχιαίος προμετωπιαίος φλοιός (Dorsomedial Prefrontal Cortex, dmPFC) και ο έσω κοιλιακός προμετωπιαίος φλοιός (Ventromedial Prefrontal Cortex, vmPFC), ο φλοιός της πρόσθιας μοίρας της έλικας του προσαγωγίου (Anterior Cingulate Cortex, ACC), ο κογχομετωπιαίος φλοιός (Orbitofrontal cortex, OFC), ο νησιωτικός φλοιός ή νησίδα (Insular cortex/Insula), η περιωδραγωγός φαιά ουσία (Periaqueductal Gray, PAG), ο θάλαμος (Thalamus), ο υποθάλαμος (Hypothalamus) και το ραβδωτό σώμα (Striatum) (Nees & Flor, 2014).

Σε νευροχημικό επίπεδο, ένας μεγάλος αριθμός νευροδιαβιβαστών, πεπτιδίων, νευροτροποποιητών (Neuromodulators) και ορμονών φαίνεται να εμπλέκεται στον φόβο και το άγχος, όπως το νοραδρενεργικό σύστημα, με κύριο χημικό στοιχείο τη νορεπινεφρίνη ή νοραδρεναλίνη (Norepinephrine, NE ή Noradrenaline, NA), ο νευροδιαβιβαστής σεροτονίνη (Serotonin ή 5-hydroxytryptamine, 5-HT), το σύστημα του γ-αμινο-βουτυρικού οξέος (gamma-Aminobutyric acid, GABA), νευροστεροειδή (Neurosteroids), ορμόνες του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, HPA axis), πεπτίδια όπως η χολοκυστοκινίνη (Cholecystokinin, CCK), το νευροπεπτίδιο Y (Neuropeptide Y, NPY) και οι ταχυκινίνες (π.χ. η ουσία P και οι νευροκινίνες A και B), καθώς και διεγερτικά αμινοξέα, όπως το γλουταμινικό οξύ (Glutamate, GLU) (Steimer, 2002).

Τα τελευταία χρόνια, ένα πλήθος μελετών, που χρησιμοποιούν νευροψυχολογικές, ηλεκτροφυσιολογικές, φαρμακολογικές και βιοχημικές τεχνικές, έχουν δώσει πολλές πληροφορίες για το νευρωνικό υπόστρωμα της μάθησης του φόβου. Όμως, όπως αναφέρει ο Karl Deisseroth (2012), μέχρι πρότινος, οι τεχνολογικοί περιορισμοί παρεμπόδιζαν κυτταρικά στοχευμένες και χρονικά ακριβείς παρεμβάσεις σε ανέπαφα νευρικά κυκλώματα θηλαστικών για την πρόκληση ή τη βελτίωση της έκφρασης συμπτωμάτων ενός ευρέως φάσματος ασθενειών. Τα σύγχρονα εργαλεία της οπτογενετικής, ωστόσο, έχουν καταστήσει δυνατή την απεικόνιση και τον έλεγχο της δραστηριότητας, της συνδεσιμότητας και της λειτουργίας συγκεκριμένων κυτταρικών τύπων εντός σύνθετων νευρωνικών κυκλωμάτων, σε καταστάσεις άγχους (Tonote, Fadok & Lüthi, 2015). Στη συνέχεια, παρατίθενται εγκεφαλικές περιοχές και νευρωνικά κυκλώματα, που έχουν ερευνηθεί με τη μέθοδο της οπτογενετικής, μέσω της οποίας έχει αποδειχθεί η εμπλοκή τους στην εμφάνιση χαρακτηριστικών άγχους, σε συνδυασμό με συμπεριφορικές παρατηρήσεις.

### **Το Μοντέλο του Εξαρτημένου Φόβου**

Υπάρχουν διάφορα πειραματικά εργαλεία για τη μελέτη του φόβου και του άγχους, ωστόσο, ένα από τα πιο διαδεδομένα είναι η κλασική εξαρτημένη μάθηση του φόβου (classical fear conditioning). Η θεωρία της κλασικής εξαρτημένης μάθησης διατυπώθηκε το 1927 από τον Ivan Pavlov, μέσω πειραμάτων που έκανε σε σκύλους (Κωσταρίδου-Ευκλείδη, 2011). Το μοντέλο της κλασικής εξαρτημένης μάθησης του φόβου βασίζεται στην επανειλημμένη παρουσία ενός προηγουμένως ουδέτερου εξαρτημένου ερεθίσματος (conditioned stimulus, CS) μαζί με ένα αποκρουστικό μη εξαρτημένο ερέθισμα (unconditioned stimulus, US). Μετά από επανειλημμένες ταυτόχρονες εμφανίσεις των δύο ερεθισμάτων, το εξαρτημένο ερέθισμα αποκτά τη δυνατότητα να προκαλέσει φοβική ανταπόκριση, χωρίς την παρουσία του μη εξαρτημένου ερεθίσματος (Shin & Liberzon, 2010). Αρκετές θεωρήσεις, για τη διαμόρφωση των διαταραχών άγχους, υποστηρίζουν ότι η ανάπτυξη της παθολογικής ανησυχίας σχετίζεται με την κλασική εξαρτημένη μάθηση, κάτι που επικυρώνεται, μεταξύ άλλων, από την αποτελεσματικότητα της θεραπείας έκθεσης στις αγχώδεις διαταραχές και από τα αυξημένα ποσοστά παθολογικού άγχους σε επιζώντες πολέμου (Lissek et al., 2005). Το εν λόγω συμπεριφορικό έργο έχει διευκολύνει, σε μεγάλο βαθμό, τη μελέτη των εγκεφαλικών δικτύων, που σχετίζονται με το φόβο.

Σύμφωνα με το ισχύον μοντέλο για την εξαρτημένη μάθηση του φόβου, οι πληροφορίες από ένα ακουστικό εξαρτημένο ερέθισμα μεταφέρονται μέσω του θαλάμου και των αντίστοιχων ακουστικών περιοχών του φλοιού στον έξω πυρήνα της αμυγδαλής. Αντίστοιχα, πληροφορίες του μη εξαρτημένου ερεθίσματος μεταφέρονται μέσω μίας νευρωνικής οδού, η οποία εικάζεται ότι περιλαμβάνει την περιυδραγωγό φαιά ουσία, τον θάλαμο και τη πρόσθια μοίρα της έλικας του προσαγωγίου, στον έξω

πυρήνα της αμυγδαλής. Οι νευρώνες της αμυγδαλής, που λαμβάνουν τις συγκλίνουσες πληροφορίες του εξαρτημένου και του μη εξαρτημένου ερεθίσματος, υποβάλλονται σε συνειρμική συναπτική πλαστικότητα (associative synaptic plasticity) κατά τη διάρκεια της μάθησης. Ο έξω πυρήνας της αμυγδαλής συνδέεται άμεσα και έμμεσα με τον έξω κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής, ο οποίος λαμβάνει πληροφορίες από τον βασικό και τον έξω κεντρικό πυρήνα και προβάλλει νευρώνες σε περιοχές, όπως η περιυδραγωγός φαιά ουσία, ο έξω υποθάλαμος και ο παρακοιλιακός πυρήνας του υποθαλάμου, οι οποίες εμπλέκονται στην έκφραση των κλινικών αποκρίσεων του φόβου, όπως η διέγερση του αυτόνομου νευρικού συστήματος και οι ορμονικές αποκρίσεις (Johansen, Wolff, Lüthi & LeDoux, 2012). Όπως φαίνεται, λοιπόν, η αμυγδαλή και, κυρίως, ο έξω πυρήνας της αποτελεί μία κρίσιμη περιοχή για την κλασσική εξαρτημένη μάθηση του φόβου, καθώς η σύγκλιση των συναπτικών εισροών για το εξαρτημένο και το μη εξαρτημένο ερέθισμα οδηγεί στη ενδυνάμωση των συνάψεων, που μεταδίδουν πληροφορίες σχετικά με το εξαρτημένο ερέθισμα στον έξω πυρήνα (Dunarci & Pare, 2014). Επιπροσθέτως, μελέτες δείχνουν ότι βλάβες στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής φαίνεται να εμποδίζουν τελείως την εξαρτημένη μάθηση του φόβου, ενώ η ηλεκτρική διέγερσή του αυξάνει τον τρόμο, που συνοδεύει ένα αιφνίδιο ακουστικό ερέθισμα (Brenmer & Charney, 2010).

### **Εγκεφαλικές Περιοχές και Νευρωνικά Κυκλώματα**

**Αμυγδαλή.** Η αμυγδαλή (Amygdala) είναι μία ομάδα νευρώνων, που βρίσκονται στο βάθος του κροταφικού λοβού και συνδέονται με τον θάλαμο, τον υποθάλαμο και τον ιπποκάμπειο σχηματισμό (Kandel, Schwartz & Jessell, 2009). Ονομάστηκε και περιγράφηκε, για πρώτη φορά, στις αρχές του 19ου αιώνα, από τον

Γερμανό φυσιολόγο Karl Friedrich Burdach (Παπαθεωδορόπουλος, 2015). Ανήκει στο μεταίχμιακό σύστημα (Limbic system) και περιέχει γλουταμινεργικούς ακανθώδεις (spiny) πυραμιδικούς και αστεροειδείς (stellate) προβολικούς νευρώνες, καθώς και μη πυραμιδικούς GABA διάμεσους νευρώνες (interneurons) (Yilmazer-Hanke, 2012). Υποδιαιρείται, χονδρικά, στους έσω φλοιϊκούς πυρήνες (Corticomedial nuclei), τους βασικούς και έξω αμυγδαλικούς πυρήνες (Basolateral nuclei, BLA) και τον κεντρικό πυρήνα (Central nucleus, CE) (Felten & Shetty, 2010). Ένας ακόμα διαχωρισμός των πυρήνων της αμυγδαλής σε πρωτεύοντα όντα, βάσει της ιστολογικής ταυτότητας των εκάστοτε νευρώνων, αναγνωρίζει τον έξω (Lateral nucleus, LA), το βασικό (Basal nucleus, B), τον επικουρικό βασικό (Accessory basal nucleus, AB) και τον παραπεταλοειδή πυρήνα (Paralamina nucleus) ως πυρήνες στις βαθύτερες περιοχές της δομής (Deep nuclei), ενώ στη μέση της αμυγδαλής βρίσκονται οι επιφανειακοί πυρήνες (Superficial nuclei), οι οποίοι περιλαμβάνουν τον πρόσθιο φλοιϊκό πυρήνα (Anterior cortical nucleus, CoA), τον οπίσθιο φλοιϊκό πυρήνα (Posterior cortical nucleus, CoP), τον περιαμυγδαλοειδή φλοιό (Periamygdaloid cortex, PAC), τον πυρήνα της έξω οσφρητικής οδού (Nucleus of the lateral olfactory tract, NLOT), τον έσω πυρήνα (Medial nucleus, M) και τον κεντρικό πυρήνα (Central nucleus, CE) (Kelly & Stefanacci, 2009). Ο εν λόγω διαχωρισμός περιλαμβάνει, επιπρόσθετα, την πρόσθια αμυγδαλοειδή περιοχή (Anterior amygdaloid area), την περιοχή αμυγδαλής-ιπποκάμπου (Amygdala-hippocampal area, AHA) και εμβόλιμους πυρήνες (Intercalated nuclei, IC).

Η αμυγδαλή λαμβάνει αισθητηριακές πληροφορίες όλων των ειδών, δηλαδή οσφρητικές, σωματοαισθητικές, γευστικές και σπλαχνικές, ακουστικές και οπτικές πληροφορίες (Sah, Faber, Lopez de Armentia & Power, 2003). Είναι γενικώς αποδεκτό ότι οι αισθητηριακές πληροφορίες εισέρχονται στην αμυγδαλή μέσω των



BLA πυρήνων, οι οποίοι συνδέονται με τον κεντρικό πυρήνα, που θεωρείται ότι αποτελεί την κύρια δομή εξόδου της αμυγδαλής, καθώς προβάλλει σε διάφορα αυτόνομα και σωματοκινητικά κέντρα (όπως ο υποθάλαμος και η περιυδραγωγός φαιά ουσία), τα οποία, με τη σειρά τους, εμπλέκονται στην εμφάνιση συγκεκριμένων συναισθηματικών αποκρίσεων, συμπεριλαμβανομένου και του φόβου (Kim & Jung, 2006). Η αμυγδαλή έχει ονομαστεί “αισθητηριακή πύλη στα συναισθήματα” (“sensory gateway to the emotions”), καθώς θεωρείται ότι αποτελεί ένα συνδετικό κρίκο μεταξύ εγκεφαλικών περιοχών, που επεξεργάζονται αισθητηριακές πληροφορίες (όπως ο εγκεφαλικός φλοιός και ο θάλαμος), και περιοχών, που είναι υπεύθυνες για την πρόκληση συναισθηματικών και κινητήριων αποκρίσεων (όπως ο υποθάλαμος, το εγκεφαλικό στέλεχος και το ραβδωτό σώμα) (McDonald, 2009).

Οι έρευνες της οπτογενετικής έχουν εστιάσει στο ρόλο, που παίζει η αμυγδαλή, στην ανάπτυξη του φόβου. Η εργασία του Johansen και των συνεργατών του (2010) καταδεικνύει το ρόλο των γλουταμινεργικών πυραμιδικών και GABA νευρώνων του έξω πυρήνα της αμυγδαλής στην εξαρτημένη μάθηση του φόβου. Μέσω της έγχυσης αδενοϊού, επετεύχθη η έκφραση μίας συντηγμένης διαυλοροδοψίνης με κίτρινη φθορίζουσα πρωτεΐνη, και, σε συνδυασμό με τη χρήση του πρωτοκόλλου της κλασσικής εξαρτημένης μάθησης του φόβου, έφτασαν στο συμπέρασμα ότι, όταν η οπτογενετική ενεργοποίηση των πυραμιδικών νευρώνων του έξω πυρήνα συνδυαστεί με ένα ακουστικό ερέθισμα, προκαλεί ενεργοποίηση του φόβου, χωρίς την παρουσία ενός ανεξάρτητου ερεθίσματος (π.χ. ένα μικρό ηλεκτροσόκ). Με λίγα λόγια, η φωτοδιέγερση των LA πυρήνων είναι αρκετή για να προκαλέσει φόβο και οποιοδήποτε ερέθισμα συνδυαστεί με αυτή τη διέγερση, μπορεί να προκαλέσει φοβική αντίδραση. Η Tye και η ομάδα της (2011) παρατήρησαν ότι η χρονικά ακριβής οπτογενετική διέγερση στα τερματικά των νευρώνων των BLA πυρήνων της

αμυγδαλής, με τη χρήση της διαυλοροδοψίνης, απέδωσε ένα οξύ και αναστρέψιμο αγχολυτικό αποτέλεσμα, ενώ η επιλεκτική οπτογενετική αναστολή, με τη χρήση αλοροδοψίνης, οδήγησε σε αύξηση των αγχωδών συμπεριφορών.

Το 2013, η ομάδα της Huff διερεύνησε αν η οπτογενετική διέγερση και αναστολή της δράσης των BLA πυρήνων, αμέσως μετά την εκπαίδευση, κατά τη μάθηση αποφυγής, ενισχύει ή παρεμποδίζει, αντίστοιχα, την παγίωση της αντίστοιχης φοβικής συμπεριφοράς. Με τη χρήση της ChETA εκδοχής της διαυλοροδοψίνης και αρχαιοροδοψίνης, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η επιλεκτική ενεργοποίηση γλουταμινεργικών κυττάρων της περιοχής, αμέσως μετά την εκπαίδευση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο και τη ρύθμιση της παγίωσης της μνήμης (Huff, Miller, Deisseroth, Moorman & LaLumiere, 2013).

Ο Wolff και οι συνεργάτες του (2014), μελέτησαν, επίσης, κυκλώματα νευρώνων μέσα στο βασικό και έξω πυρήνα της αμυγδαλής και, συγκεκριμένα, τους διάμεσους νευρώνες παρβαλβουμίνης (Parvalbumin, PV) και διάμεσους νευρώνες σωματοστατίνης (somatostatin, SOM). Η παρβαλβουμίνη ανήκει στην κατηγορία πρωτεϊνών δέσμευσης ασβεστίου, οι οποίες εμπλέκονται σε μια ευρεία ποικιλία φυσιολογικών διεργασιών, όπως η κυτταρική σηματοδότηση, η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η συστολή των μυών και η όραση (Cates, Teodoro & Phillips, Jr., 2002) ενώ η σωματοστατίνη είναι μία ορμόνη αναστέλλει την έκκριση της αυξητικής ορμόνης αλλά ενεργεί και ως νευροδιαβιβαστής ή νευροδιαμορφωτής ενώ παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της νευρωνικής δραστηριότητας και συμμετέχει στη συναπτική πλαστικότητα και τη δημιουργία μνημών (Liguz-Leczna, Urban-Ciecko & Kossut, 2016). Ο Wolff έδειξε ότι η ενεργοποίηση, με τη χρήση ChR2, των PV νευρώνων κατά τη μάθηση εξάρτησης του φόβου σε τρωκτικά είχε ως αποτέλεσμα την εξασθένηση της εξάρτησης, κάτι που φάνηκε από τεστ ανάκλησης

της φοβικής μνήμης, την επόμενη μέρα, ενώ η αναστολή των νευρώνων, μέσω αρχαιοροδοψίνης, οδήγησε σε αυξημένα επίπεδα εμφάνισης φοβικών αντιδράσεων, κατά την ανάκληση της μνήμης του φοβικού ερεθίσματος. Μέσω μίας σειράς ανατομικών μελετών, οι συγγραφείς υποθέτουν την ύπαρξη ενός πολυσυναπτικού ανασταλτικού κυκλώματος, στο οποίο, κατά τη διάρκεια της παρουσίας του εξαρτημένου ερεθίσματος, οι PV νευρώνες αυξάνουν τη δραστηριότητά τους και, συγχρόνως, αναστέλλουν τη δραστηριότητα των SOM νευρώνων, κάτι που επηρεάζει την προώθηση σχετικών ερεθισμάτων σε φλοιϊκές περιοχές.

