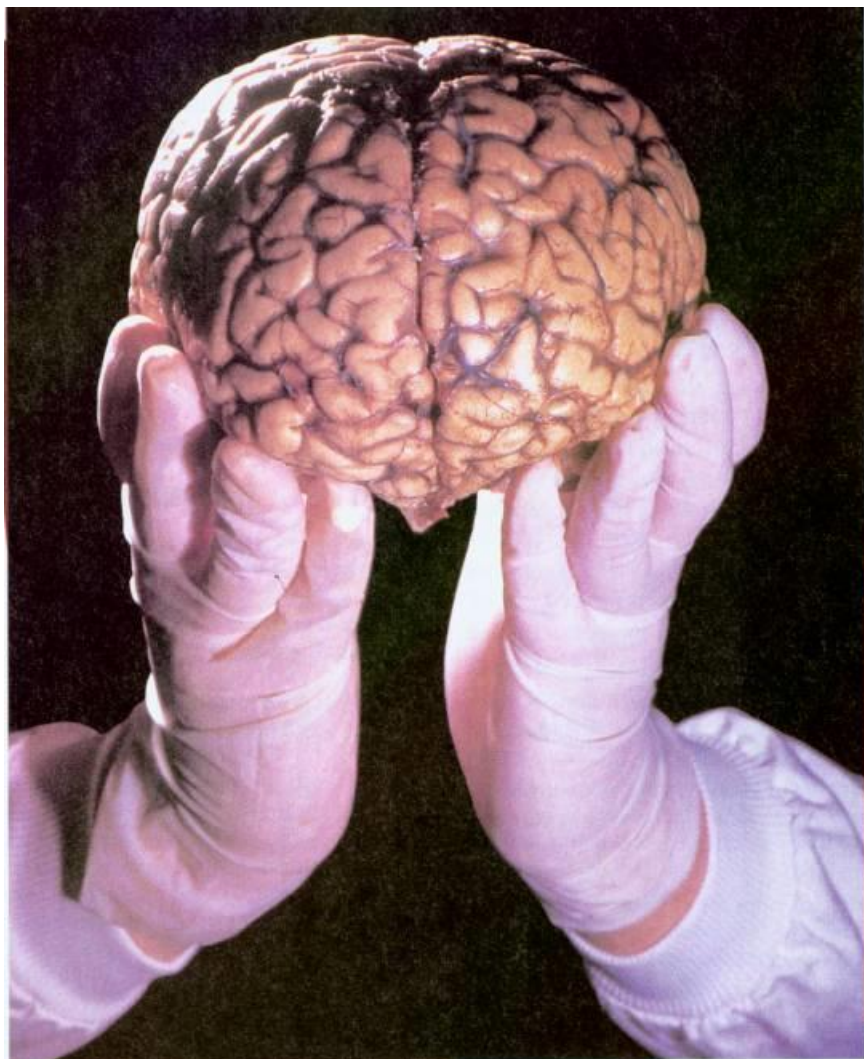


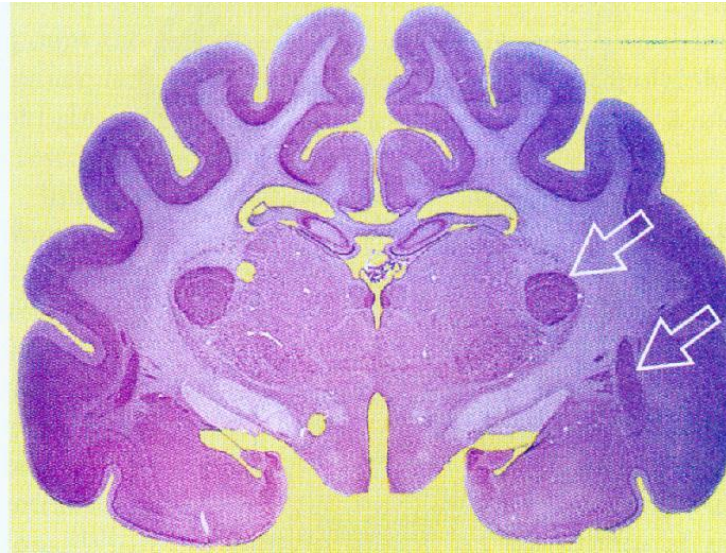
יסודות ביולוגיים של התנהגות



שיטות מחקר

שיטות לחקר המבנה של המוח

1. שיטות נירואנטומיות

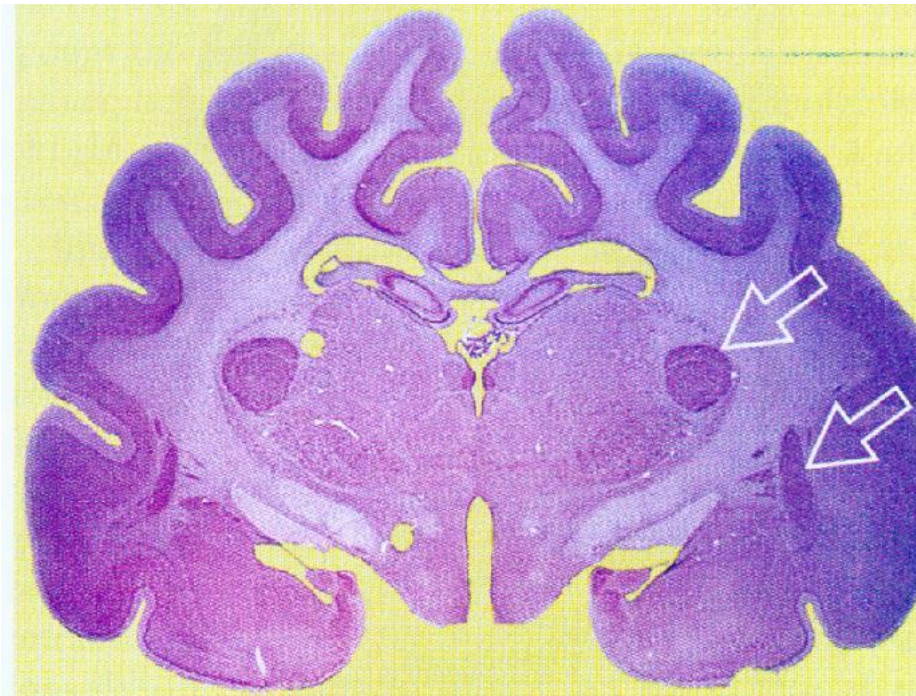


2. שיטות הדמיה

- Computed Tomography (CT scan)
- MRI (הדמיית תהודה מגנטית)

טכניקות נוירואנטומיות

כשמסתכלים על המח או על חתכים שלו בעין בלתי מזוינת, ניתן להבחין רק בגבולות שבין צברי תאים גדולים (חמר אפור) לבין אזורים של אקסונים (חמר לבן). כדי לראות פרטים יותר קטנים ומדויקים יש צורך בשיטות היסטולוגיות שבהן רקמת המח נצבעת בדרכים שונות שמאפשרות בחינת אזורי המח תחת מיקרוסקופ. בתהליך ההיסטולוגי מוציאים את המח, של האדם או של חית ניסוי מהגולגולת, מקבעים אותו (בעזרת חומרי שימור, כמו פורמלין), וחותכים ממנו חתכים מאד דקים של אלפיות המילימטר במכשיר שנקרא מיקרוטום. את החתכים מניחים על "זכוכית נושא" (slide), ואז ניתן לצבוע רכיבים עצביים שונים כדי להבליטם וכך לראות פרטים שונים.