Το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στρέφεται, επίσης, γύρω από τον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής και τον ρόλο του στην εξαρτημένη μάθηση του φόβου. Ο CE πυρήνας θεωρείται ότι ελέγχει την έκφραση της απόκρισης στο εξαρτημένο ερέθισμα και διαιρείται σε δύο δευτερεύοντες πυρήνες, την έξω περιοχή του CE (CEI) και την έσω περιοχή του CE (CEm) (Touriño, Eban-Rothschild & de Lecea, 2013). Η CEI περιοχή περιέχει ανασταλτικούς GABA νευρώνες, δέχεται άμεσες προβολές από την έξω αμυγδαλή και προβάλλει στη CEm περιοχή, η οποία, με τη σειρά της, προβάλλει σε περιοχές έξω από την αμυγδαλή. Έρευνα του Cioocchi (2010) σε ελευθέρως κινούμενα ζώα, έδειξε ότι η αμφίπλευρη οπτική ενεργοποίηση της περιοχής CEm, με Chr2, προκάλεσε ισχυρές και αναστρέψιμες φοβικές αντιδράσεις. Επίσης, έδειξε ότι η αναστολή της λειτουργίας της CEI περιοχής, κατά τη διάρκεια της μάθησης για την εξάρτηση του φόβου, παρεμβαίνει στη διαδικασία της μάθησης. Ο Cioocchi, καθώς και ο Haubensak με την ομάδα του (2010), μελέτησαν δύο νευρωνικούς πληθυσμούς στη CEI περιοχή της αμυγδαλής και βρήκαν ότι παρουσιάζουν αντίθετη δραστηριότητα, κατά την παρουσίαση εξαρτημένου ερεθίσματος. Συγκεκριμένα, βρήκαν νευρώνες που ενεργοποιούνται με την παρουσία του εξαρτημένου ερεθίσματος (CEI “on” neurons) και νευρώνες που

απενεργοποιούνται με την παρουσία του (CEI “off” neurons). Εξερευνώντας περαιτέρω το εν λόγω κύκλωμα, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι CEI “on” νευρώνες ρυθμίζουν τη δραστηριότητα των CEI “off” νευρώνων, οι οποίοι, με τη σειρά τους, διαμορφώνουν τη δραστηριότητα, τόσο των CEI “on” νευρώνων όσο και των νευρώνων στη CEm περιοχή. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι η παρουσία ενός εξαρτημένου ερεθίσματος ενεργοποιεί τους CEI “on” νευρώνες, οι οποίοι απενεργοποιούν τους CEI “off” νευρώνες, γεγονός που οδηγεί στην καταστολή της λειτουργίας της περιοχής CEm και προκαλεί φοβική αντίδραση. Επομένως, περιέγραψαν ένα ανασταλτικό κύκλωμα στη CEI περιοχή της αμυγδαλής, που προβάλλει στη CEm περιοχή και ελέγχει την αντίδραση σε φοβικό εξαρτημένο ερέθισμα.

**Αμυγδαλή και παραβραχιόνιος πυρήνας.** Ο παραβραχιόνιος πυρήνας (parabrachial nucleus, PB), ένα τμήμα του εγκεφαλικού στελέχους, που παίζει σημαντικό ρόλο στα σπλαχνικές αισθητήριες οδούς της γέφυρας (Pons) και εμπλέκεται σε διαδικασίες κατάποσης, στη διέγερση, στα συναισθήματα και σε λειτουργίες του αυτόνομου νευρικού συστήματος (Binder, Hirokawa & Windhorts, 2009). Ανατομικές και λειτουργικές μελέτες έχουν δείξει ότι ο παραβραχιόνιος πυρήνας συνδέεται στενά με τον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής και εμπλέκεται στο συναίσθημα του πόνου και στη μνήμη απειλών, καθώς η ενεργοποίηση των προβολικών PB νευρώνων στον CE πυρήνα της αμυγδαλής προκαλεί την εμφάνιση αμυντικών συμπεριφορών. Βάσει αυτών των δεδομένων, οι Cai, Wang, Paulucci-Holthauzen και Pan (2018) εξέτασαν το εν λόγω κύκλωμα και βρήκαν ότι η ενεργοποίηση των προβολών, μέσω Chr2, κατά τη δοκιμασία ανοιχτού πεδίου (Open Field Test, OFT), επέφερε αύξηση της αγχώδους συμπεριφοράς, δείχνοντας ότι η οξεία οπτική ενεργοποίηση των διεγερτικών PB-CE νευρώνων είναι επαρκής ώστε να

προκαλέσει την εμφάνιση χαρακτηριστικών άγχους σε τρωκτικά. Επίσης, η οπτική διέγερση του κυκλώματος είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση καταθλιπτικών συμπεριφορικών χαρακτηριστικών, κατά τη διάρκεια αντίστοιχων δοκιμασιών.

**Αμυγδαλή και προμετωπιαίος φλοιός.** Ο ρόλος της αμυγδαλής στην εξαρτημένη μάθηση του φόβου εξετάζεται, με τη βοήθεια της οπτογενετικής, και λόγω των συνδέσεων που παρουσιάζει με τον προμετωπιαίο φλοιό (Prefrontal cortex, PFC). Ο έσω προμετωπιαίος φλοιός (medial PFC, mPFC) έχει σχετιστεί με ανώτερες γνωστικές λειτουργίες όπως η λήψη αποφάσεων, η ανίχνευση σφαλμάτων, ο εκτελεστικός έλεγχος, η ανάκληση από τη μακροχρόνια μνήμη και η παγίωση μνημών (Euston, Gruber & McNaughton, 2012). Ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι ο βασικός και έξω πυρήνας της αμυγδαλής, σε συνδυασμό με τον έσω προμετωπιαίο φλοιό, ρυθμίζουν το άγχος και τις κοινωνικές συμπεριφορές, γι'αυτό το λόγο η Felix-Ortiz και οι συνεργάτες της (2016) μελέτησαν τις άμεσες προβολές από τη BLA περιοχή στο mPFC και το ρόλο που διαδραματίζουν σε αυτές τις συμπεριφορές. Η ενεργοποίηση των προβολών, με τη χρήση ChR2, κατά τη δοκιμασία ανυψωμένου λαβύρινθου σε σχήμα σταυρού (elevated-plus maze) και τη δοκιμασία ανοιχτού πεδίου (open-field test) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του άγχους στα τρωκτικά αλλά και μειωμένη κοινωνική δραστηριότητα. Αντιθέτως, η αναστολή των προβολών, με τη χρήση αλοροδοψίνης, προκάλεσε μείωση της αγχώδους συμπεριφοράς και αύξηση της κοινωνικής αλληλεπίδρασης με άγνωστα τρωκτικά.

Ο έσω κοιλιακός προμετωπιαίος φλοιός (ventromedial PFC, vmPCF) είναι μια περιοχή εγκεφάλου, που εντοπίζεται στις κοιλιακές και έσω επιφάνειες του προμετωπιαίου λοβού. Μελέτες βλάβης και λειτουργικής απεικόνισης έχουν τονίσει τον κρίσιμο ρόλο του vmPFC σε πολύτιμες ανθρώπινες διεργασίες, όπως η λήψη

αποφάσεων, η ρύθμιση συναισθημάτων και η ηθική κρίση ενώ δυσλειτουργίες του vmPFC φαίνεται να εμπλέκονται σε ορισμένες ψυχιατρικές διαταραχές, συγκεκριμένα σε αναπτυξιακές ψυχικές διαταραχές, σε διαταραχές συμπεριφοράς, στην αντικοινωνική διαταραχή προσωπικότητας και σε διαταραχές της διάθεσης (Boes et al., 2011). Ο Adhikari και οι συνεργάτες του (2015) μελέτησαν τη σύνδεση του vmPFC με τους βασικούς και έσω πυρήνες της αμυγδαλής (Basomedial amygdala, BMA), σε συνθήκες εξαρτημένης μάθησης του φόβου, καθώς η BMA περιοχή αποτελεί τον κύριο στόχο προβολών του vmPFC στην αμυγδαλή, σε τρωκτικά. Με τη χρήση Chr2 και eNrHR3.0, προσδιόρισαν τη BMA ως τον άμεσο στόχο του vmPFC, που καταστέλλει συμπεριφορές σχετικές με το φόβο, μέσω της αναστολής της δραστηριότητας της με οπτογενετικές μεθόδους, ταυτοποιώντας την εν λόγω νευρωνική οδό ως επαρκή και απαραίτητη για την αγχολυσία.

Στον έσω κοιλιακό προμετωπιαίο φλοιό υπάγονται ο προμεταιχμικός φλοιός (Prelimbic cortex, PLC), ο υπομεταιχμικός φλοιός (Infralimbic cortex, ILC) και ο έξω σκελιαίος φλοιός (Dorsal peduncular cortex, DPC), βάσει λειτουργικών κριτηρίων και συνδεσιμότητας με άλλες περιοχές του εγκεφάλου (Riga et al., 2014). Ορισμένες ομάδες χρησιμοποίησαν οπτογενετικά εργαλεία, για να επιβεβαιώσουν το ρόλο των προβολών από τις PL και IL περιοχές στην αμυγδαλή, σχετικά με φοβικές καταστάσεις, καθώς δεδομένα υποστηρίζουν ότι ο PL φλοιός συμμετέχει στην έκφραση του φόβου, μετά την κλασσική εξαρτημένη μάθηση του φόβου, ενώ ο IL φλοιός εμπλέκεται στην εξαφάνιση του φόβου για ένα συγκεκριμένο ερέθισμα (McCullough, Morisson & Ressler, 2016). Οι Ji και Neugebauer (2012), με τη χρήση τεχνικών οπτογενετικής, έδειξαν την αντίστροφη αλληλεπίδραση των PL και IL περιοχών. Παρατήρησαν ότι ο IL φλοιός διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην εξαφάνιση του φόβου, πιθανότατα μέσω άμεσων διεγερτικών προβολών σε ένα σύμπλεγμα

ανασταλτικών νευρώνων, που παρεμβάλλονται μεταξύ των περιοχών εισόδου και εξόδου της αμυγδαλής, αφού η διέγερση της IL περιοχής προκαλεί αναστολή της δραστηριότητας των νευρώνων εξόδου της αμυγδαλής και η αυξημένη δραστηριότητα της IL συσχετίζεται με την επιτυχή εξαφάνιση του φόβου. Αντιθέτως, αναφέρουν ότι η PL περιοχή συμμετέχει στην έκφραση του φόβου, καθώς η διέγερση του PL φλοιού οδηγεί σε φοβικές καταστάσεις και σε αυξημένη ενεργοποίηση των νευρώνων εισαγωγής της αμυγδαλής. Η Senn (2014) και οι συνεργάτες της, εξερευνώντας τα νευρωνικά δίκτυα για την απόσβεση του φόβου μέσω οπτογενετικών τεχνικών, διαπίστωσαν ότι οι νευρώνες της BLA περιοχής, που προβάλλουν στο IL φλοιό, ενεργοποιούνται από ερεθίσματα που έχουν υποστεί απόσβεση, ενώ οι νευρώνες BLA που προβάλλουν στη PL περιοχή ενεργοποιούνται από φοβικά ερεθίσματα που δεν έχουν υποστεί απόσβεση. Έδειξαν ότι η οπτογενετική αναστολή των προβολικών στο IL φλοιό νευρώνων εξασθενεί την απόσβεση της μάθησης φόβου, ενώ η αναστολή των προβολικών στο PL φλοιό νευρώνων έχει ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της απόσβεσης του μαθημένου φόβου.

**Αμυγδαλή και υποθάλαμος.** Ο υποθάλαμος είναι μία μικρή περιοχή στον πρόσθιο εγκέφαλο. Διαδραματίζει ζωτικό ρόλο στην οργάνωση μιας σειράς αυτόνομων λειτουργιών και στην έκφραση σχετικών σπλαχνικών συμπεριφορικών διεργασιών. Εμπλέκεται στην ενδοκρινική λειτουργία, στη ρύθμιση της θερμοκρασίας, στον έλεγχο της πείνας, της δίψας και της σεξουαλικής συμπεριφοράς, ενώ νευρωνικοί πληθυσμοί του υποθαλάμου συμβάλλουν στη ρύθμιση της επιθετικότητας, της οργής και των συμπεριφορών φυγής (Siegel & Sapru, 2011). Ο υποθάλαμος, και ειδικά παρακοιλιακός πυρήνας του υποθαλάμου (Paraventricular nucleus, PVN), περιέχει νευροενδοκρινείς νευρώνες, που ελέγχουν την απελευθέρωση ορμονών, όπως η ωκυτοκίνη (Oxytocin, OT) (Piñol, Jameson,

Porratiloff, Lee & Mendelowitz, 2014). Η ωκυτοκίνη είναι ένα νευροπεπτίδιο, γνωστό για την επίδραση, που έχει, στην κοινωνική συμπεριφορά. Ωστόσο, έρευνες έχουν δείξει ότι εμπλέκεται στην έκφραση του φόβου και στην εμφάνιση αγχώδων διαταραχών, όπως η γενικευμένη αγχώδης διαταραχή (Bethlehem, van Honk, Auyeung & Baron-Cohen, 2013). Η Knobloch και οι συνεργάτες της (2012) βρήκαν νευράξονες υποθαλαμικών νευρώνων OT στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής, ο οποίος, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, εμπλέκεται στην καταστολή φόβου. Η ενεργοποίηση των εν λόγω OT νευρώνων, μέσω χρήσης Chr2, ενεργοποίησε ένα τοπικό κύκλωμα GABA νευρώνων, που ανέστειλε τους νευρώνες στην περιοχή εξόδου της CE περιοχής. Επιπροσθέτως, η ενεργοποίηση των OT νευρώνων έδειξε μειωμένη απόκριση φόβου των τρωκτικών, σε αγχογενή κατάσταση. Φαίνεται, λοιπόν, ότι οι OT νευρώνες, που προβάλλονται στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής, παίζουν ρόλο στη δραστηριότητα της περιοχής, και, κατά συνέπεια, στην αντίδραση σε φοβικά ερεθίσματα.

#### **Παρακοιλιακός πυρήνας του υποθαλάμου και υπομέλανας τόπος. Ο**

υπομέλανας τόπος (Locus Coeruleus, LC) είναι μία περιοχή στη γέφυρα, η οποία φαίνεται να συμμετέχει στη ρύθμιση της προσοχής, στη διέγερση, στον κύκλο ύπνου-αφύπνισης καθώς και στη μάθηση και τη μνήμη, στο άγχος και τον πόνο, στη διάθεση και στον μεταβολισμό του εγκεφάλου (Bear, Connors & Paradiso, 2016). Ο υπομέλανας τόπος και ο παρακοιλιακός πυρήνας του υποθαλάμου είναι δύο περιοχές που περιλαμβάνουν έναν μεγάλο πληθυσμό νευρώνων ορεξίνης/υποκρετίνης (orexin/hypocretin). Οι υποκρετίνες είναι δύο εκκρινόμενα νευροπεπτίδια (Hcrt1, Hcrt2) και παίζουν θεμελιώδη ρόλο στην αφύπνιση και την διέγερση. Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι συμβάλουν σε καταστάσεις όπως το άγχος, οι ψυχαναγκαστικές συμπεριφορές και η αναζήτηση ανταμοιβής (Giardino & de Lecea, 2014). Ο



Heydendael και οι συνεργάτες του (2014) μελέτησαν τους νευρώνες υποκρετίνης στις εν λόγω περιοχές και έδειξαν ότι η οπτογενετική διέγερση των Hcrt νευρώνων, που σχεδιάστηκαν ώστε να εκφράζουν ChR2, κατά τη διάρκεια δοκιμής κοινωνικής αλληλεπίδρασης, η οποία χρησιμοποιείται συχνά ως μέτρηση αγχώδους συμπεριφοράς, μείωσε σημαντικά τον χρόνο που τα τρωκτικά αφιέρωσαν στην αλληλεπίδραση. Το δεδομένο αυτό υποδεικνύει ότι η διέγερση του συστήματος της ορεξίνης οδηγεί σε εμφάνιση αγχώδους συμπεριφοράς.

**Ιππόκαμπος.** Ο σχηματισμός του ιππόκαμπου (Hippocampus) είναι μια μακροσκοπικά καθορισμένη φλοιώδης δομή, που βρίσκεται στην πλευρική κοιλία του έσω κροταφικού λοβού. Εναλλακτικά, αναφέρεται ως το Αμμώνιο Κέρας (Cornus Ammonis, CA). Είναι στενά συνδεδεμένος με έναν περιορισμένο αριθμό φλοιϊκών περιοχών, και, λειτουργικά, αποτελεί ένα βασικό συστατικό του συστήματος μνήμης, ειδικά για τη συνειδητή ή δηλωτική μνήμη (Witter, 2009). Ο ιπποκάμπος σχηματισμός περιλαμβάνει το υπόθεμα (Subiculum), το κύριο σώμα (Proper Hippocampus) και την οδοντωτή έλικα (Dentate Gyrus, DG), και, για ερευνητικούς σκοπούς, διαιρείται σε 4 τμήματα (CA1, CA2, CA3, CA4) (FitzGerald, Gruener & Mtui, 2011).