הצביעה מתבצעת בדרך כלל ע"י טבילה של החתכים בתמיסה שמכילה את חמר הצבע – למשל החמר Cresyl violet שצובע רכיבים בציטופלסמה ומאפשר לראות את הגבולות של התאים.

צביעה היסטולוגית לבחינת הרס (lesion) באזור מוחי (ההיפוקמפוס) בחיות ניסוי

הצביעה ההיסטולוגית מאפשרת

לראות את הנזק שנגרם לאזור

ההיפוקמפוס בעכברים

חתך מהאזור הקידמי של ההיפוקמפוס

חתך מהאזור האמצעי של ההיפוקמפוס

חתך מהאזור האחורי של ההיפוקמפוס

מח נורמלי

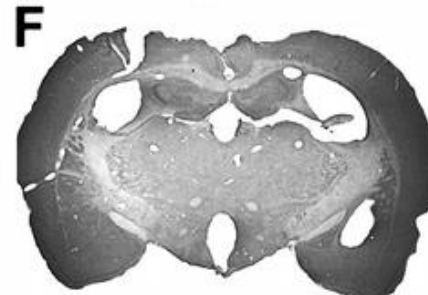
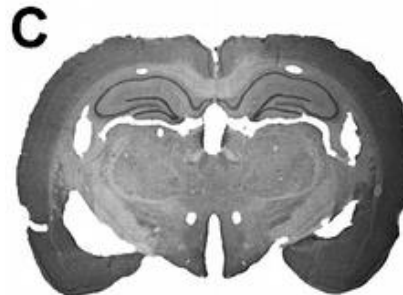
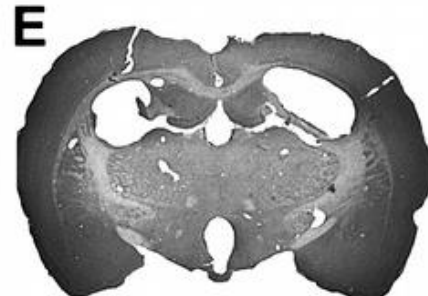


מח עם הרס

היפוקמפלי



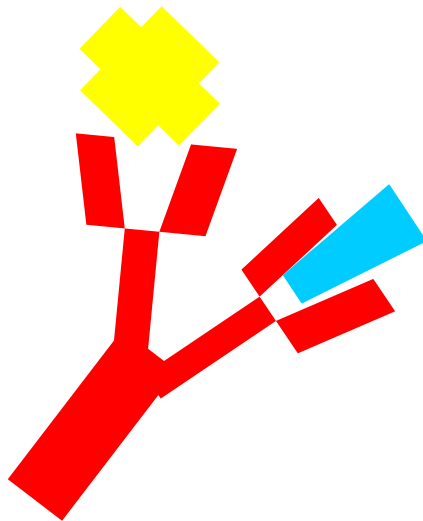
אזור ההרס



תהליכי זיהוי במע' החיסון וצביעה אימונוהיסטוכימית

ההיסטולוגיה הקלסית מאפשרת לצבוע מרכיבים גלובליים של התא, אבל כדי להשיג צביעה לחמרים מסוימים, משתמשים בשיטות שמתבססות על הספציפיות של מערכת החיסון (אימונוהיסטוכימיה)

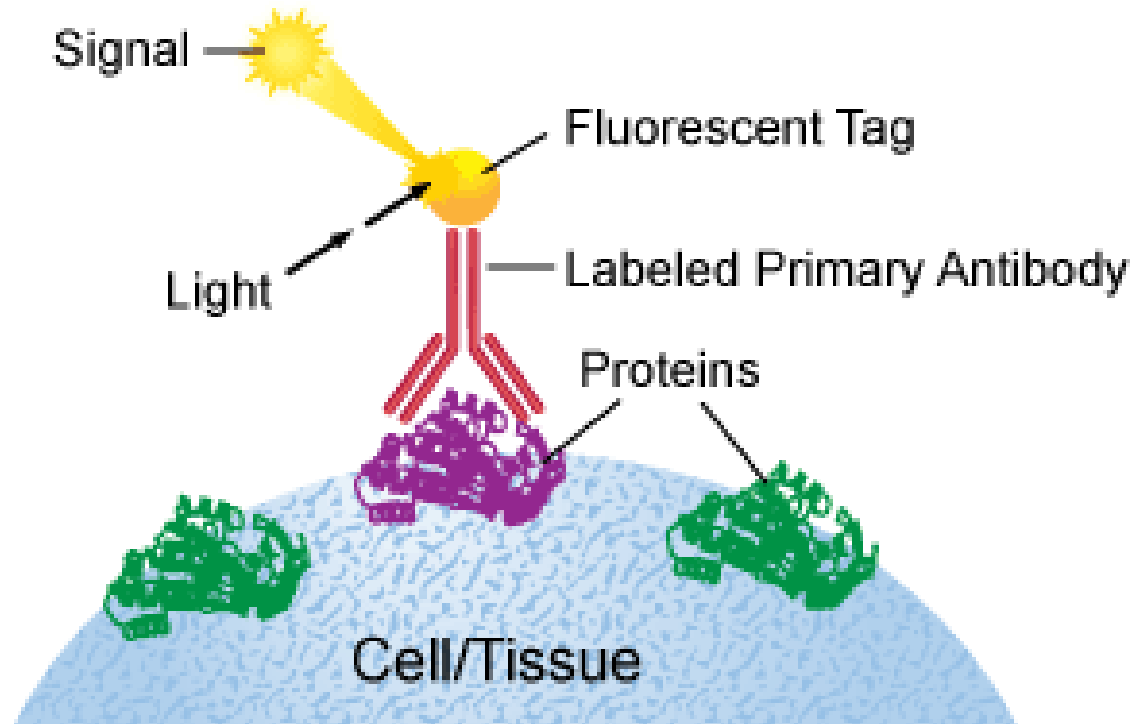
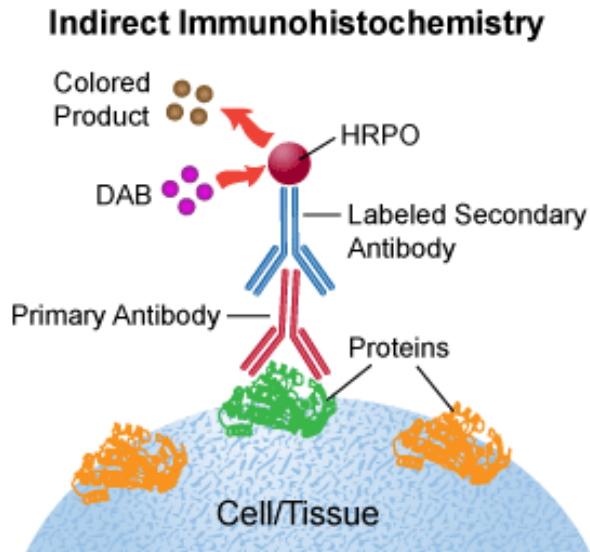
- **אנטיגן – חלבון** המזוהה ע"י מערכת החיסון.
- **נוגדן –** חלבונים המיוצרים ע"י ידי מערכת החיסון ומסוגלים לזהות ולקשור אנטיגנים. כל נוגדן מכיר רק אנטיגן אחד.
- בצביעה אימונוהיסטוכימית לא ישירה לוקחים חתך של הרקמה, מניחים על זכוכית נושא וחושפים לתמיסה המכילה "נוגדן ראשוני", שנצמד בחזקה ובאופן ספציפי למולקולה הנחקרת. בשלב שני חושפים את החתך ל"נוגדן שניוני", שנצמד באופן ספציפי לנוגדן הראשון. הנוגדן השניוני קשור לאנזים, שכאשר מספקים לו חומר גלם שקוף האנזים הופך אותו לצבע.