Το 2012, ο Liu και οι συνεργάτες του, στην προσπάθειά τους να μάθουν εάν είναι δυνατόν να προκληθεί μία συμπεριφορά, η οποία σχετίζεται με μια συγκεκριμένη μνήμη, μέσω άμεσης ενεργοποίησης ενός πληθυσμού νευρώνων, που φαίνεται να ενεργοποιείται κατά τη διάρκεια της μάθησης, ανακάλυψαν ότι όταν νευρώνες του ιππόκαμπου, που ενεργοποιήθηκαν κατά την εξαρτημένη μάθηση του φόβου, επανενεργοποιηθούν, παρατηρείται φοβική αντίδραση (freezing). Συγκεκριμένα, όταν νευρώνες της οδοντωτής έλικας του ιππόκαμπου, που αρχικά ενεργοποιήθηκαν οπτογενετικά, με τη χρήση διαυλοροδοψίνης, με ταυτόχρονη εξαρτημένη μάθηση του

φόβου, επανενεργοποιήθηκαν οπτικά, σε διαφορετικό πλαίσιο, παρουσιάστηκε φοβική αντίδραση, υποδηλώνοντας ότι η εν λόγω περιοχή ευθύνεται για την ανάκληση φοβικών μνημών. Το εν λόγω πείραμα αποτέλεσε την πρώτη επίδειξη άμεσης ενεργοποίησης κυττάρων που εμπλέκονται στο σχηματισμό μιας μνήμης και έδειξε ότι η οπτική ενεργοποίηση είναι αρκετή για να προκαλέσει συμπεριφορική έκφραση αυτής της μνήμης.

Ένα χρόνο μετά, ο Kheirbek και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι τα κοκκοειδή κύτταρα (Granule cells, GCs) στο ραχιοκοιλιακό άξονα του ιππόκαμπου έχουν τη δυνατότητα να ελέγξουν χαρακτηριστικά του άγχους και εμπλέκονται στην ανάλογη με το πλαίσιο μάθηση (contextual learning). Με την εφαρμογή ChR2 και eNpHR3.0 στους νευρώνες του ιππόκαμπου, έδειξαν ότι τα κοκκοειδή κύτταρα, στο ραχιαίο τμήμα της οδοντωτής έλικας, μάλλον κωδικοποιούν παρά ανασύρουν φοβικές αναμνήσεις, που βασίζονται στην ανάλογη με το πλαίσιο μάθηση και στη χωρική μάθηση. Επίσης, διαπίστωσαν ότι η ενεργοποίηση κοκκοειδών κυττάρων, στο κοιλιακό τμήμα της οδοντωτής έλικας, έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή του άγχους. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης μπορεί να έχουν σημαντικές επιπτώσεις για ψυχικές διαταραχές, όπως το PTSD, στο οποίο παρουσιάζεται αδυναμία του ατόμου να τοποθετήσει το τραυματικό συμβάν στο αντίστοιχο πλαίσιο, με αποτέλεσμα την γενίκευση του άγχους, που συνοδεύει το εν λόγω συμβάν (Fournier & Duman, 2013).

**Ιππόκαμπος και αμυγδαλή.** Σύμφωνα με νευροεπιστημονικά δεδομένα, που προέρχονται από έρευνες εγκεφαλικών βλαβών και μελέτες τοπικής έγχυσης φαρμάκων, το κοιλιακό τμήμα του ιππόκαμπου (ventral Hippocampus, vHPC) φαίνεται να εμπλέκεται στην εμφάνιση αγχώδους συμπεριφοράς (Adhikari, Topiwala & Gordon, 2010). Η Felix-Ortiz και η ομάδα της (2013) μελέτησαν τη δυναμική των

συνδέσεων της vHPC περιοχής με το βασικό και έξω πυρήνα της αμυγδαλής. Μέσω μίας σειράς πειραμάτων με τη χρήση τεστ αξιολόγησης άγχους (elevated-plus maze και open-field test), οι ερευνητές βρήκαν ότι η οπτογενετική αναστολή, μέσω eNpHR3.0, των BLA προβολών στον κοιλιακό ιππόκαμπο μείωσε την εμφάνιση συμπεριφορών, που σχετίζονται με το άγχος, καθώς τα τρωκτικά έδειξαν αυξημένη διάθεση για εξερεύνηση. Αντιθέτως, η ενεργοποίηση των BLA προβολών στον κοιλιακό ιππόκαμπο, μέσω ChR2, είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση αγχώδους συμπεριφοράς, καθώς τα τρωκτικά έδειξαν μειωμένη διάθεση για εξερεύνηση. Είναι ήδη γνωστό ότι ο βασικός και έξω πυρήνας της αμυγδαλής εμπλέκεται σημαντικά στη ρύθμιση του άγχους, ωστόσο η έρευνα δείχνει ότι ξεχωριστοί νευρωνικοί προβολικοί πληθυσμοί της εν λόγω περιοχής παίζουν καθοριστικό ρόλο στην εμφάνιση χαρακτηριστικών του άγχους και ότι ο χειρισμός των BLA-vHPC συνδέσεων μπορεί να επηρεάσει την αγχώδη συμπεριφορά.

Η Felix-Ortiz και η Tye (2014) μελέτησαν το ρόλο του κυκλώματος των BLA και vHPC περιοχών στην κοινωνική αλληλεπίδραση, καθώς η δυσλειτουργία στην κοινωνική αλληλεπίδραση, η οποία έχει συνδεθεί ερευνητικά με την αμυγδαλή, αποτελεί ένα βασικό σύμπτωμα πολλών καταστάσεων ψυχοπαθολογίας, όπως ο αυτισμός, η σχιζοφρένεια, η κατάθλιψη και το άγχος. Βρέθηκε ότι η οπτογενετική αναστολή, μέσω eNpHR3.0, των BLA προβολών στη vHPC περιοχή αύξησε την κοινωνική αλληλεπίδραση των τρωκτικών, καθώς έδειξαν αυξημένη διάθεση εξέτασης άγνωστων τρωκτικών, με τα οποία τοποθετούνταν τα πειραματικά τρωκτικά. Αντιθέτως, η ενεργοποίηση των BLA προβολών στον κοιλιακό ιππόκαμπο, μέσω ChR2, είχε ως αποτέλεσμα τη μειωμένη διάθεση για εξέταση του άγνωστου τρωκτικού, γεγονός που αντανακλά μειωμένη διάθεση για κοινωνική αλληλεπίδραση. Η εν λόγω έρευνα θα μπορούσε να δώσει ιδέες για μελλοντικές θεραπευτικές

παρεμβάσεις, όσον αφορά τα κοινωνικά ελλείμματα που παρουσιάζονται στις ψυχικές διαταραχές γενικά, και, ειδικότερα, σε αγχώδεις διαταραχές, όπως η κοινωνική φοβία.

**Ιππόκαμπος και υποθάλαμος.** Πεδίο έρευνας έχουν αποτελέσει οι νευρωνικές προβολές της CA1 περιοχής του κοιλιακού τμήματος του ιππόκαμπου (ventral CA1, vCA1) στον υποθάλαμο, και κυρίως στην πλάγια υποθαλαμική περιοχή (Lateral Hypothalamic Area, LHA), καθώς, παρά τα δεδομένα που υποδεικνύουν ότι και οι δύο περιοχές εμπλέκονται στην εκδήλωση του άγχους, η επίδραση της άμεσης οδού μεταξύ ιππόκαμπου και υποθάλαμου (η vCA1 προβάλλει άμεσα στη LHA περιοχή) στη διαμόρφωση της συμπεριφοράς ήταν άγνωστη. Η Jimenez και οι συνεργάτες της (2018) μελέτησαν εκτενώς το κύκλωμα. Αρχικά, απέδειξαν την ενεργοποίηση των vCA1 νευρώνων σε αγχογόνα περιβάλλοντα, καθώς, με τη χρήση γενετικά κωδικοποιημένων δεικτών ασβεστίου (GCaMP6f), παρατήρησαν αυξημένη δραστηριότητα ασβεστίου στους νευρώνες. Έπειτα, με τη χρήση ArchT, απενεργοποίησαν τους vCA1 νευρώνες, ενώ τα τρωκτικά υποβλήθηκαν σε τεστ αξιολόγησης άγχους, και βρέθηκε ότι μειώθηκε η εκδήλωση άγχους, καθώς τα τρωκτικά είχαν αυξημένη διάθεση εξερεύνησης του περιβάλλοντος. Σε πειράματα για τη μελέτη της κωδικοποίησης του ανάλογου με το πλαίσιο φόβου (contextual fear), η ενεργοποίηση της vCA1-LHA οδού με Chr2 δεν έδειξε μεταβολή στη συμπεριφορά (σε αντίθεση με την ενεργοποίηση της vCA1-BA οδού, κατά την οποία φάνηκε μείωση στην κωδικοποίηση και ανάκληση των φοβικών μνημών). Αντιθέτως, σε πειράματα, όπου τα τρωκτικά υποβλήθηκαν σε τεστ άγχους (open field test), η οπτική ενεργοποίηση επέφερε αποφευκτική συμπεριφορά και έντονη μείωση του ποσοστού εξερεύνησης, ένα αποτέλεσμα που συνεχίστηκε και μετά το πέρας της ενεργοποίησης. Επιπροσθέτως, η αναστολή της δραστηριότητας των νευρώνων της vCA1-LHA οδού έδειξε μείωση της αποφευκτικής συμπεριφοράς.

**Ιππόκαμπος και φλοιός της πρόσθιας μοίρας της έλικας του προσαγωγίου.**

Ο φλοιός της πρόσθιας μοίρας της έλικας του προσαγωγίου (Anterior Cingulate Cortex, ACC) είναι μία περιοχή του εγκεφαλικού φλοιού που βρίσκεται στο έσω τοίχωμα των εγκεφαλικών ημισφαιρίων, ακριβώς πάνω από το μεσολόβιο (Corpus callosum). Η περιοχή διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κινητήρια συμπεριφορά και στην ρύθμιση των συναισθηματικών διεργασιών. Έχει εκτεταμένες συνδέσεις με τον προμετωπιαίο φλοιό, την αμυγδαλή, τον θάλαμο και το ραβδωτό σώμα ενώ λαμβάνει εισροές από τις οδούς του πόνου (Binder, Hirokawa & Windhorts, 2009).

Η εν λόγω περιοχή ερευνήθηκε, με οπτογενετικές τεχνικές, από τη Goshen (2011), για το ρόλο που διαδραματίζει, μαζί με τον ιππόκαμπο, στην ανάκληση φοβικών μνημών. Μέσω λεντιού, επετευχθεί η εισαγωγή μίας συντηγμένης αλοροδοψίνης (eNpHR3.1) με μια βελτιωμένη κίτρινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (Enhanced Yellow Fluorescent Protein, EYFP) σε διεγερτικούς γλουταμινεργικούς νευρώνες της CA1 περιοχής του ιππόκαμπου και η εισαγωγή eNpHR3.0 σε νευρώνες της ACC περιοχής. Η εφαρμογή της οπτογενετικής σε αυτές τις περιοχές, σε τρωκτικά, στα οποία χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο της εξαρτημένης μάθησης του φόβου, έδειξε ότι η αναστολή των CA1 νευρώνων αποτρέπει την απόκτηση και ανάκληση του μαθημένου, ανάλογα με το πλαίσιο, φόβου (contextual fear) ενώ η αναστολή των νευρώνων της ACC περιοχής αναστέλλει την μακροπρόθεσμη αλλά όχι την πρόσφατη, ανάλογα με το πλαίσιο, μνήμη. Το πείραμα εφαρμόστηκε, επίσης, και στους οσφρητικούς βολβούς (Olfactory bulbs) των τρωκτικών και δε βρέθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ της ανάκλησης μνημών και της οπτογενετικής αναστολής τους. Η έρευνα, όπως αναφέρουν και οι συγγραφείς του άρθρου, δείχνει τη δυναμική σχέση των νευρικών κυκλωμάτων και θέτει τα θεμέλια για περαιτέρω μελέτες πάνω στο ρόλο των εν λόγω κυκλωμάτων στις ψυχιατρικές διαταραχές.

**Δίκτυο πυρήνων της τελικής ταινίας.** Το δίκτυο πυρήνων της τελικής ταινίας (Bed Nucleus of Stria Terminalis, BNST) είναι ένα σύμπλεγμα 12 (περίπου) πυρήνων, που βρίσκεται στο άκρο της τελικής ταινίας και αποτελεί μία δέσμη αξόνων που τη συνδέει με την αμυγδαλή. Η BNST περιοχή μπορεί να χωριστεί σε πρόσθιο και οπίσθιο τμήμα, καθένα από τα οποία περιέχει διάφορους πυρήνες, τα οποία μπορούν να ταυτοποιηθούν με βάση το σχέδιο προβολής τους και τη νευροχημική τους ταυτότητα. Η ακριβής λειτουργία της περιοχής δεν έχει γίνει ακόμα κατανοητή, ωστόσο ανατομικές μελέτες υποδεικνύουν ότι αποτελεί ένα κέντρο μεταξύ νευρωνικών κυκλωμάτων, που συντονίζει τη δραστηριότητα των αυτόνομων, νευροενδοκρινών και κινητικών συστημάτων σε πλήρως οργανωμένες φυσιολογικές λειτουργίες και συμπεριφορές, ενώ φαρμακολογικές και νευροψυχολογικές έρευνες υπογραμμίζουν το ρόλο της στη φυσιολογία του φόβου, η πρόσληψη τροφής, στην κοινωνική συμπεριφορά, στον πόνο και σε παθοφυσιολογικές καταστάσεις όπως το άγχος, η ανορεξία και ο εθισμός (Dumont, 2009).

Ο Kim και οι συνεργάτες του (2013) εξέτασαν εκτενώς το ρόλο της BNST περιοχής στην εμφάνιση χαρακτηριστικών άγχους. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν eNpHR3.0 και Chr2 σε BNST νευρώνες ενώ, συγχρόνως, έθεσαν τα πειραματόζωα σε βασικά τεστ αξιολόγησης αγχώδους συμπεριφοράς, όπως το elevated plus maze και το open field test. Η οπτογενετική αναστολή της δραστηριότητας της BNST περιοχής είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση συμπεριφορών, όπως η αυξημένη εξερεύνηση του χώρου, που υποδεικνύει αγχώλυση. Επίσης, μελετήθηκε ο ωοειδής πυρήνας της BNST (oval nucleus of BNST, ovBNST) και βρέθηκε ότι η αναστολή του οδήγησε σε μείωση της αποφευκτικής συμπεριφοράς και αύξηση του αναπνευστικού ρυθμού ενώ η ενεργοποίησή του οδήγησε σε αύξηση του άγχους. Η προσθιοραχιαία περιοχή (anterodorsal BNST, adBNST) δέχεται προβολές από τον

έξω και βασικό πυρήνα της αμυγδαλής και η αναστολή αυτών των προβολών επέφερε συμπεριφορές που συνοδεύουν το άγχος, όπως η αύξηση αποφυγής των ανοιχτών χώρων και ο αυξημένος αναπνευστικός ρυθμός. Αντιθέτως, όταν οι προβολικοί BLA νευρώνες της προσθιοραχιαίας BNST περιοχής ενεργοποιήθηκαν οπτογενετικά, παρουσιάστηκε μείωση της αγχώδους συμπεριφοράς. Οι adBNST νευρώνες, που προβάλλουν στον έξω υποθάλαμο (Lateral Hypothalamus, LH), μελετήθηκαν, βάσει της υπόθεσης ότι μπορεί να δρουν ως διαμεσολαβητές στη μείωση της αγχώδους συμπεριφοράς, και, όντως, η οπτογενετική ενεργοποίησή τους έδειξε μείωση της αποφυγής των ανοιχτών χώρων. Επίσης, μελετήθηκαν οι προβολές της adBNST περιοχής στον παραβραχιόνιο πυρήνα. Στο πείραμα του Kim, ο παραβραχιόνιος πυρήνας εξετάστηκε, λόγω των προβολών που δέχεται από τη adBNST περιοχή, ως ρυθμιστής του αναπνευστικού ρυθμού. Η ενεργοποίηση των προβολών μείωσε τον αναπνευστικό ρυθμό, ακόμα και σε ένα αγχογόνο περιβάλλον. Τέλος, ερευνήθηκαν οι προβολές της adBNST περιοχής στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο (βλ. παρακάτω), των οποίων η οπτική ενεργοποίηση έδειξε θετική εξαρτημένη μάθηση και προτίμηση στο χώρο, χωρίς την παρουσία χαρακτηριστικών άγχους. Η εν λόγω μελέτη παρουσίασε τους πολλαπλούς ρόλους του BNST και των συνδέσεών του στην εμφάνιση άγχους, αλλά και πόσο απαιτητική είναι η έρευνα για την κατανόηση των νευρωνικών κυκλωμάτων, που εμπλέκονται στις αγχώδεις διαταραχές.

**Δίκτυο πυρήνων της τελικής ταινίας και κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο.** Το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο (Ventral Tegmental Area, VTA) είναι μία περιοχή στο μεσεγκέφαλο, η οποία περιλαμβάνει κυρίως ντοπαμινεργικές και γλουταμινεργικές προβολές, καθώς και προβολές GABA νευρώνων σε διάφορες βασικές δομές του πρόσθιου εγκεφάλου, όπως δομές της αμυγδαλής και ο κογχομετωπιαίος φλοιός (Binder et al., 2009). Η VTA περιοχή προβάλλει 2 ομάδες ντοπαμινεργικών

νευρώνων στον πρόσθιο εγκέφαλο. Η μία ομάδα, η οποία ονομάζεται μεσοφλοιική (mesocortical), προβάλλει στον προμετωπιαίο φλοιό και η υπερβολικη δραστηριότητα αυτού του συστήματος έχει ερευνηθεί, ώστε να εξηγηθούν ορισμένα κλινικά χαρακτηριστικά της σχιζοφρένειας. Το δεύτερο σύστημα, που ονομάζεται μεσομεταιχμιακό (mesolimbic), προβάλλει σε αρκετούς κεντρικούς πυρήνες, όπως ο επικληνής πυρήνας (accumbens nucleus), που βρίσκεται στο κοιλιακό ραβδωτό σώμα, και η υπερβολική απελευθέρωση ντοπαμίνης στον επικληνή πυρήνα φαίνεται να συνδέεται με διάφορα είδη τοξικομανίας (FitzGerald et al., 2011).