תהליכי זיהוי במע' החיסון וצביעה

אימונוהיסטוכימיה (ישירה באמצעות סמן פלורוסנטי)

לעומת הצביעה הלא ישירה (שתוארה בשקף הקודם ובתמונה משמאל), בשנים האחרונות פותחו נוגדנים שקשורים לתמרים שזוהרים באור פלורוסנטי כשמאירים עליהם בקרן לייזר (באורך גל מסוים). זה מפשט את הצביעה ונותן תמונות יותר חדות ויפות.

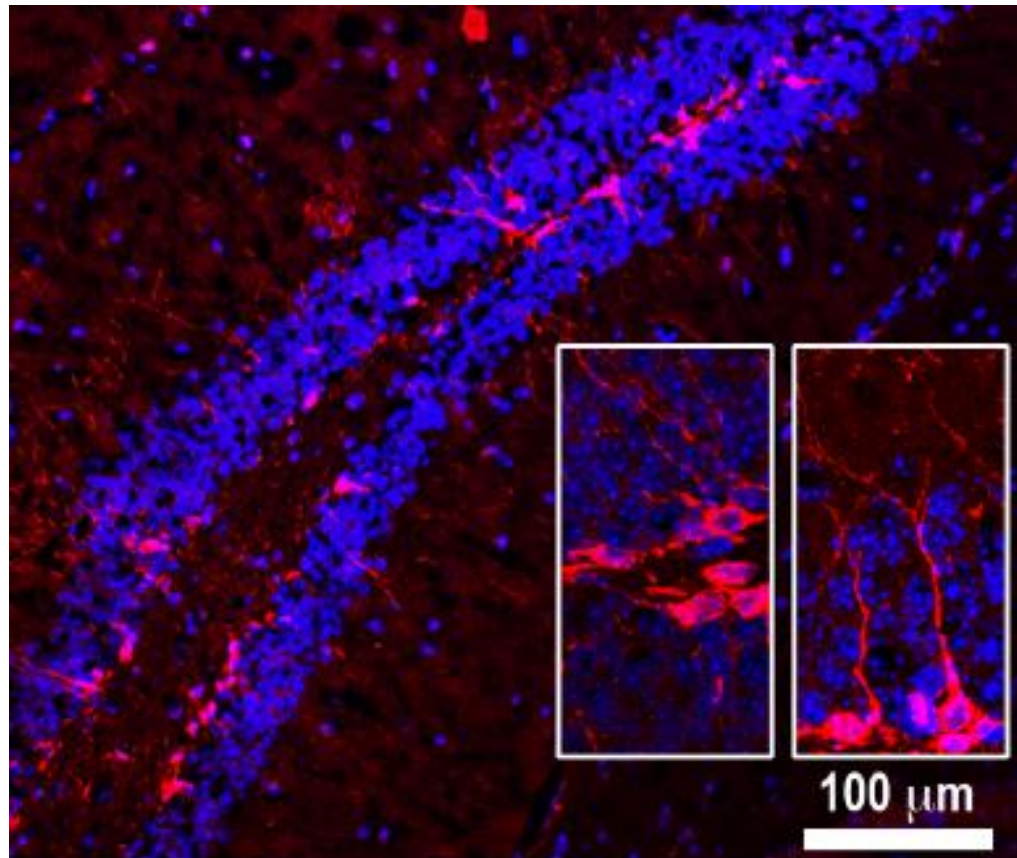


שיטה זאת נקראת

Immunofluorescence

צביעות נוירונים המייצרים חומרים ספציפיים

נוירופפטידים וחלבונים ניתן לסמן באופן ישיר ע"י אימונוהיסטוכימיה

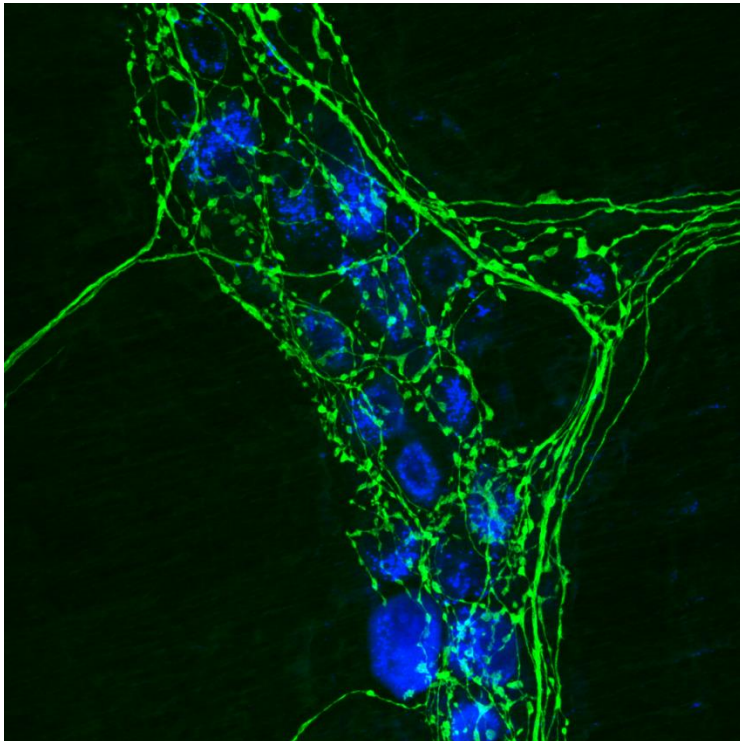


החלבון Doublecortin מסונטז
רק על ידי נוירונים "צעירים"
(בשבועיים הראשונים לאחר
החלוקה). באמצעות נוגדן
ספציפי מחובר לצבען פלורוסנטי
אדום ניתן לצבוע תאים שעברו
נוירוגנזה במח הבוגר. צבען
פלורוסנטי נוסף (כחול =
DAPI) מסמן גרעיני תאים.

צביעות נוירונים המייצרים חומרים ספציפיים

אימונוהיסטוכימיה – רק לחלבונים!

נוירורנסמיטרים קלאסיים אינם חלבונים, לכן לא ניתן לסמנם ישירות, וצריך לסמן את האנזימים המשתתפים בייצורם על מנת לאתר את התאים המפרישים אותם.

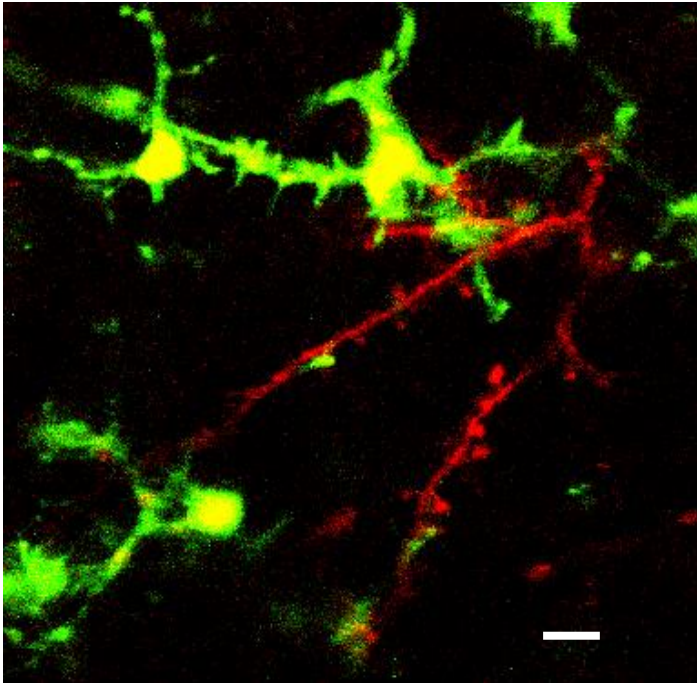


**צביעה אימונוהיסטוכימית של
האנזים TH מראה את
האקסונים והטרמינלים של
נוירונים נוראדרגיים**

החדרה גנטית של סמנים פלואורוסנטיים

ניתן "לסמן" תאים על ידי שיטות של הנדסה גנטית שבהן מחדירים גן של חלבון פלואורוסנטי (כמו חלבון פלואורוסנטי ירוק (GFP) שמתבטא בסוג מסוים של אצות) לתוך תאים מסוימים במח (למשל, כל התאים שמייצרים נוראפינפרין או כל התאים שיש להם רצפטור D2 לדופמין).

דרך נוספת היא להחדיר את הגן של החלבון הפלואורוסנטי לוירוס (שמוחלש כך שהוא לא יכול לגרום למחלה), ואז להזריק את הוירוס לאזור מח שרוצים לחקור. הוירוס נכנס לתאים באזור ו"מדביק אותם" – כלומר נכנס לתוך הגנום של התאים המודבקים. התאים מתחילים לבטא את החלבון הפלואורוסנטי.



תאי מיקרוגליה = Green Fluorescent Protein (GFP)
(דרך הנדסה גנטית)

נוירונים = tdTomato (דרך וקטור ויראלי)

שיטות הדמיה (Imaging) לחקר המבנה של המוח באדם החי



• Computed Tomography
(CT scan)

• MRI (הדמיית תהודה
מגנטית)



Computed Tomography (CT scan)



Allan
Cormack

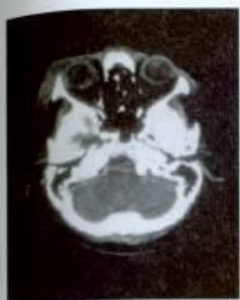


Godfrey
Hounsfield

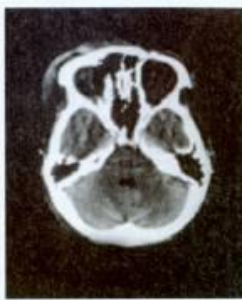
טכניקה שהומצאה ע"י Hounsfield and Cormack בשנות ה-70 (שקיבלו עליה ניתן פרס נובל לרפואה בשנת 1979). הטכניקה מתבססת על רקונסטרוקציה ממוחשבת של כמות קרינת X (צילום רנטגן) שנבלעת על ידי רקמות שונות במח. צילום רנטגן רגיל מתבסס על כך שרקמות שונות בגוף המוקרנות בקרני X סופגות חלק מהקרינה הזו באופן דיפרנציאלי - למשל עצמות סופגות הרבה יותר ולכן ניתן לראות את העצמות ביתר קלות [וילהלם רנטגן, שגילה את קרני X קיבל את פרס הנובל הראשון בפיזיקה ב 1901].