Ο Jennings και οι συνεργάτες του (2013) εξέτασαν προβολικούς BNST νευρώνες στην VTA περιοχή, για διάφορες συμπεριφορές που σχετίζονται με τα κίνητρα, όπως η αναζήτηση ανταμοιβής, και με αγχώδεις καταστάσεις. Βρήκαν ότι η VTA περιοχή δέχεται δύο ειδών προβολές από την BNST περιοχή, από γλουταμινεργικούς και GABA νευρώνες. Χρησιμοποίησαν βασικά τεστ αξιολόγησης αγχώδους συμπεριφοράς σε τρωκτικά, όπως το elevated plus maze και το open field test, και βρήκαν ότι η οπτογενετική ενεργοποίηση, μέσω ChR2, των γλουταμινεργικών προβολικών BNST νευρώνων είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση αγχώδους συμπεριφοράς, καθώς τα τρωκτικά παρουσίασαν αποφευκτική συμπεριφορά. Αντίθετα η οπτική ενεργοποίηση των προβολικών GABA BNST νευρώνων προκάλεσε αγχώλυση.

**Υποδοχείς εκλυτικού παράγοντα κορτικοτροπίνης.** Η οπίσθια BNST περιοχή (posterior BNST, pBNST) περιέχει ένα πλήθος νευρώνων που εκφράζουν υποδοχείς εκλυτικού παράγοντα κορτικοτροπίνης 2 (Corticotropin-releasing factor receptor type 2, CRF2), μία πρωτεΐνη, της οποίας κύριος ρόλος είναι η ενεργοποίηση του HPA άξονα (ένα σύστημα ανάδρασης με σκοπό τη διατήρηση των προκαθορισμένων επιπέδων ορμονών και της ομοιόστασης), αυξάνοντας την



απελευθέρωση των γλυκοκορτικοειδών (μια κατηγορία στεροειδών ορμονών, με γνωστότερη ορμόνη την κορτιζόλη, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στο στρες) (Stephens & Wand, 2012; Albrechet-Souza, Viola, Grassi-Oliveira, Miczek & de Almeida, 2017). Ο άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (HPA) είναι απαραίτητος για την προσαρμογή στο φυσικό ή ψυχολογικό στρες και οι γλυκοκορτικοειδείς ορμόνες, οι οποίες αποτελούν το τελικό προϊόν της ενεργοποίησης του άξονα HPA, δρουν σε πολλαπλά σωματικά συστήματα για να διατηρήσουν την ομοιόσταση (Herman, 2009). Οι CRF νευρώνες προβάλλουν σε πολλές περιοχές και εμπλέκονται στις συμπεριφορικών αντιδράσεων στο στρες, στην επαγρύπνηση, στο φόβο, στις συναισθηματικές διεργασίες και, ενώ το σύστημα CRF είναι κρίσιμο για την επιβίωση των οργανισμών, η χρόνια υπερβολική διέγερσή του μπορεί να οδηγήσει σε παθολογικές καταστάσεις, όπως οι αγχώδεις διαταραχές, η κατάθλιψη και η κατάχρηση αλκοόλ (Albrechet-Souza et al., 2017).

Η Henckens και η ομάδα της (2016) παρατήρησαν ότι, κατα την οπτική ενεργοποίηση των pBNST νευρώνων που εκφράζουν CRFR2, τα τρωκτικά, που υποβλήθηκαν σε δοκιμασίες αξιολόγησης άγχους (elevated plus maze και open field test), παρουσίασαν μειωμένες αγχώδεις αντιδράσεις. Επίσης, μέτρησαν την ανάκαμψη των επιπέδων των κορτικοστεροειδών, μετά από ένα φοβικό ερέθισμα, και βρήκαν ότι η οπτική ενεργοποίηση των νευρώνων, αμέσως μετά την εμφάνιση του στρεσογόνου ερεθίσματος, μείωσε την πτώση, που προκαλείται από το στρες, στα επίπεδα της κορτικοστερόνης. Τα αντίθετα αποτελέσματα εμφανίστηκαν όταν οι νευρώνες αναστάλθηκαν, μέσω της χρήσης eNpHR3.0, δηλαδή τα τρωκτικά εκδήλωσαν συμπτώματα άγχους και παρουσιάστηκε μια καθυστέρηση στην ανάκαμψη μετά το στρες. Επιπροσθέτως, υποβάλλοντας τα τρωκτικά σε μία τραυματική εμπειρία, ανέπτυξαν ένα φαινότυπο παρόμοιο με το PTSD και την

επόμενη μέρα, ενεργοποίησαν οπτικά τους pBNST νευρώνες που εκφράζουν CRFR2. Μετά από μία βδομάδα, το 8% των τρωκτικών, στα οποία ενεργοποιήθηκαν οι εν λόγω νευρώνες ανέπτυξαν συμπεριφορά παρόμοια με PTSD, σε σύγκριση με το 42% των τρωκτικών της ομάδας ελέγχου, γεγονός που δείχνει ότι η ενεργοποίηση μείωσε σημαντικά την ευαισθησία στην ανάπτυξη PTSD.

Με τους υποδοχείς εκλυτικού παράγοντα κορτικοτροπίνης 2 ασχολήθηκαν ο Antony και η ομάδα του (2014), κυρίως σε σχέση με το ρόλο που διαδραματίζουν στον άξονα διαφράγματος-ιππόκαμπου (Septo-hippocampal axis, SHA). Το διάφραγμα (Septum) περιέχει χολινεργικά και GABA κυτταρικά σώματα που προβάλλουν στον ιππόκαμπο ενώ ο ιππόκαμπος, με τη σειρά του, προβάλλει στο διάφραγμα μέσω γλουταμινεργικών και GABA οδών, ενώ μελέτες έχουν υποδείξει το εν λόγω σύστημα ως παράγοντα στην εμφάνιση του άγχους και του φόβου (Degroot & Treit, 2004). Με τη χρήση ChR2, ο Antony έδειξε ότι η άμεση οπτική διέγερση των CRFR2 νευρώνων στο πλάγιο διάφραγμα (lateral septum, LS), κατά τη διάρκεια συμπεριφορικών δοκιμασιών άγχους, οδήγησαν στην αύξηση εμφάνισης χαρακτηριστικών άγχους. Επιπροσθέτως, το άγχος διατηρήθηκε για 35 λεπτά, κατά την ενεργοποίηση των νευρώνων, ωστόσο ήταν αναστρέψιμο. Αντιθέτως, η οπτική αναστολή των νευρώνων eNpHR είχε σημαντικές αγχολυτικές επιδράσεις.

**Ραβδωτό σώμα και κογχομετωπιαίος φλοιός.** Δύο ερευνητικές ομάδες, η Ahmari και οι συνεργάτες της (2013) και ο Burguière με τους συνεργάτες του (2013), δημοσίευσαν, στο ίδιο τεύχος του επιστημονικού περιοδικού Science, έρευνες οπτογενετικής σχετικά με ρόλο του κυκλώματος του ραβδωτού σώματος και του κογχομετωπιαίου φλοιού στην εμφάνιση χαρακτηριστικών της ιδεοψυχαναγκαστικής διαταραχής. Το ραβδωτό σώμα (Striatum) είναι ένα μέρος του θαλαμοφλοιικού συστήματος, που βρίσκεται στην περιοχή όπου ο φλοιός συνδέεται με τον θάλαμο

(Wilson, 2009). Η Ahmari μελέτησε την έσω κοιλιακή περιοχή του ραβδωτού σώματος και τις συνδέσεις της με τον κογχομετωπιαίο φλοιό (Orbitofrontal Cortex, OFC) και βρήκε ότι η επανειλημμένη οπτική ενεργοποίηση της περιοχής, σε συνδυασμό με αγχογόνα περιβάλλοντα, είχε ως αποτέλεσμα τη δραματική προοδευτική αύξηση του καλλωπισμού (grooming) στα ζώα, ενώ η συμπεριφορά ήταν αναστρέψιμη, έπειτα από 2 βδομάδες φαρμακευτικής αγωγής.

Ο Burguière χρησιμοποίησε τρωκτικά με μία συγκεκριμένη μετάλλαξη (Sapap3 mutant mice), καθώς τα εν λόγω τρωκτικά παρουσιάζουν αυθόρμητο, επαναλαμβανόμενο υπερβολικό καλλωπισμό και άγχος, χαρακτηριστικά που θα μπορούσαν να θεωρηθούν ανάλογα με εκείνα των παθολογικών συμπεριφορών, στο φάσμα των ιδεοψυχαναγκαστικών διαταραχών. Οι ερευνητές, σε αυτή την περίπτωση, μελέτησαν τον πλάγιο κογχομετωπιαίο φλοιό (Lateral OFC, IOFC) και το ραβδωτό σώμα, σε συνδυασμό με εξαρτημένη μάθηση του φόβου. Κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης, τα Sapap3 τρωκτικά παρουσίασαν μεγαλύτερη ενεργοποίηση των νευρώνων του ραβδωτού σώματος, απ' ό,τι τα τρωκτικά στην ομάδα ελέγχου. Για να ανατρέψουν τις ιδεοψυχαναγκαστικές συμπεριφορές, οι επιστήμονες στόχευσαν, με ChR2, τους IOFC νευρώνες, που προβάλλουν στο ραβδωτό σώμα, με σκοπό την αναστολή της υπερδραστηριότητας των νευρώνων του ραβδωτού σώματος. Φάνηκε, ότι κατά την οπτική ενεργοποίηση τόσο των IOFC νευρώνων όσο και των νευρώνων του ραβδωτού σώματος, η τάση για πρώιμες συμπεριφορές καλλωπισμού, κατά την παρουσία του εξαρτημένου ερεθίσματος, καταργήθηκαν σχεδόν πλήρως.

**Ηνία και καλύπτρα/πυρήνες ραφής.** Η περιοχή ηνία (Habenula, Hb) αποτελεί μέρος του επιθαλάμου, μαζί με την επίφυση, και αποτελείται από νευρώνες πολλών ειδών, όπως γλουταμινεργικούς νευρώνες και νευρώνες ακετυλοχολίνης (Namboodiri, Rodriguez-Romaguera & Studer, 2016). Η Hb περιοχή εμπλέκεται σε

διαδικασίες αναμονής ή πρόβλεψης ανταμοιβής, στην εμφάνιση αποφευκτικής συμπεριφοράς και φοβικών αντιδράσεων, σε μνημονικά ελλείμματα, σε ψυχαναγκαστικές συμπεριφορές, στον κερκαδικό ρυθμό, στη ρύθμιση του ύπνου, στον πόνο και σε παθολογικές καταστάσεις όπως η κατάθλιψη και ο εθισμός (Benarroch, 2015). Οι πυρήνες ραφής (Raphe nuclei) αποτελούν μια συλλογή κυτταρικών ομάδων, που κατανέμονται στην περιοχή της καλύπτρας (Tegmentum), και περιέχει, κυρίως, σεροτονινεργικούς νευρώνες, ενώ η περιοχή θεωρείται ο κύριος ρυθμιστής της σεροτονίνης στον εγκέφαλο (Hornung, 2012).

Η Hb περιοχή ερευνήθηκε οπτογενετικά από τη Stamatakis και το Stuber (2012), οι οποίοι έδειξαν ότι η ενεργοποίηση των προβολών της περιοχής στην έσω ρυγχαία περιοχή της καλύπτρας (rostromedial Tegmentum, rmT) σε τρωκτικά, με ChR2, είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση συμπεριφοράς αποφυγής για μία συγκεκριμένη τοποθεσία, ενώ η ίδια συμπεριφορά εμφανίστηκε και σε συνθήκες εξαρτημένης μάθησης. Ο Amo και οι συνεργάτες του (2014) μελέτησαν το κύκλωμα της κοιλιακής Hb περιοχής (ventral Hb, vHb) και του μέσου πυρήνα της ραφής (median Raphe, mR) σε ζεβρόψαρα (Zebrafish). Καθώς η συγκεκριμένη κατηγορία ψαριών δίνει τη δυνατότητα για εφαρμογή της εξαρτημένης μάθησης, οι ερευνητές τα χρησιμοποίησαν, ώστε να μελετήσουν αν η vHb-mR νευρωνική οδός εμπλέκεται στην πρόβλεψη αρνητικής ανταμοιβής κατά την εξαρτημένη μάθηση.

Χρησιμοποίησαν ένα ενυδρείο με δύο διαφορετικούς βυθούς (έναν κόκκινο και έναν πράσινο), ώστε το χρώμα του βυθού να εξαρτηθεί με έναν τύπο απωθητικού ερεθίσματος. Τα ψάρια έμαθαν να συσχετίζουν το κόκκινο χρώμα με ένα μικρό ηλεκτροσόκ και η οπτογενετική διέγερση προκάλεσε σταθερά την κίνηση ψαριών, από το περιβάλλον, που είχε συνδεθεί με το ηλεκτροσόκ, στο περιβάλλον που δεν είχε αντίστοιχα συνδεθεί. Ακόμα, φάνηκε ότι τα ChR2 ψάρια περνούσαν, γενικότερα,

λιγότερο χρόνο στην περιοχή διέγερσης από τα ψάρια της ομάδας ελέγχου, γεγονός που υποδεικνύει ότι η οπτική ενεργοποίηση προκάλεσε την εμφάνιση αποφευκτικής συμπεριφοράς, ακόμα και κατά την απουσία της απειλής. Επίσης, μετά από εκπαίδευση, όπου τα ψάρια έμαθαν να αναμένουν αρνητική ανταμοιβή, τα ChR2 ζεβρόψαρα έμαθαν επιτυχώς (σε αντίθεση με την ομάδα ελέγχου) να κολυμπούν πιο γρήγορα και πιο άμεσα, μακριά από την περιοχή, η οποία είχε συνδεθεί με ένα ερέθισμα, που προκαλούσε αποστροφή. Ενδεικτικά, αναφέρεται ότι για να προσδιοριστεί αν η αναστολή της εν λόγω νευρωνικής οδού αποτρέπει την μάθηση αποφυγής, οι ερευνητές δημιούργησαν μια διαγονιδιακή γραμμή ψαριών, στην οποία οι Hb νευρώνες δεν επικοινωνούσαν με τους νευρώνες του πυρήνα της ραφής και φάνηκε ότι αυτά τα ψάρια δεν κατάφεραν να μάθουν να αποφεύγουν απειλητικά μέρη αλλά διατήρησαν μια αντίδραση πανικού στο κόκκινο φως.

**Ακουστικός φλοιός.** Μία από τις πρώτες έρευνες χρήσης οπτικών ενεργοποιητών αποτελεί η μελέτη του Letzkus και των συνεργατών του (2011) σχετικά με το ρόλο που διαδραματίζει ο ακουστικός φλοιός (auditory cortex) στην εξαρτημένη μάθηση του φόβου. Με φαρμακολογικές τεχνικές, οι ερευνητές απέδειξαν ότι ένα μη εξαρτημένο ερέθισμα (π.χ. ένα μικρό ηλεκτροσόκ) ενεργοποιεί τους χολινεργικούς νευρώνες στον βασικό πρόσθιο εγκέφαλο και τους GABA ενδιάμεσους νευρώνες του πρώτου στρώματος του ακουστικού φλοιού. Νευρώνες του πρώτου στρώματος αναστέλλουν, με τη σειρά τους, νευρώνες του δεύτερου και του τρίτου στρώματος. Ως εκ τούτου, η παρουσία των ερεθισμάτων, που προκαλούν αποστροφή, έχει ως συνέπεια την αναστολή νευρώνων στον ακουστικό φλοιό. Για να ερευνηθεί αν η εν λόγω αναστολή συμβάλλει στην εξάρτηση του φόβου, η επιστημονική ομάδα χρησιμοποίησε ChR2 στους ενδιάμεσους νευρώνες και βρήκαν ότι η ενεργοποίηση, κατά τη διαδικασία της εξαρτημένης μάθησης, είχε ως

αποτέλεσμα σημαντικά μειωμένες αποκρίσεις φόβου, 24 ώρες μετά την εκπαίδευση, δείχνοντας ότι η αναστολή του κυκλώματος του ακουστικού φλοιού είναι απαραίτητη για την εξάρτηση του φόβου.

**Μέλαινα ουσία.** Η μέλαινα ουσία (Substantia Nigra, SN) αποτελείται από δύο ιστολογικά διακριτές περιοχές (SN pars reticulata/SNr και SN pars compacta/SNpc), η οποίες αποτελούνται, κυρίως, από ντοπαμινεργικούς νευρώνες, και διαδραματίζει εξέχοντα ρόλο σε πολλές γνωστικές λειτουργίες, όπως η επεξεργασία καινούριων ερεθισμάτων και η βασισμένη στη ανταμοιβή μάθηση, ενώ ο εκφυλισμός της αποτελεί χαρακτηριστικό ενός αριθμού ασθενειών, όπως η νόσος Πάρκινσον (Langley et al., 2015).

Οι Hormingo, Vega-Flores και Castro-Alamancos (2016) μελέτησαν την εμπλοκή της SNr περιοχής στην αποφευκτική συμπεριφορά. Η εν λόγω περιοχή αποτελεί το μεγαλύτερο κομμάτι της μέλαινας ουσίας, περιέχει κυρίως GABA νευρώνες και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη νευρωνική διαβίβαση, κατευθύνοντας πληροφορίες είτε στο ραβδωτό σώμα είτε στις δομές εξόδου των βασικών γαγγλίων (Velíšková & Moshé, 2006). Η αποφευκτική συμπεριφορά μελετήθηκε μέσω της τοποθέτησης των τρωκτικών σε ένα ειδικά διαμορφωμένο κουτί, με δύο διαμερίσματα. Ένας ήχος αποτέλεσε το εξαρτημένο ερέθισμα, που ωθούσε τα τρωκτικά να μεταφερθούν από το ένα διαμέρισμα του κουτιού στο άλλο, καθώς συνοδευόταν με ένα ανεξάρτητο ερέθισμα (ένας απωθητικός ήχος σε συνδυασμό με ένα μικρό ηλεκτροσόκ). Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η αυξημένη δραστηριότητα της SNr περιοχής, με τη χρήση ChR2, είχε ως αποτέλεσμα τη σταδιακή μείωση της αποφευκτικής συμπεριφοράς, ενώ η αναστολή της περιοχής, με Arch, έδειξε αυξημένη αποφυγή στο εξαρτημένο ερέθισμα.