הבעיה בשימוש בצילום רנטגן רגיל של המוח (או של רקמות רכות אחרות) היא שאין הבדלים גדולים בספיגת קרינה בין אזורים שונים (למשל ההבדלים בדחיסות בין חמר אפור וחומר לבן הם קטנים, פחות מ-1%).

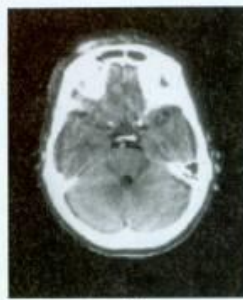
ה-CT מתגבר על בעיה זו בעזרת חיישנים (דטקטורים) יותר טובים של קרינה וע"י שיטות מיוחדות שמגבירות את הקונטרסט בין אזורים שונים, גם כאלה ששונים זה מזה במידה מאד מעטה מבחינת ספיגת הקרינה.



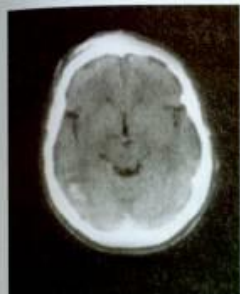
(1)



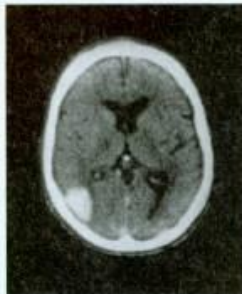
(2)



(3)



(4)

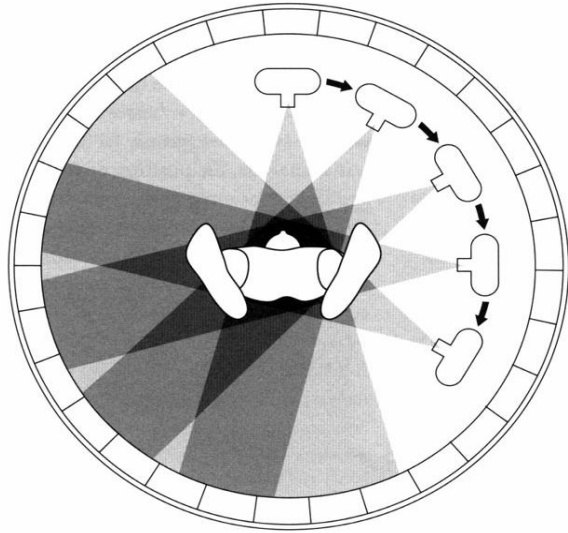


(5)

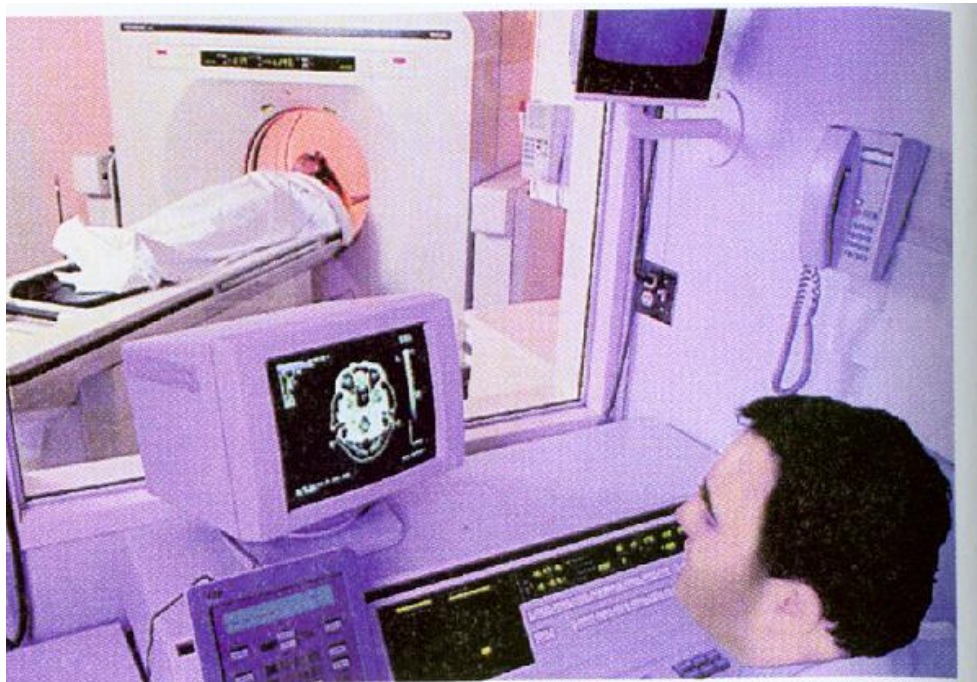


(6)

Computed Tomography (CT scan)