### Επίλογος

Η οπτογενετική έχει συνεισφέρει στην έρευνα των αγχωδών διαταραχών, καθώς έχει χρησιμοποιηθεί σε μία πληθώρα μελετών για διάφορες πτυχές του άγχους και του φόβου, όπως η εξαρτημένη μάθηση του φόβου, η εμφάνιση αιφνίδιου άγχους σε στρεσογόνα περιβάλλοντα, η ανάκληση φοβικών μνημών, ο ανάλογος με το πλαίσιο φόβος και η αντίστοιχη γενίκευσή του, η εξάλειψη του φόβου, η κοινωνική αλληλεπίδραση σε καταστάσεις άγχους και η εμφάνιση ψυχαναγκαστικών συμπεριφορών. Μέχρι τώρα, η οπτογενετική έχει καταφέρει να καταστήσει ακριβέστερη την μελέτη των νευρικών κυκλωμάτων, ειδικά όταν πρόκειται για τη διερεύνηση της αιτιώδους σχέσης τους, αφού η ενεργοποίηση και η αναστολή τους επιτρέπουν τη μελέτη της επάρκειας και της αναγκαιότητας συγκεκριμένων κυτταρικών πληθυσμών στην εμφάνιση διάφορων συμπεριφορών και παθολογιών (Boyden, 2015).

Παρά τις εκπληκτικές δυνατότητες, που προσφέρει η οπτογενετική, στην έρευνα του εγκεφάλου, έχει να αντιμετωπίσει και κάποιους περιορισμούς. Σύμφωνα με το Häusser (2014), τόσο η οπτική διέγερση, όσο και η οπτική αναστολή των νευρώνων, χαρακτηρίζονται από τον κίνδυνο της πρόκλησης νευρωνικών αποκρίσεων, εκτός της φυσιολογικής κλίμακας, και μπορεί να επηρεάσουν τη δραστηριότητα του εκάστοτε πληθυσμού νευρώνων, οδηγώντας σε εσφαλμένα συμπεράσματα, σχετικά με τη λειτουργία του κυκλώματος. Επίσης, ο συγγραφέας αναφέρει ότι η φωτοδιέγερση και η έκφραση των φθορίζουσών πρωτεϊνών δεν χαρακτηρίζονται από ομοιομορφία, σε ολόκληρο τον πληθυσμό των στοχευμένων νευρώνων, δημιουργώντας ετερογένεια στο μέγεθος και την έκταση του οπτογενετικού χειρισμού, ενώ η συμβατική οπτογενετική διέγερση, συνήθως, ενεργοποιεί αδιακρίτως τους νευρώνες ενός

γενετικά καθορισμένου πληθυσμού και δε δίνει τη δυνατότητα επιλεκτικής ενεργοποίησης υποτύπων νευρώνων, εντός του εκάστοτε πληθυσμού.

Όπως φαίνεται, το πειραματικό σύστημα απαιτεί την εξέταση της επιρροής των πρωτεϊνών και του φωτός στα κύτταρα, γι' αυτό ο ερευνητής πρέπει να πραγματοποιεί βασικές δοκιμές σχετικά με την επίδρασή τους. Ως εκ τούτου, τα συμπεριφορικά πειράματα, συνήθως, περιλαμβάνουν και δοκιμασίες χωρίς οψίνες, όπου τα πειραματόζωα προετοιμάζονται αντίστοιχα (ακόμα και με ιική διαμόλυνση ή διανομή φωτός), λόγω προκλήσεων, που κυμαίνονται από τις τοξικές παρενέργειες της χειρουργικής επέμβασης έως τις θερμαντικές επιδράσεις του ίδιου του φωτός, ενώ τοξικότητα μπορεί να παρουσιαστεί και σε συνθήκες μακροπρόθεσμης έκφρασης οψινών ή λόγω ιών, γι' αυτό και θα πρέπει να επικυρώνεται, ιστολογικά και ηλεκτροφυσιολογικά, η υγεία των κυττάρων (Deisseroth, 2015).

Η οπτογενετική, ως μέθοδος, εγείρει και ζητήματα ηθικής, κυρίως στο κομμάτι του χειρισμού της μνήμης και, συγκεκριμένα, στην απομάκρυνση επώδυνων αναμνήσεων, καθώς άτομα, στον τομέα της βιοηθικής, υποστηρίζουν ότι μια τέτοια διαδικασία θα έθετε σε κίνδυνο τις “ειλικρινείς ταυτότητες” των ανθρώπων, ενώ θα είχε επιπτώσεις και σε νομικό επίπεδο, εφόσον η εξασθένηση της μνήμης θα μπορούσε να διασπάσει τη σύνδεση των ανθρώπων με την ηθική ευθύνη (Canli, 2015). Επιπροσθέτως, υπάρχουν ανησυχίες, τις οποίες ασπάζεται η συγγραφέας της παρούσας εργασίας, για την ηθική χρήση των τεχνολογιών, τις οποίες, πιθανόν, να μπορέσει να προσφέρει η οπτογενετική, όπως ο χειρισμός του κυκλώματος του θυμού και η πιθανή χρήση της για την αύξηση της επιθετικότητας, σε πλαίσια όπως ο στρατός, αλλά και η ενίσχυση των γνωστικών λειτουργιών (Berryessa & Cho, 2013; Albert, 2014).



Επί του παρόντος, οι περισσότερες έρευνες οπτογενετικής εξακολουθούν να εστιάζουν σε ζωικά μοντέλα, τόσο για τη μελέτη της σχέσης μεταξύ νευρωνικών δικτύων και συμπεριφορών όσο και για την αξιολόγηση πιθανών θεραπειών και στοχευμένης παράδοσης φαρμάκων. Ωστόσο, οι εφαρμογές στον άνθρωπο δεν θεωρούνται αδύνατες καθώς, ήδη, έχουν αρχίσει κλινικές δοκιμές για την αξιολόγηση της ασφάλειας της εφαρμογής της μεθόδου σε ανθρώπους, όπως η οπτογενετική παρέμβαση για την θεραπεία της μελαγχρωστικής αμφιβληστροειδοπάθειας (Delbeke, Hoffman, Mols, Braeken & Prodanov, 2017).

Παρά το γεγονός ότι δεν υπάρχει, ακόμα, κάποιος τρόπος, ώστε η οπτογενετική να εφαρμοστεί σε ασθενείς με αγχώδεις διαταραχές, συμβάλλοντας στην έρευνα για τη λειτουργία των πολύπλοκων νευρικών κυκλωμάτων, που σχετίζονται με τις εν λόγω ασθένειες, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη θεραπευτικών παρεμβάσεων για αυτές τις ψυχιατρικές διαταραχές, όπως η δημιουργία αντίστοιχων φαρμάκων με πιο στοχευμένη δράση και λιγότερες παρενέργειες, η εφαρμογή γονιδιακών θεραπειών, σε συνδυασμό με DBS, και ο καθορισμός ακριβέστερων πρωτοκόλλων διέγερσης για την ενεργοποίηση συγκεκριμένων κατηγοριών νευρώνων, μέσω της διακρανιακής μαγνητικής διέγερσης (Transcranial Magnetic Stimulation, TMS) (Dejean et al., 2015; Steinberg, Christoffel, Deisseroth & Malenka, 2015; Towne & Thompson, 2016).

Πέραν, από τις τεχνικές δυσκολίες που έχει να αντιμετωπίσει η κοινότητα του εν λόγω κλάδου, όσον αφορά τη μελλοντική χρήση της οπτογενετικής ως παρέμβαση στις αγχώδεις διαταραχές και τη ψυχοπαθολογία γενικότερα, όπως είναι η διάδοση του φωτός στον εγκέφαλο και οι κίνδυνοι της γονιδιακής θεραπείας, εγείρεται και το ζήτημα του κόστους μιας τέτοιου είδους θεραπείας. Κάποιοι επιστήμονες μπορεί να υποστηρίξουν ότι η πρόσβαση στις διάφορες θεραπείες δεν αποτελεί ζήτημα της επιστημονικής κοινότητας, ωστόσο, κατά την άποψη της συγγραφέως, η επιστήμη θα

πρέπει να υπηρετεί τα συμφέροντα της κοινωνίας και δεν δύναται να μη λάβει υπόψιν τις οικονομικές δυσκολίες που αντιμετωπίζουν αρκετές χώρες και την αδυναμία πολλών ανθρώπων να έχουν πρόσβαση, ακόμα και σε πιο οικονομικές, θεραπευτικές παρεμβάσεις.

Τα εργαλεία της οπτογενετικής παρέχουν τη δυνατότητα πειραματικού ελέγχου του νευρικού συστήματος, που συνεισφέρει στην κατανόηση της λειτουργίας και της παθολογίας νευρικών κυκλωμάτων, και η επέκταση των μελετών, πιθανότατα, θα συνεχίσει να είναι μια συναρπαστική και παραγωγική έρευνα για νευρολογικές και ψυχιατρικές ασθένειες. Η οπτογενετική, πέραν από τις πολύτιμες πληροφορίες που προσφέρει σχετικά με τη λειτουργία του εγκεφάλου, αποτελεί μία τεχνική, που επιτρέπει τη σύνδεση πολλών διαφορετικών κλάδων των επιστημών υγείας. Η άνοδος της διεπιστημονικότητας προωθεί τη σύζευξη δύο, ή περισσότερων ερευνητικών κλάδων, επιτρέποντας έτσι την εξέταση ενός αντικειμένου από διαφορετικές επιστημονικές σκοπιές. Η χρήση της οπτογενετικής στο πεδίο της ψυχοπαθολογίας αποτελεί ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα διεπιστημονικότητας και αναδεικνύει τη σημασία της. Αυτή η δυνατότητα για διεπιστημονική προσέγγιση, στην προκειμένη περίπτωση ο συνδυασμός της νευροφυσιολογίας και του συμπεριφορισμού στην έρευνα των αγχωδών διαταραχών, αποτελεί μία πολύ ενδιαφέρουσα μέθοδο για την αποκωδικοποίηση της πολύπλοκης φύσης της ψυχοπαθολογίας.

Η ψυχοπαθολογία, πέραν από το βιολογικό υπόβαθρο, διαμορφώνεται από πολλούς και διαφορετικούς παράγοντες, όπως η αναπτυξιακή πορεία του ατόμου, οι γνωστικές του λειτουργίες, το κριτήριο του υποκειμενικού βιώματος και διάφορες κοινωνικοοικονομικές συνιστώσες, οι οποίες, ωστόσο, δεν ερευνώνται, προς το παρόν, στα πειράματα οπτογενετικής, τα οποία, μέχρι τώρα, περιορίζονται από την χρήση πειραματόζωων, μία πρακτική, η οποία θα πρέπει, ούτως ή άλλως, να

επανεξεταστεί και να περιοριστεί, ως απάντηση στο ολοένα αυξανόμενο ενδιαφέρον της κοινωνίας για τα δικαιώματα των ζώων.

Το μέλλον της οπτογενετικής στο πεδίο των αγχωδών διαταραχών, αντικατοπτρίζεται, σε μεγάλο βαθμό, σε κείμενο του Deisseroth (2012), ο οποίος, με ευθυκρισία, αναφέρει ότι οι τεχνικές της οπτογενετικής δεν στέκονται μόνες τους, αλλά θα πρέπει να ενταχθούν με τις υπάρχουσες μεθόδους της έρευνας των ψυχιατρικών διαταραχών όπως η μελέτη της συμπεριφοράς, οι μέθοδοι της ψυχολογίας, η απεικονιστικές τεχνικές, η ηλεκτροφυσιολογία, η φαρμακολογία και η γενετική. Επιπλέον, οι τεχνολογίες της οπτογενετικής πρέπει να αναπτυχθούν περαιτέρω, ώστε να είναι δυνατή η πλήρης αξιοποίηση των δυνατοτήτων τους, ευθύνη που φέρει ο κλάδος της βιοϊατρικής μηχανικής και τα συναφή επιστημονικά πεδία. Παραδείγματα μελλοντικών βελτιώσεων, που αναφέρει ο Deisseroth, αποτελούν πιο αποδοτικές μέθοδοι, για τον προσδιορισμό του συνόλου των δικτύων του εγκεφάλου, και τεχνικές για δυνατότητα απεικόνισης προτύπων νευρικής δραστηριότητας, που υπάγονται σε οπτογενετικό έλεγχο.

Εν κατακλείδι, η οπτογενετική είναι ένα εξαιρετο εργαλείο για την έρευνα του ανατομικού και φυσιολογικού υπόβαθρου των αγχωδών διαταραχών και δύναται να οδηγήσει, προς το παρόν, έμμεσα στην ανάπτυξη καλύτερων θεραπειών, καθώς ο εντοπισμός κυκλωμάτων, που εμπλέκονται στην εμφάνιση φοβικών και αγχωδών συμπεριφορών, ίσως να έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη πιο στοχευμένων, κυρίως φαρμακευτικών, παρεμβάσεων. Η οπτογενετική είναι ένα πολύ πρόσφατο και πολλά υποσχόμενο πεδίο, το οποίο θα πρέπει να παρακολουθείται στενά από τους ειδικούς ψυχικής υγείας, αφού αποτελεί μία τεχνική, που ενδέχεται να βοηθήσει, κυρίως, στην κατανόηση, και πιθανόν, στην αντιμετώπιση των αγχωδών διαταραχών.

## Βιβλιογραφία

- Abramowitz, J. S., & Jacoby, R. J. (2014). Obsessive-compulsive disorder in the *DSM-5*. *Clinical Psychology: Science and Practice*, 21(3), 221–235.  
<https://doi.org/10.1111/cpsp.12076>
- Adamantidis, A. R., Zhang, F., de Lecea, L., & Deisseroth, K. (2014). Optogenetics: opsins and optical interfaces in neuroscience. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2014(8). <https://doi.org/10.1101/pdb.top083329>
- Adamantidis, Antoine R., Zhang, F., Aravanis, A. M., Deisseroth, K., & de Lecea, L. (2007). Neural substrates of awakening probed with optogenetic control of hypocretin neurons. *Nature*, 450(7168), 420–424.  
<https://doi.org/10.1038/nature06310>
- Adams, T. G., Sawchuk, C. N., Cisler, J. M., Lohr, J. M., & Olatunji, B. O. (2014). Specific phobias. In P. Emmelkamp & T. Ehring (Eds.), *The Wiley Handbook of Anxiety Disorders, Vol. 1. Theory and Research; Vol. 2. Clinical Assessment and Treatment* (pp. 297-320). :Wiley-Blackwell.
- Adhikari, A., Lerner, T. N., Finkelstein, J., Pak, S., Jennings, J. H., Davidson, T. J., ... Deisseroth, K. (2015). Basomedial amygdala mediates top-down control of anxiety and fear. *Nature*, 527(7577), 179–185.  
<https://doi.org/10.1038/nature15698>
- Adhikari, A., Topiwala, M. A., & Gordon, J. A. (2010). Synchronized activity between the ventral hippocampus and the medial prefrontal cortex during anxiety. *Neuron*, 65(2), 257–269. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.12.002>
- Ahmari, S. E., Spellman, T., Douglass, N. L., Kheirbek, M. A., Simpson, H. B., Deisseroth, K., Gordon, J. & Hen, R. (2013). Repeated cortico-striatal

- stimulation generates persistent OCD-like behavior. *Science*, 340(6137), 1234–1239. <https://doi.org/10.1126/science.1234733>
- Airan, R. D., Thompson, K. R., Fenno, L. E., Bernstein, H., & Deisseroth, K. (2009). Temporally precise in vivo control of intracellular signalling. *Nature*, 458(7241), 1025–1029. <https://doi.org/10.1038/nature07926>
- Albert, P. (2014). Light up your life: Optogenetics for depression? *Journal of Psychiatry & Neuroscience*, 39(1), 3–5. <https://doi.org/10.1503/jpn.130267>
- Albrechet-Souza, L., Viola, T. W., Grassi-Oliveira, R., Miczek, K. A., & de Almeida, R. M. M. (2017). Corticotropin releasing factor in the bed nucleus of the stria terminalis in socially defeated and non-stressed mice with a history of chronic alcohol intake. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00762>
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (Fifth Edition). American Psychiatric Association. <https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425596>
- Amo, R., Fredes, F., Kinoshita, M., Aoki, R., Aizawa, H., Agetsuma, M., ... Okamoto, H. (2014). The habenulo-raphé serotonergic circuit encodes an aversive expectation value essential for adaptive active avoidance of danger. *Neuron*, 84(5), 1034–1048. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.10.035>
- Anthony, T. E., Dee, N., Bernard, A., Lerchner, W., Heintz, N., & Anderson, D. J. (2014). Control of stress-induced persistent anxiety by an extra-amygdala septohypothalamic circuit. *Cell*, 156(3), 522–536. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.040>
- Arenkiel, B. R., Peca, J., Davison, I. G., Feliciano, C., Deisseroth, K., Augustine, G. J., Ehlers, M. D. & Feng, G. (2007). In vivo light-induced activation of neural

- circuitry in transgenic mice expressing channelrhodopsin-2. *Neuron*, 54(2), 205–218. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.03.005>
- Asmundson, G. J. G., Taylor, S., & A. J. Smits, J. (2014). Panic disorder and agoraphobia: An overview and commentary on DSM-5 changes: Review: Panic disorder and agoraphobia. *Depression and Anxiety*, 31(6), 480–486. <https://doi.org/10.1002/da.22277>
- Ataka, K., & Pieribone, V. A. (2002). A genetically targetable fluorescent probe of channel gating with rapid kinetics. *Biophysical Journal*, 82(1), 509–516. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(02\)75415-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)75415-5)
- Bandelow, B. (2017). Comparison of the DSM–5 and ICD–10: panic and other anxiety disorders. *CNS Spectrums*, 22(05), 404–406. <https://doi.org/10.1017/S1092852917000116>
- Bandelow, B., Reitt, M., Röver, C., Michaelis, S., Görlich, Y., & Wedekind, D. (2015). Efficacy of treatments for anxiety disorders: a meta-analysis. *International Clinical Psychopharmacology*, 30(4), 183–192. <https://doi.org/10.1097/YIC.0000000000000078>
- Battaglia, M., & Khan, W. U. (2018). Reappraising preclinical models of separation anxiety disorder, panic disorder, and CO2 sensitivity: Implications for methodology and translation into new treatments. *Biomarkers in Psychiatry Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 195-217. [doi:10.1007/7854\\_2018\\_42](https://doi.org/10.1007/7854_2018_42)
- Baxter, A. J., Scott, K. M., Vos, T., & Whiteford, H. A. (2013). Global prevalence of anxiety disorders: a systematic review and meta-regression. *Psychological Medicine*, 43(05), 897–910. <https://doi.org/10.1017/S003329171200147X>

- Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2007). *Neuroscience: Exploring the Brain* (3rd ed). Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Benarroch, E. E. (2015). Habenula: Recently recognized functions and potential clinical relevance. *Neurology*, *85*(11), 992–1000.  
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001937>
- 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. <https://doi.org/10.1126/science.1252367>
- Bernstein, J. G., & Boyden, E. S. (2011). Optogenetic tools for analyzing the neural circuits of behavior. *Trends in Cognitive Sciences*, *15*(12), 592–600.  
<https://doi.org/10.1016/j.tics.2011.10.003>
- Berryessa, C. M., & Cho, M. K. (2013). Ethical, legal, social, and policy implications of behavioral genetics. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, *14*(1), 515–534. <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-090711-163743>
- Bethlehem, R. A. I., van Honk, J., Auyeung, B., & Baron-Cohen, S. (2013). Oxytocin, brain physiology, and functional connectivity: A review of intranasal oxytocin fMRI studies. *Psychoneuroendocrinology*, *38*(7), 962–974.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2012.10.011>
- Bi, A., Cui, J., Ma, Y.-P., Olshevskaya, E., Pu, M., Dizhoor, A. M., & Pan, Z.-H. (2006). Ectopic expression of a microbial-type rhodopsin restores visual responses in mice with photoreceptor degeneration. *Neuron*, *50*(1), 23–33.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.02.026>
- Binder, M. D., Hirokawa, N., & Windhorst, U. (Eds.). (2009). *Encyclopedia of Neuroscience*. Berlin ; [New York]: Springer.