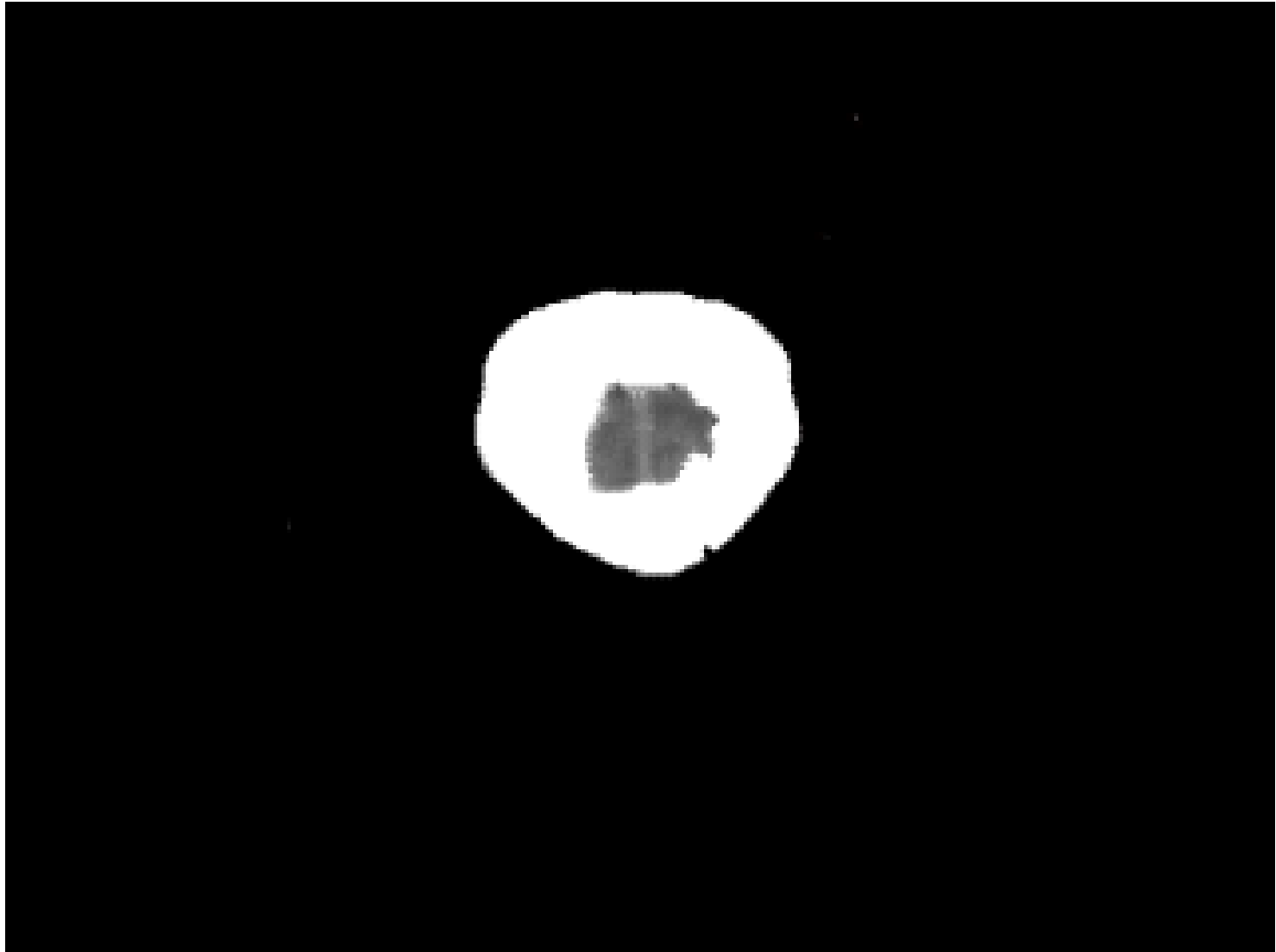


מכשיר ה-CT כולל מקור קרני X שמסתובב סביב לאובייקט (למשל המח) ב- 360° . בצד הנגדי למקור הקרינה יש חיישנים של קרינה. נתוני עוצמת הקרינה מועברים למחשב שמרכיב את תמונת החתך כולו. הסריקה מתבצעת תוך כדי הזזה (התקדמות) איטית של הראש. בדרך זו המחשב יוצר רקונסטרוקציה תלת מימדית של המח כולו.



בעיות עיקריות:
רזולוציה בינונית שלא מאפשרת לראות פרטים קטנים.
כמות הקרינה שהנבדק נחשף אליה איננה מבוטלת, ועלולה להעלות את הסיכוי שלו לחלות בסרטן.

חקר מבנה המוח באדם החי - CT





(Magnetic Resonance imaging) MRI

הדמיית תהודה מגנטית



Paul C. Lauterbur

Sir Peter Mansfield

ה-MRI היא שיטת הדמיה אשר מתבססת על התכונות הפנימיות של רקמות בגוף כך שאין צורך בפליטה של אנרגיה המוזרקת מבחוץ (פרס נובל ללאוטרבור ומנספילד ב-2003). הפיזיקה של MRI די מורכבת: בקצרה ובאופן פשטני, המכשיר מאפשר ליצור שדה מגנטי חזק מאד (פי עשרות אלפים מהשדה המגנטי של כדור הארץ). כאשר שמים אטומים מסוימים (למשל מימן) בשדה מגנטי חזק זה נגרמת להם תנועת סיבוב מהירה והם פולטים קרינה בגלי רדיו.