- Boes, A. D., Grafft, A. H., Joshi, C., Chuang, N. A., Nopoulos, P., & Anderson, S. W. (2011). Behavioral effects of congenital ventromedial prefrontal cortex malformation. *BMC Neurology*, *11*(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2377-11-151>
- Bovin, M. J., Wells, S. Y., Rasmusson, A. M., Hayes, J. P., & Resick, P. A. (2014). Posttraumatic Stress Disorder. In P. Emmelkamp & T. Ehring (Eds.), *The Wiley Handbook of Anxiety Disorders* (pp. 457–496). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118775349.ch23>
- Boyden, E. S. (2015). Optogenetics and the future of neuroscience. *Nature Neuroscience*, *18*(9), 1200–1201. <https://doi.org/10.1038/nn.4094>
- Boyden, E. S., Zhang, F., Bamberg, E., Nagel, G., & Deisseroth, K. (2005). Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nature Neuroscience*, *8*(9), 1263–1268. <https://doi.org/10.1038/nn1525>
- Brawman-Mintzer, O., & Yonkers, K. A. (2004). New trends in the treatment of anxiety disorders. *CNS Spectrums*, *9*(8 Suppl 7), 19–27.
- Bregestovski, P. (2009). Genetically encoded optical sensors for monitoring of intracellular chloride and chloride-selective channels activity. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *2*. <https://doi.org/10.3389/neuro.02.015.2009>
- Brenner, J. D. & Charney, D. S. (2010). Neural Circuits in Fear and Anxiety. In D. J. Stein, E. Hollander, & B. O. Rothbaum (Eds.), *Textbook of anxiety disorders*. Arlington, VA, US: American Psychiatric Publishing, Inc.
- Burguiere, E., Monteiro, P., Feng, G., & Graybiel, A. M. (2013). Optogenetic stimulation of lateral orbitofronto-striatal pathway suppresses compulsive behaviors. *Science*, *340*(6137), 1243–1246. <https://doi.org/10.1126/science.1232380>



- Busskamp, V., Duebel, J., Balya, D., Fradot, M., Viney, T. J., Siegert, S., ... Roska, B. (2010). Genetic reactivation of cone photoreceptors restores visual responses in retinitis pigmentosa. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5990), 413–417. <https://doi.org/10.1126/science.1190897>
- Butler, J. (2012). Optogenetics: shining a light on the brain. *Bioscience Horizons*, 5(0), hzr020–hzr020. <https://doi.org/10.1093/biohorizons/hzr020>
- Cai, Y.-Q., Wang, W., Paulucci-Holthauzen, A., & Pan, Z. Z. (2018). Brain circuits mediating opposing effects on emotion and pain. *The Journal of Neuroscience*, 2780–17. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2780-17.2018>
- Canli, T. (2015). Neurogenethics: An emerging discipline at the intersection of ethics, neuroscience, and genomics. *Applied & Translational Genomics*, 5, 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.atg.2015.05.002>
- Cao, G., Platasa, J., Pieribone, V. A., Raccuglia, D., Kunst, M., & Nitabach, M. N. (2013). Genetically targeted optical electrophysiology in intact neural circuits. *Cell*, 154(4), 904–913. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.027>
- Cates, M. S., Teodoro, M. L., & Phillips, G. N. (2002). Molecular mechanisms of calcium and magnesium binding to parvalbumin. *Biophysical Journal*, 82(3), 1133–1146. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(02\)75472-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(02)75472-6)
- Chalfie, M., Tu, Y., Euskirchen, G., Ward, W. W., & Prasher, D. C. (1994). Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science (New York, N.Y.)*, 263(5148), 802–805.
- Charney, M. E., Kredlow, M. A., Bui, E. & Simon, N. M. (2013). Panic disorder. In S. M. Stahl & B.A. Moore (coord.). *Anxiety disorders: A guide for integrating psychopharmacology and psychotherapy*. New York, NY, Routledge Press.

- Chen, Y., Xiong, M., & Zhang, S.-C. (2015). Illuminating Parkinson's therapy with optogenetics. *Nature Biotechnology*, *33*(2), 149–150.  
<https://doi.org/10.1038/nbt.3140>
- Chow, B. Y., Han, X., Dobry, A. S., Qian, X., Chuong, A. S., Li, M., Henninger, M. A., Belfort, G. M., Lin, Y. & Boyden, E. S. (2010). High-performance genetically targetable optical neural silencing by light-driven proton pumps. *Nature*, *463*(7277), 98–102. <https://doi.org/10.1038/nature08652>
- Ciocchi, S., Herry, C., Grenier, F., Wolff, S. B. E., Letzkus, J. J., Vlachos, I., ... Lüthi, A. (2010). Encoding of conditioned fear in central amygdala inhibitory circuits. *Nature*, *468*(7321), 277–282. <https://doi.org/10.1038/nature09559>
- Connolly, S., Petty, C., & Simpson, D. (2006). *Anxiety disorders*. New York: Chelsea House.
- Cornacchio, D., Chou, T., Sacks, H., Pincus, D., & Comer, J. (2015). Clinical consequences of the revised DSM-5 definition of agoraphobia in treatment-seeking anxious youth. *Depression and Anxiety*, *32*(7), 502-508.  
[doi:10.1002/da.22361](https://doi.org/10.1002/da.22361)
- Craig, Chandler, Gellert, Lambowitz, Rice, & Sandmeyer (Eds.). (2015). Cre Recombinase. In *Mobile DNA III* (pp. 119–138). American Society of Microbiology. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MDNA3-0014-2014>
- Craske, M. G., & Stein, M. B. (2016). Anxiety. *The Lancet*, *388*(10063), 3048–3059.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30381-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30381-6)
- Crick, F. H. (1979). Thinking about the brain. *Scientific American*, *241*(3), 219–232.
- Crocq, M.-A. (2015). A history of anxiety: from Hippocrates to DSM. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *17*(3), 319–325.

- DeBoer, L. B., Powers, M. B., Utschig, A. C., Otto, M. W., & Smits, J. A. (2012). Exploring exercise as an avenue for the treatment of anxiety disorders. *Expert Review of Neurotherapeutics*, *12*(8), 1011–1022.  
<https://doi.org/10.1586/ern.12.73>
- Degroot, A., & Treit, D. (2004). Anxiety is functionally segregated within the septo-hippocampal system. *Brain Research*, *1001*(1–2), 60–71.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.10.065>
- Deisseroth, K., Feng, G., Majewska, A. K., Miesenbock, G., Ting, A., & Schnitzer, M. J. (2006). Next-generation optical technologies for illuminating genetically targeted brain circuits. *Journal of Neuroscience*, *26*(41), 10380–10386.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3863-06.2006>
- Deisseroth, Karl. (2011). Optogenetics. *Nature Methods*, *8*(1), 26–29.  
<https://doi.org/10.1038/nmeth.f.324>
- Deisseroth, Karl. (2012a). Optogenetics and psychiatry: Applications, challenges, and opportunities. *Biological Psychiatry*, *71*(12), 1030–1032.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.12.021>
- Deisseroth, Karl. (2012b). Optogenetics and Psychiatry: Applications, Challenges, and Opportunities. *Biological Psychiatry*, *71*(12), 1030–1032.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.12.021>
- Deisseroth, Karl. (2015). Optogenetics: 10 years of microbial opsins in neuroscience. *Nature Neuroscience*, *18*(9), 1213–1225. <https://doi.org/10.1038/nn.4091>
- Dejean, C., Courtin, J., Rozeske, R. R., Bonnet, M. C., Dousset, V., Michelet, T., & Herry, C. (2015). Neuronal circuits for fear expression and recovery: Recent advances and potential therapeutic strategies. *Biological Psychiatry*, *78*(5), 298–306. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.03.017>

- 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. *Frontiers in Neuroscience, 11*.  
<https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00663>
- Dimitrov, D., He, Y., Mutoh, H., Baker, B. J., Cohen, L., Akemann, W., & Knöpfel, T. (2007). Engineering and characterization of an enhanced fluorescent protein voltage sensor. *PLoS ONE, 2*(5), e440.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000440>
- Dittmer, P. J., Miranda, J. G., Gorski, J. A., & Palmer, A. E. (2009). Genetically encoded sensors to elucidate spatial distribution of cellular zinc. *Journal of Biological Chemistry, 284*(24), 16289–16297.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M900501200>
- Dougherty, D. D., Rauch, S. L. & Greenberg, B.D. (2010). Pathophysiology of Obsessive-Compulsive Disorders. In D. J. Stein, E. Hollander, & B. O. Rothbaum (Eds.), *Textbook of Anxiety Disorders* . Arlington, VA, US: American Psychiatric Publishing, Inc.
- Dugué, G. P., Akemann, W., & Knöpfel, T. (2012). A comprehensive concept of optogenetics. In *Progress in Brain Research* (Vol. 196, pp. 1–28). Elsevier.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59426-6.00001-X>
- Dumont, É. C. (2009). What is the bed nucleus of the stria terminalis? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 33*(8), 1289–1290.  
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.07.006>
- Duvarci, S., & Pare, D. (2014). Amygdala microcircuits controlling learned fear. *Neuron, 82*(5), 966–980. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.04.042>

- Erofeev, A., Zakharova, O., Terekhin, S., Plotnikova, P., Bezprozvanny, I., & Vlasova, O. (2016). Future of optogenetics: Potential clinical applications? *Opera Medica et Physiologica*, 2(2), 117–121.
- Errington-Evans, N. (2012). Acupuncture for anxiety. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 18(4), 277–284. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2011.00254.x>
- Euston, D. R., Gruber, A. J., & McNaughton, B. L. (2012). The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron*, 76(6), 1057–1070. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>
- Faravelli, C., & Paionni, A. (2001). Panic Disorder: Clinical Course, Morbidity and Comorbidity. In E. J. L. Griez, C. Faravelli, D. Nutt, & J. Zohar (Eds.), *Anxiety Disorders* (pp. 51–79). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/0470846437.ch4>
- Felix-Ortiz, A. C., & Tye, K. M. (2014). Amygdala inputs to the ventral hippocampus bidirectionally modulate social behavior. *Journal of Neuroscience*, 34(2), 586–595. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4257-13.2014>
- Felix-Ortiz, A.C., Burgos-Robles, A., Bhagat, N. D., Leppla, C. A., & Tye, K. M. (2016). Bidirectional modulation of anxiety-related and social behaviors by amygdala projections to the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 321, 197–209. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.041>
- Felix-Ortiz, Ada C., Beyeler, A., Seo, C., Leppla, C. A., Wildes, C. P., & Tye, K. M. (2013). BLA to vHPC inputs modulate anxiety-related behaviors. *Neuron*, 79(4), 658–664. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.016>
- Felten, D. L., Shetty, A. N., & Felten, D. L. (2010). *Netter's Atlas of Neuroscience*. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier.

- Fenno, L., Yizhar, O., & Deisseroth, K. (2011). The development and application of optogenetics. *Annual Review of Neuroscience*, *34*(1), 389–412.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113817>
- FitzGerald, M. T. (2011). *Clinical Neuroanatomy and Neuroscience*. Elsevier.  
Retrieved from <http://www.clinicalkey.com/dura/browse/bookChapter/3-s2.0-C20090601896>
- Fournier, N. M., & Duman, R. S. (2013). Illuminating hippocampal control of fear memory and anxiety. *Neuron*, *77*(5), 803–806.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.02.017>
- Frederickson, C. J., Koh, J.-Y., & Bush, A. I. (2005). The neurobiology of zinc in health and disease. *Nature Reviews Neuroscience*, *6*(6), 449–462.  
<https://doi.org/10.1038/nrn1671>
- Gee, B. A., Hood, H. K., & Antony, M. M. (2013). Anxiety disorders: A historical perspective. In T.G. Plante (Ed.), *Abnormal psychology through the ages, Vol. 2, Disorders and treatments* (pp. 31-47). Santa Barbara, CA: ABC-CLIO/Praeger.
- Gerits, A., & Vanduffel, W. (2013). Optogenetics in primates: a shining future? *Trends in Genetics*, *29*(7), 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.03.004>
- Giardino, W. J., & de Lecea, L. (2014). Hypocretin (orexin) neuromodulation of stress and reward pathways. *Current Opinion in Neurobiology*, *29*, 103–108.  
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.07.006>
- Goshen, I., Brodsky, M., Prakash, R., Wallace, J., Gradinaru, V., Ramakrishnan, C., & Deisseroth, K. (2011). Dynamics of retrieval strategies for remote memories. *Cell*, *147*(3), 678–689. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.033>

- Green, M. J., & Benzeval, M. (2013). The development of socioeconomic inequalities in anxiety and depression symptoms over the lifecourse. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 48(12), 1951–1961.  
<https://doi.org/10.1007/s00127-013-0720-0>
- Greene, A. M., Bailey, C. R., & Neumeister, A. (2013). A biopsychosocial approach to anxiety. In S. M. Stahl & B. A. Moore (Eds.), *Psychopharmacology and psychotherapy in clinical practice. Anxiety disorders: A guide for integrating psychopharmacology and psychotherapy* (pp. 25-50). New York, NY, US: Routledge/Taylor & Francis Group.
- Guru, A., Post, R. J., Ho, Y.-Y., & Warden, M. R. (2015). Making sense of optogenetics. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(11), pyv079. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyv079>
- Han, X., Qian, X., Bernstein, J. G., Zhou, H., Franzesi, G. T., Stern, P., Bronson, R. T., Graybiel, A. M., Desimone, R & Boyden, E. S. (2009). Millisecond-timescale optical control of neural dynamics in the nonhuman primate brain. *Neuron*, 62(2), 191–198. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.03.011>
- Haubensak, W., Kunwar, P. S., Cai, H., Ciochi, S., Wall, N. R., Ponnusamy, R., Biag, J., Dong, H., Deisseroth, K., Callaway, E. M., Fanselow, M. S., Lüthi, A. & Anderson, D. J. (2010). Genetic dissection of an amygdala microcircuit that gates conditioned fear. *Nature*, 468(7321), 270–276.  
<https://doi.org/10.1038/nature09553>
- Häusser, M. (2014). Optogenetics: the age of light. *Nature Methods*, 11(10), 1012–1014. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3111>

- Heeramun-Aubeeluck, A., & Lu, Z. (2013). Neurosurgery for mental disorders: a review. *African Journal of Psychiatry*, *16*(3).  
<https://doi.org/10.4314/ajpsy.v16i3.23>
- Henckens, M. J. A. G., Printz, Y., Shamgar, U., Dine, J., Lebow, M., Drori, Y., Kuehne, C., Kolarz, A., Eder, M., Deussing, J. M., Justice, N. J., Yizhar, O. & Chen, A. (2017). CRF receptor type 2 neurons in the posterior bed nucleus of the stria terminalis critically contribute to stress recovery. *Molecular Psychiatry*, *22*(12), 1691–1700. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.133>
- Herman, J. P. (2009). Stress response: Neural and feedback Regulation of the HPA axis. In *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 505–510). Elsevier.  
<https://doi.org/10.1016/B978-008045046-9.00097-8>
- Heydendael, W., Sengupta, A., Beck, S., & Bhatnagar, S. (2014). Optogenetic examination identifies a context-specific role for orexins/hypocretins in anxiety-related behavior. *Physiology & Behavior*, *130*, 182–190.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.10.005>
- Hires, S. A., Zhu, Y., & Tsien, R. Y. (2008). Optical measurement of synaptic glutamate spillover and reuptake by linker optimized glutamate-sensitive fluorescent reporters. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(11), 4411–4416. <https://doi.org/10.1073/pnas.0712008105>
- Hofmann, S. G., Aka, B. T., & Piquer, A. (2014). Social Anxiety Disorder. In P. Emmelkamp & T. Ehring (Eds.), *The Wiley Handbook of Anxiety Disorders* (pp. 357–377). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.  
<https://doi.org/10.1002/9781118775349.ch20>
- Hofmann, S. G., & Hinton, D. E. (2014). Cross-cultural aspects of anxiety disorders. *Current Psychiatry Reports*, *16*(6). <https://doi.org/10.1007/s11920-014-0450-3>



- Hormigo, S., Vega-Flores, G., & Castro-Alamancos, M. A. (2016). Basal ganglia output controls active avoidance behavior. *The Journal of Neuroscience*, *36*(40), 10274–10284. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1842-16.2016>
- Hornung, J.-P. (2012). Raphe nuclei. In *The Human Nervous System* (pp. 401–424). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374236-0.10011-2>
- Hua, A., & Major, N. (2016). Selective mutism: *Current Opinion in Pediatrics*, *28*(1), 114–120. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000300>
- Huff, M. L., Miller, R. L., Deisseroth, K., Moorman, D. E., & LaLumiere, R. T. (2013). Posttraining optogenetic manipulations of basolateral amygdala activity modulate consolidation of inhibitory avoidance memory in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(9), 3597–3602. <https://doi.org/10.1073/pnas.1219593110>
- Erofeev, A. I., Matveev, M. V., Terekhin, S. G., Zakharova, O. A., Plotnikova, P. V., & Vlasova, O. L. (2015). The new method for studying neuronal activity: Optogenetics. *St. Petersburg Polytechnical University Journal: Physics and Mathematics*, *1*(3), 256-263. doi:10.1016/j.spjpm.2015.12.001
- Iseki, M., & Takahashi, T. (2015). Biology of light-sensing proteins in plants and microorganisms. In H. Yawo, H. Kandori, & A. Koizumi (Eds.), *Optogenetics* (pp. 17–29). Tokyo: Springer Japan. [https://doi.org/10.1007/978-4-431-55516-2\\_2](https://doi.org/10.1007/978-4-431-55516-2_2)
- Ishizuka, T., Kakuda, M., Araki, R., & Yawo, H. (2006). Kinetic evaluation of photosensitivity in genetically engineered neurons expressing green algae light-gated channels. *Neuroscience Research*, *54*(2), 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2005.10.009>

- Jayakody, K., Gunadasa, S., & Hosker, C. (2014). Exercise for anxiety disorders: systematic review. *British Journal of Sports Medicine*, *48*(3), 187–196.  
<https://doi.org/10.1136/bjsports-2012-091287>
- Jennings, J. H., Sparta, D. R., Stamatakis, A. M., Ung, R. L., Pleil, K. E., Kash, T. L., & Stuber, G. D. (2013). Distinct extended amygdala circuits for divergent motivational states. *Nature*, *496*(7444), 224–228.  
<https://doi.org/10.1038/nature12041>
- Ji, G., & Neugebauer, V. (2012). Modulation of medial prefrontal cortical activity using in vivo recordings and optogenetics. *Molecular Brain*, *5*(1), 36.  
<https://doi.org/10.1186/1756-6606-5-36>
- Jiang, Y., Li, X., Liu, B., Yi, J., Fang, Y., Shi, F., Gao, X., Sudzilovsky, E., Parameswaran, R., Koehler, K., Nair, V., Yue, J., Guo, K., Fang, Y., Tsai, H., Freyermuth, G., Wong, R. C. S., Kao, C., Chen, C., Nicholls, A. W., Wu, X., G. M. G. & Shepherd Tian, B. (2018). Rational design of silicon structures for optically controlled multiscale biointerfaces. *Nature Biomedical Engineering*, *2*(7), 508–521. <https://doi.org/10.1038/s41551-018-0230-1>
- Jimenez, J. C., Su, K., Goldberg, A. R., Luna, V. M., Biane, J. S., Ordek, G., Zhou, P., Ong, S. K., Wright, M. A., Zweifel, L., Paninski, L., Hen, R. & Kheirbek, M. A. (2018). Anxiety cells in a hippocampal-hypothalamic circuit. *Neuron*, *97*(3), 670–683.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.016>
- Jin, L., Han, Z., Platisa, J., Woollorton, J. R. A., Cohen, L. B., & Pieribone, V. A. (2012). Single action potentials and subthreshold electrical events imaged in neurons with a fluorescent protein voltage probe. *Neuron*, *75*(5), 779–785.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.06.040>

- Johansen, J. P., Hamanaka, H., Monfils, M. H., Behnia, R., Deisseroth, K., Blair, H. T., & LeDoux, J. E. (2010). Optical activation of lateral amygdala pyramidal cells instructs associative fear learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(28), 12692–12697. <https://doi.org/10.1073/pnas.1002418107>
- Johansen, J. P., Wolff, S. B. E., Lüthi, A., & LeDoux, J. E. (2012). Controlling the elements: An optogenetic approach to understanding the neural circuits of fear. *Biological Psychiatry*, *71*(12), 1053–1060. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.10.023>
- Julien, R.M. (2013). Pharmacological treatment of anxiety disorders across the lifespan. In S.M. Stahl & B.A. Moore (coord.). *Anxiety disorders: A guide for integrating psychopharmacology and psychotherapy*, Routledge Press, New York, NY.
- Kaczurkin, A. N., & Foa, E. B. (2015). Cognitive-behavioral therapy for anxiety disorders: an update on the empirical evidence. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *17*(3), 337–346.
- Kalanithi, P. S. A., & Purger, D. (2017). Optogenetics. In *Innovative Neuromodulation* (pp. 123–134). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800454-8.00006-9>
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., Jessell, T. M., & Kazlarēs, C. E. (2009). *Νευροεπιστήμη και Συμπεριφορά*. Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
- Kapalka, G. M., & Peters, C. (2013). Separation anxiety disorder. In S. M. Stahl & B. A. Moore (Eds.), *Psychopharmacology and psychotherapy in clinical practice. Anxiety disorders: A guide for integrating psychopharmacology and*

*psychotherapy* (pp. 260-284). New York, NY, US: Routledge/Taylor & Francis Group.

Karnik, S. S., Sakmar, T. P., Chen, H. B., & Khorana, H. G. (1988). Cysteine residues 110 and 187 are essential for the formation of correct structure in bovine rhodopsin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(22), 8459–8463. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.22.8459>

Kelly, R., & Stefanacci, L. (2009). Amygdala: Structure and circuitry in primates. In *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 341–345). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008045046-9.00148-0>

Kheirbek, M. A., Drew, L. J., Burghardt, N. S., Costantini, D. O., Tannenholz, L., Ahmari, S. E., Zeng, H., Fenton, A. A. & Hen, R. (2013). Differential control of learning and anxiety along the dorsoventral axis of the dentate gyrus. *Neuron*, 77(5), 955–968. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.038>

Kim, J. J., & Jung, M. W. (2006). Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: A critical review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30(2), 188–202. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.06.005>

Kim, S.-Y., Adhikari, A., Lee, S. Y., Marshel, J. H., Kim, C. K., Mallory, C. S., Lo, M., Pak, S., Mattis, J., Lim, B. K., Malenka, R. C., Warden, M. R., Neve, R., Tye, K. M. & Deisseroth, K. (2013). Diverging neural pathways assemble a behavioural state from separable features in anxiety. *Nature*, 496(7444), 219–223. <https://doi.org/10.1038/nature12018>

Knobloch, H. S., Charlet, A., Hoffmann, L. C., Eliava, M., Khrulev, S., Cetin, A. H., Osten, P., Schwarz, M. K., Seeburg, P. H., Stoop, R. & Grinevich, V. (2012). Evoked axonal oxytocin release in the central amygdala attenuates fear

response. *Neuron*, 73(3), 553–566.

<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.030>

Kuner, T., & Augustine, G. J. (2000). A genetically encoded ratiometric indicator for chloride: capturing chloride transients in cultured hippocampal neurons.

*Neuron*, 27(3), 447–459.

Κωσταρίδου-Ευκλείδη, Α. (2011). *Γνωστική Ψυχολογία*. Αθήνα. Εκδόσεις Πεδίο.

Langley, J., Huddleston, D. E., Chen, X., Sedlacik, J., Zachariah, N., & Hu, X. (2015).

A multicontrast approach for comprehensive imaging of substantia nigra.

*NeuroImage*, 112, 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.02.045>

Larusso, N. D., Ruttenberg, B. E., Singh, A. K., & Oakley, T. H. (2008). Type II

opsins: Evolutionary origin by internal domain duplication? *Journal of*

*Molecular Evolution*, 66(5), 417–423. [https://doi.org/10.1007/s00239-008-](https://doi.org/10.1007/s00239-008-9076-6)

9076-6

Letzkus, J. J., Wolff, S. B. E., Meyer, E. M. M., Tovote, P., Courtin, J., Herry, C., &

Lüthi, A. (2011). A disinhibitory microcircuit for associative fear learning in the auditory cortex. *Nature*, 480(7377), 331–335.

<https://doi.org/10.1038/nature10674>

Li, X., Gutierrez, D. V., Hanson, M. G., Han, J., Mark, M. D., Chiel, H., Hegemann,

P., Landmesser, L. T. & Herlitze, S. (2005). Fast noninvasive activation and inhibition of neural and network activity by vertebrate rhodopsin and green

algae channelrhodopsin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*,

102(49), 17816–17821. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509030102>

Lightfoot, J. D., Seay, S., Jr., & Goddard, A. W. (2010). Pathogenesis of generalized anxiety disorder. In D. J. Stein, E. Hollander, & B. O. Rothbaum (Eds.),

*Textbook of anxiety disorders* (pp. 173-192). Arlington, VA, US: American Psychiatric Publishing, Inc.

- Liguz-Leczna, M., Urban-Ciecko, J., & Kossut, M. (2016). Somatostatin and somatostatin-containing neurons in shaping neuronal activity and plasticity. *Frontiers in Neural Circuits, 10*. <https://doi.org/10.3389/fncir.2016.00048>
- Lijster, J. M. de, Dierckx, B., Utens, E. M. W. J., Verhulst, F. C., Zieldorff, C., Dieleman, G. C., & Legerstee, J. S. (2017). The age of onset of anxiety disorders: A meta-analysis. *The Canadian Journal of Psychiatry, 62*(4), 237–246. <https://doi.org/10.1177/0706743716640757>
- Lima, S. Q., & Miesenböck, G. (2005). Remote control of behavior through genetically targeted photostimulation of neurons. *Cell, 121*(1), 141–152. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.004>
- Lin, J. Y. (2011). A user's guide to channelrhodopsin variants: features, limitations and future developments: A user's guide to channelrhodopsin variants. *Experimental Physiology, 96*(1), 19–25. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.051961>
- Lissek, S., Powers, A. S., McClure, E. B., Phelps, E. A., Woldehawariat, G., Grillon, C., & Pine, D. S. (2005). Classical fear conditioning in the anxiety disorders: a meta-analysis. *Behaviour Research and Therapy, 43*(11), 1391–1424. <https://doi.org/10.1016/j.brat.2004.10.007>
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P. T., Puryear, C. B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., & Tonegawa, S. (2012). Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/nature11028>

- Llewellyn, M. E., Thompson, K. R., Deisseroth, K., & Delp, S. L. (2010). Orderly recruitment of motor units under optical control in vivo. *Nature Medicine*, *16*(10), 1161–1165. <https://doi.org/10.1038/nm.2228>
- Madisen, L., Mao, T., Koch, H., Zhuo, J., Berenyi, A., Fujisawa, S., Hsu, Y-W. A., Garcia, A. J., Gu, X., Zanella, S., Kidney, J., Gu, H., Mao, Y., Hooks, B. M., Boyden, E. S., Buzsáki, G., Ramirez, J. M., Jones, A. R., Svoboda, K., Han, X., Turner, E. E. & Zeng, H. (2012). A toolbox of Cre-dependent optogenetic transgenic mice for light-induced activation and silencing. *Nature Neuroscience*, *15*(5), 793–802. <https://doi.org/10.1038/nn.3078>
- Mahmoudi, P., Veladi, H., & Pakdel, F. G. (2017). Optogenetics, tools and applications in neurobiology. *Journal of Medical Signals and Sensors*, *7*(2), 71–79.
- Markova, O., Mukhtarov, M., Real, E., Jacob, Y., & Bregestovski, P. (2008). Genetically encoded chloride indicator with improved sensitivity. *Journal of Neuroscience Methods*, *170*(1), 67–76. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2007.12.016>
- Matsuno-Yagi, A., & Mukohata, Y. (1977). Two possible roles of bacteriorhodopsin; a comparative study of strains of *Halobacterium halobium* differing in pigmentation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *78*(1), 237–243.
- McCullough, K. M., Morrison, F. G., & Ressler, K. J. (2016). Bridging the gap : Towards a cell-type specific understanding of neural circuits underlying fear behaviors. *Neurobiology of Learning and Memory*, *135*, 27–39. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.07.025>

- McDonald, A. J. (2009). Amygdala. In M. D. Binder, N. Hirokawa, & U. Windhorst (Eds.), *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 100–104). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2\\_201](https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2_201)
- Merckelbach, H., & Muris, P. (2001). Specific Phobias. In E. J. L. Griez, C. Faravelli, D. Nutt, & J. Zohar (Eds.), *Anxiety Disorders* (pp. 105–135). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/0470846437.ch6>
- Michael, T., Zetsche, U., & Margraf, J. (2007). Epidemiology of anxiety disorders. *Psychiatry*, 6(4), 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.mppsy.2007.01.007>
- Miesenbock, G. (2009). The optogenetic catechism. *Science*, 326(5951), 395–399. <https://doi.org/10.1126/science.1174520>
- Miesenböck, G. (2011). Optogenetic control of cells and circuits. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 27(1), 731–758. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100109-104051>
- Miesenböck, G., De Angelis, D. A., & Rothman, J. E. (1998). Visualizing secretion and synaptic transmission with pH-sensitive green fluorescent proteins. *Nature*, 394(6689), 192–195. <https://doi.org/10.1038/28190>
- Miyawaki, A., Llopis, J., Heim, R., McCaffery, J. M., Adams, J. A., Ikura, M., & Tsien, R. Y. (1997). Fluorescent indicators for Ca<sup>2+</sup>-based on green fluorescent proteins and calmodulin. *Nature*, 388(6645), 882–887. <https://doi.org/10.1038/42264>
- Mohanty, S. K., & Lakshminarayanan, V. (2015). Optical techniques in optogenetics. *Journal of Modern Optics*, 62(12), 949–970. <https://doi.org/10.1080/09500340.2015.1010620>



- Morreale M., Tancer M. E. & Uhde T. W. (2009). Pathogenesis of social anxiety disorder. In D.J. Stein & E. Hollander (eds), *Textbook of anxiety disorders*. Washington, DC: American Psychiatric Publishing, pp 453–469.
- Muris, P., & Ollendick, T. H. (2015). Children who are anxious in silence: A review on selective mutism, the new anxiety disorder in DSM-5. *Clinical Child and Family Psychology Review*, 18(2), 151–169. <https://doi.org/10.1007/s10567-015-0181-y>
- Nagel, G. (2002). Channelrhodopsin-1: A light-gated proton channel in green algae. *Science*, 296(5577), 2395–2398. <https://doi.org/10.1126/science.1072068>
- Nagel, G., Szellas, T., Huhn, W., Kateriya, S., Adeishvili, N., Berthold, P., Ollig, D., Hegemann, P. & Bamberg, E. (2003). Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(24), 13940–13945. <https://doi.org/10.1073/pnas.1936192100>
- Nagel, G., Brauner, M., Liewald, J. F., Adeishvili, N., Bamberg, E., & Gottschalk, A. (2005). Light activation of channelrhodopsin-2 in excitable cells of *Caenorhabditis elegans* triggers rapid behavioral responses. *Current Biology*, 15(24), 2279–2284. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.11.032>
- Nakai, J., Ohkura, M., & Imoto, K. (2001). A high signal-to-noise Ca<sup>2+</sup> probe composed of a single green fluorescent protein. *Nature Biotechnology*, 19(2), 137–141. <https://doi.org/10.1038/84397>
- Nakajima, R., Jung, A., Yoon, B.-J., & Baker, B. J. (2016). Optogenetic monitoring of synaptic activity with genetically encoded voltage indicators. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2016.00022>

- Namboodiri, V. M. K., Rodriguez-Romaguera, J., & Stuber, G. D. (2016). The habenula. *Current Biology*, *26*(19), R873–R877.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.08.051>
- Nees, F., & Flor, H. (2014). Neuroanatomy and neuroimaging. In P. Emmelkamp & T. Ehring (Eds.), *The Wiley Handbook of Anxiety Disorders* (pp. 233–253). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.  
<https://doi.org/10.1002/9781118775349.ch15>
- Nickerson, A. & Bryant, R. A. (2013). Acute stress disorder In S. M. Stahl & B. A. Moore (coord.). *Anxiety disorders: A guide for integrating psychopharmacology and psychotherapy*, Routledge Press, New York, NY.
- Norton, P. J., & Roberge, P. (2017). Transdiagnostic therapy. *Psychiatric Clinics of North America*, *40*(4), 675–687. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2017.08.003>
- Nussinovitch, U., & Gepstein, L. (2015). Optogenetics for in vivo cardiac pacing and resynchronization therapies. *Nature Biotechnology*, *33*(7), 750–754.  
<https://doi.org/10.1038/nbt.3268>
- Oesterhelt, D., & Stoeckenius, W. (1971). Rhodopsin-like protein from the purple membrane of halobacterium halobium. *Nature New Biology*, *233*(39), 149–152. <https://doi.org/10.1038/newbio233149a0>
- Okumoto, S., Looger, L. L., Micheva, K. D., Reimer, R. J., Smith, S. J., & Frommer, W. B. (2005). Detection of glutamate release from neurons by genetically encoded surface-displayed FRET nanosensors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *102*(24), 8740–8745.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0503274102>
- Ollendick, T. H., Benoit, K. E., & Grills-Taquechel, A. E. (2014). Social anxiety disorder in children and adolescents. In J. W. Weeks (Ed.), *The Wiley*

- Blackwell Handbook of Social Anxiety Disorder* (pp. 179–200). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118653920.ch9>
- Olofsson, N., Lazaridis, I., Meletis, K. & Carlén, M. (2015). Lasers, optics enhance optogenetics studies. *BioPhotonics*.
- Packer, A. M., Roska, B., & Häusser, M. (2013). Targeting neurons and photons for optogenetics. *Nature Neuroscience*, *16*(7), 805–815.  
<https://doi.org/10.1038/nn.3427>
- Παπαθεοδωρόπουλος, Κ. (2015). Έννοιες στην επιστήμη της μνήμης. [ηλεκτρ. βιβλ.] Αθήνα: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών.
- Peterka, D. S., Takahashi, H., & Yuste, R. (2011). Imaging voltage in neurons. *Neuron*, *69*(1), 9–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.12.010>
- Piacentini, J., & Roblek, T. (2002). Recognizing and treating childhood anxiety disorders. *The Western Journal of Medicine*, *176*(3), 149–151.
- Pilkington, K., Kirkwood, G., Rampes, H., Cummings, M., & Richardson, J. (2007). Acupuncture for anxiety and anxiety disorders--a systematic literature review. *Acupuncture in Medicine: Journal of the British Medical Acupuncture Society*, *25*(1–2), 1–10.
- Piñol, R. A., Jameson, H., Popratiloff, A., Lee, N. H., & Mendelowitz, D. (2014). Visualization of oxytocin release that mediates paired pulse facilitation in hypothalamic pathways to brainstem autonomic neurons. *PLoS ONE*, *9*(11), e112138. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112138>
- Plachetzki, D. C., & Oakley, T. H. (2007). Key transitions during the evolution of animal phototransduction: novelty, “tree-thinking,” co-option, and co-duplication. *Integrative and Comparative Biology*, *47*(5), 759–769.  
<https://doi.org/10.1093/icb/icm050>

- Porter, M. L., Blasic, J. R., Bok, M. J., Cameron, E. G., Pringle, T., Cronin, T. W., & Robinson, P. R. (2012). Shedding new light on opsin evolution. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1726), 3–14.  
<https://doi.org/10.1098/rspb.2011.1819>
- Qian, J., & Noebels, J. L. (2005). Visualization of transmitter release with zinc fluorescence detection at the mouse hippocampal mossy fibre synapse: Vesicular zinc release at mossy fibre synapses. *The Journal of Physiology*, 566(3), 747–758. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.089276>
- Ramirez, S., Liu, X., MacDonald, C. J., Moffa, A., Zhou, J., Redondo, R. L., & Tonegawa, S. (2015). Activating positive memory engrams suppresses depression-like behaviour. *Nature*, 522(7556), 335–339.  
<https://doi.org/10.1038/nature14514>
- Raster, M. J., Wise, T. N. & Cai J. (2001). Anxiety and anxiety disorders in medical settings. In D. J. Stein, E. Hollander, & B. O. Rothbaum (Eds.), *Textbook of anxiety disorders*. Arlington, VA, US: American Psychiatric Publishing, Inc.
- Rauch S. L., Cora-Locatelli G. & Greenberg B. D. (2002). Pathogenesis of obsessive-compulsive disorder. In D. J. Stein, E. Hollander, & B. O. Rothbaum (Eds.), *Textbook of anxiety disorders*. Arlington, VA, US: American Psychiatric Publishing, Inc.
- Reiner, A., & Isacoff, E. Y. (2013). The Brain Prize 2013: the optogenetics revolution. *Trends in Neurosciences*, 36(10), 557–560.  
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2013.08.005>
- Riga, D., Matos, M. R., Glas, A., Smit, A. B., Spijker, S., & Van den Oever, M. C. (2014). Optogenetic dissection of medial prefrontal cortex circuitry. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00230>

- Sah, P., Faber, E. S. L., Lopez De Armentia, M., & Power, J. (2003). The amygdaloid complex: Anatomy and physiology. *Physiological Reviews*, *83*(3), 803–834.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2003>
- Saito, T., & Nakatsuji, N. (2001). Efficient gene transfer into the embryonic mouse brain using in vivo electroporation. *Developmental Biology*, *240*(1), 237–246.  
<https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0439>
- Sasson, Y., Chopra, M., Amiaz, R., Iancu, I., & Zohar, J. (2001). Obsessive-compulsive disorder: Diagnostic considerations and an epidemiological update. In E. J. L. Griez, C. Faravelli, D. Nutt, & J. Zohar (Eds.), *Anxiety Disorders* (pp. 157–168). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.  
<https://doi.org/10.1002/0470846437.ch8>
- Schenkl, S., Zgrablić, G., Portuondo-Campa, E., Haacke, S., & Chergui, M. (2007). On the excitation wavelength dependence of the fluorescence of bacteriorhodopsin. *Chemical Physics Letters*, *441*(4–6), 322–326.  
<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2007.04.086>
- Schmidt, N. B., Korte, K. J., Norr, A. M., Keough, M. E., & Timpano, K. R. (2014). Panic disorder and agoraphobia. In P. Emmelkamp & T. Ehring (Eds.), *The Wiley Handbook of Anxiety Disorders* (pp. 321–356). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118775349.ch19>
- Schneier, F. R., Luterek, J., Heimberg, R. G., & Leonardo, E. (2004). Social phobia. In D.J. Stein (Ed.), *Clinical manual of anxiety disorders* (pp. 63-86). Washington, DC: American Psychiatric Publishing, Inc.
- Sekar, R. B., & Periasamy, A. (2003). Fluorescence resonance energy transfer (FRET) microscopy imaging of live cell protein localizations. *The Journal of Cell Biology*, *160*(5), 629–633. <https://doi.org/10.1083/jcb.200210140>

- Senn, V., Wolff, S. B. E., Herry, C., Grenier, F., Ehrlich, I., Gründemann, J., Fadok, J., Müller, C., Letzkus, J. & Lüthi, A. (2014). Long-range connectivity defines behavioral specificity of amygdala neurons. *Neuron*, *81*(2), 428–437.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.11.006>
- Shapiro, F. (2014). The role of eye movement desensitization and reprocessing (EMDR) therapy in medicine: Addressing the psychological and physical symptoms stemming from adverse life experience. *The Permanente Journal*, *71–77*. <https://doi.org/10.7812/TPP/13-098>
- Shin, L. M., & Liberzon, I. (2010). The neurocircuitry of fear, stress and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 169–191.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2009.83>
- Siegel, A., & Sapru, H. N. (2011). *Essential neuroscience* (2. ed). Philadelphia, Pa.: Kluwer [u.a.].
- Siegel, M. S., & Isacoff, E. Y. (1997). A genetically encoded optical probe of membrane voltage. *Neuron*, *19*(4), 735–741.
- Silove, D., & Rees, S. (2014). Separation anxiety disorder across the lifespan: DSM-5 lifts age restriction on diagnosis. *Asian Journal of Psychiatry*, *11*, 98–101.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajp.2014.06.021>
- Simpson, J. H., & Looger, L. L. (2018). Functional imaging and optogenetics in *Drosophila*. *Genetics*, *208*(4), 1291–1309.  
<https://doi.org/10.1534/genetics.117.300228>
- Sohal, V. S., Zhang, F., Yizhar, O., & Deisseroth, K. (2009). Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature*, *459*(7247), 698–702. <https://doi.org/10.1038/nature07991>

- Stamatakis, A. M., & Stuber, G. D. (2012). Activation of lateral habenula inputs to the ventral midbrain promotes behavioral avoidance. *Nature Neuroscience*, *15*(8), 1105–1107. <https://doi.org/10.1038/nn.3145>
- Starcevic, V. (2005). *Anxiety disorders in adults: a clinical guide*. New York: Oxford University Press.
- Steimer, T. (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *4*(3), 231–249.
- Stein, D. J., Hollander, E., & Rothbaum, B. O. (Eds.). (2010). *Textbook of anxiety disorders* (2nd ed). Washington, DC: American Psychiatric Pub.
- Steinberg, E. E., Christoffel, D. J., Deisseroth, K., & Malenka, R. C. (2015). Illuminating circuitry relevant to psychiatric disorders with optogenetics. *Current Opinion in Neurobiology*, *30*, 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.08.004>
- Stephens, M. A. C., & Wand, G. (2012). Stress and the HPA axis: role of glucocorticoids in alcohol dependence. *Alcohol Research: Current Reviews*, *34*(4), 468–483.
- Stone, M. H. (2002). History of anxiety disorders. In D. J. Stein & E. Hollander (eds), *Textbook of anxiety disorders*. Washington, DC: American Psychiatric Publishing.
- Sugg, H. V. R., Richards, D. A., & Frost, J. (2016). Morita therapy for depression and anxiety (Morita Trial): study protocol for a pilot randomised controlled trial. *Trials*, *17*(1). <https://doi.org/10.1186/s13063-016-1279-3>
- Tantama, M., Hung, Y. P., & Yellen, G. (2012). Optogenetic reporters. In *Progress in Brain Research* (Vol. 196, pp. 235–263). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59426-6.00012-4>

- The News Staff. (2010). Stepping away from the trees for a look at the forest. *Science*, 330(6011), 1612–1613. <https://doi.org/10.1126/science.330.6011.1612>
- Tian, L., Hires, S. A., & Looger, L. L. (2012). Imaging neuronal activity with genetically encoded calcium indicators. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2012(6). <https://doi.org/10.1101/pdb.top069609>
- Ting, J. T., & Feng, G. (2014). Recombineering strategies for developing next generation BAC transgenic tools for optogenetics and beyond. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00111>
- Tonnesen, J., Sorensen, A. T., Deisseroth, K., Lundberg, C., & Kokaia, M. (2009). Optogenetic control of epileptiform activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(29), 12162–12167. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901915106>
- Touriño, C., Eban-Rothschild, A., & de Lecea, L. (2013). Optogenetics in psychiatric diseases. *Current Opinion in Neurobiology*, 23(3), 430–435. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2013.03.007>
- Tovote, P., Fadok, J. P., & Lüthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 317–331. <https://doi.org/10.1038/nrn3945>
- Towne, C., & Thompson, K. R. (2016). Overview on research and clinical applications of optogenetics: Overview of optogenetics. In S. J. Enna, M. Williams, R. Frechette, T. Kenakin, P. McGonigle, & B. Ruggeri (Eds.), *Current Protocols in Pharmacology* (pp. 11.19.1-11.19.21). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/cpph.13>
- Tye, K. M., Prakash, R., Kim, S.-Y., Fenno, L. E., Grosenick, L., Zarabi, H., Thompson, K. R., Gradinaru, V., Ramakrishnan, C. & Deisseroth, K. (2011).



- Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety. *Nature*, 471(7338), 358–362. <https://doi.org/10.1038/nature09820>
- Veliskova, J., & Moshe, S. L. (2006). Update on the role of substantia nigra pars reticulata in the regulation of seizures. *Epilepsy Currents*, 6(3), 83–87. <https://doi.org/10.1111/j.1535-7511.2006.00106.x>
- Vennewald, N., Diemer, J., & Zwanzger, P. (2013). Repetitive transkranielle Magnetstimulation (rTMS) bei Angsterkrankungen - eine mögliche Therapieoption? *Fortschritte der Neurologie · Psychiatrie*, 81(10), 550–560. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1335979>
- Viana, A. G., Beidel, D. C., & Rabian, B. (2009). Selective mutism: A review and integration of the last 15 years. *Clinical Psychology Review*, 29(1), 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2008.09.009>
- Wang, L., Huang, K., Zhong, C., Wang, L., & Lu, Y. (2018). Fabrication and modification of implantable optrode arrays for in vivo optogenetic applications. *Biophysics Reports*, 4(2), 82–93. <https://doi.org/10.1007/s41048-018-0052-4>
- Wang, Y., Yau, Y.-Y., Perkins-Balding, D., & Thomson, J. G. (2011). Recombinase technology: applications and possibilities. *Plant Cell Reports*, 30(3), 267–285. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0938-1>
- Warden, M. R., Cardin, J. A., & Deisseroth, K. (2014). Optical neural interfaces. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 16(1), 103–129. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-104733>
- Williams, A. M., Richardson, G. & Galovski, T. E. (2013). Posttraumatic stress disorder. In S. M. Stahl & B.A. Moore (coord.). *Anxiety disorders: A guide for integrating psychopharmacology and psychotherapy*, Routledge Press, New

York, NY.

- Witten, I. B., Lin, S.-C., Brodsky, M., Prakash, R., Diester, I., Anikeeva, P., Gradinaru, V., Ramakrishnan, C. & Deisseroth, K. (2010). Cholinergic interneurons control local circuit activity and cocaine conditioning. *Science*, 330(6011), 1677–1681. <https://doi.org/10.1126/science.1193771>
- Witter, M. P. (2009). Hippocampal formation. In M. D. Binder, N. Hirokawa, & U. Windhorst (Eds.), *Encyclopedia of Neuroscience* (pp. 1840–1845). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2\\_2212](https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2_2212)
- Wolff, S. B. E., Gründemann, J., Tovote, P., Krabbe, S., Jacobson, G. A., Müller, C., Herry, C., Ehrlich, I., Friedrich, R.W., Letzkus, J. J. & Lüthi, A. (2014). Amygdala interneuron subtypes control fear learning through disinhibition. *Nature*, 509(7501), 453–458. <https://doi.org/10.1038/nature13258>
- Wolgensinger, L. (2015). Cognitive behavioral group therapy for anxiety: recent developments. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 17(3), 347–351.
- Χριστοπούλου Α. (2008). *Εισαγωγή στην ψυχοπαθολογία του ενήλικα*. Αθήνα, Εκδόσεις Τόπος.
- Yehuda, R. & Sarapas, C. (2010). Pathogenesis of posttraumatic stress disorder and acute stress disorder. In D. J. Stein, E. Hollander, & B. O. Rothbaum (Eds.), *Textbook of anxiety disorders*. Arlington, VA, US: American Psychiatric Publishing, Inc
- Yehuda, R. & Wong, C. (2001). Pathogenesis for posttraumatic stress disorder and acute stress. In D. J. Stein, E. Hollander, & B. O. Rothbaum (Eds.), *Textbook of anxiety disorders*. Arlington, VA, US: American Psychiatric Publishing, Inc.

- Yilmazer-Hanke, D. (Ed.). (2012). *Insights into the amygdala: structure, functions, and implications for disorders*. [Hauppauge] New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Yizhar, O., Fenno, L. E., Davidson, T. J., Mogri, M., & Deisseroth, K. (2011). Optogenetics in neural systems. *Neuron*, *71*(1), 9–34.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.06.004>
- Yuste, R. (2015). From the neuron doctrine to neural networks. *Nature Reviews Neuroscience*, *16*(8), 487–497. <https://doi.org/10.1038/nrn3962>
- Zemelman, B. V., Lee, G. A., Ng, M., & Miesenböck, G. (2002). Selective photostimulation of genetically chARGEd neurons. *Neuron*, *33*(1), 15–22.
- Zhang, F., Aravanis, A. M., Adamantidis, A., de Lecea, L., & Deisseroth, K. (2007). Circuit-breakers: optical technologies for probing neural signals and systems. *Nature Reviews Neuroscience*, *8*(8), 577–581. <https://doi.org/10.1038/nrn2192>
- Zhang, F., Prigge, M., Beyrière, F., Tsunoda, S. P., Mattis, J., Yizhar, O., Hegemann, P. & Deisseroth, K. (2008). Red-shifted optogenetic excitation: a tool for fast neural control derived from *Volvox carteri*. *Nature Neuroscience*, *11*(6), 631–633. <https://doi.org/10.1038/nn.2120>
- Zhang, F., Vierock, J., Yizhar, O., Fenno, L. E., Tsunoda, S., Kianianmomeni, A., Prigge, M., Berndt, A., Cushman, J., Polle, J., Magnuson, J., Hegemann, P. & Deisseroth, K. (2011). The microbial opsin family of optogenetic tools. *Cell*, *147*(7), 1446–1457. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.12.004>
- Zhao, S., Cunha, C., Zhang, F., Liu, Q., Gloss, B., Deisseroth, K., Augustine, G. J. & Feng, G. (2008). Improved expression of halorhodopsin for light-induced silencing of neuronal activity. *Brain Cell Biology*, *36*(1-4), 141-154.  
[doi:10.1007/s11068-008-9034-7](https://doi.org/10.1007/s11068-008-9034-7)

## Abstract

Optogenetics is a technique that uses genetic and optical methods. Over the last few years, there has been an increasing interest in the use of optogenetics in the research of mental disorders. This paper constitutes a bibliographic examination of the use of optogenetics in the research of anxiety disorders. Initially, this essay will report the methods of optogenetics, the tools used, and the procedures that accompany it. In the second part, the thesis will focus on anxiety disorders and, especially, on their categorization, their symptomatology and the causes of their occurrence. In the third chapter, studies and research findings will be presented, where methods of optogenetics are applied to neuronal circuits associated with anxiety and fear. Finally, in the concluding chapter of the paper, restrictions and thoughts on the future use of optogenetics will be addressed. This work is expected to highlight the use of optogenetics in the research of anxiety disorders, primarily, through the presentation of the way, in which optogenetics is used in this field, and, also, through the exposition of findings, that have, already, revealed hidden aspects of the neurobiological basis of fear and anxiety. Additionally, it aims to link the fields of optogenetics and psychopathology, in the light of the interdisciplinarity, which characterizes neuroscience.

*Keywords: Optogenetics, anxiety disorders, psychopathology*