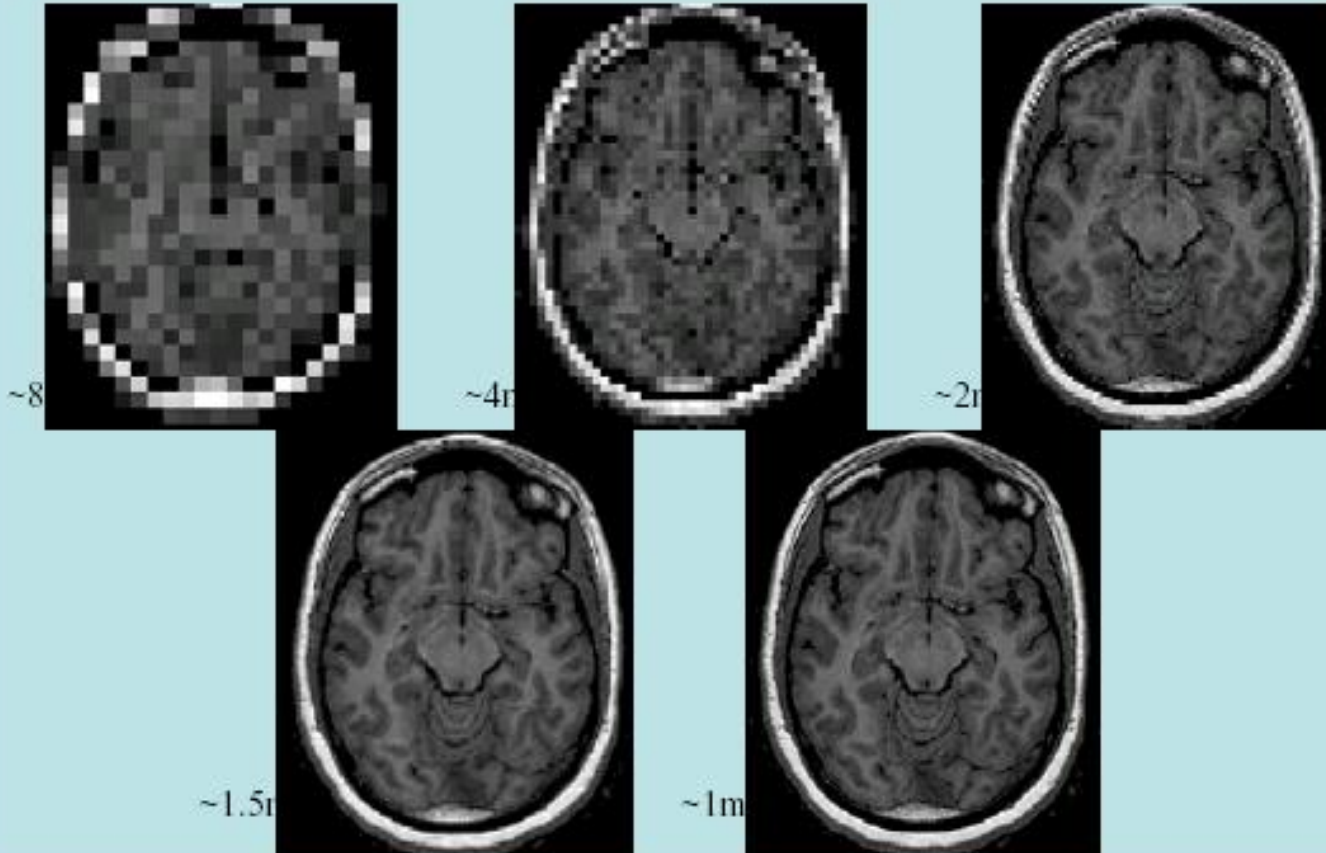
החיישנים מסביב למח קולטים את קרינה את שנפלטת מאטומי מימן הנמצאים בשדה מגנטי חזק. כיוון שכל הרקמות מכילות הרבה (למעלה מ-60%) מים (H_2O), וכיון שרקמות שונות מכילות כמויות שונות של מים, ניתן על סמך נתוני הקרינה הזו להרכיב תמונה של המח. למשל חומר אפור מכיל יותר מים מחומר לבן ויראה בתמונה בצורה מאוד מובחנת. עצמות למשל, מכילות מעט מים ולכן כמעט ולא יראו בתמונה זו (מקל על זהוי איזורים קרובים לעצם).

יתרונות ה-MRI: (1) רזולוציה מצוינת. (2) אין חשיפה לקרינה.



עוצמת המגנט קובעת את הרזולוציה המרחבית של התמונה: ככל שהעוצמה יותר גבוהה (ביחידות Tesla) כך הרזולוציה יותר גבוהה

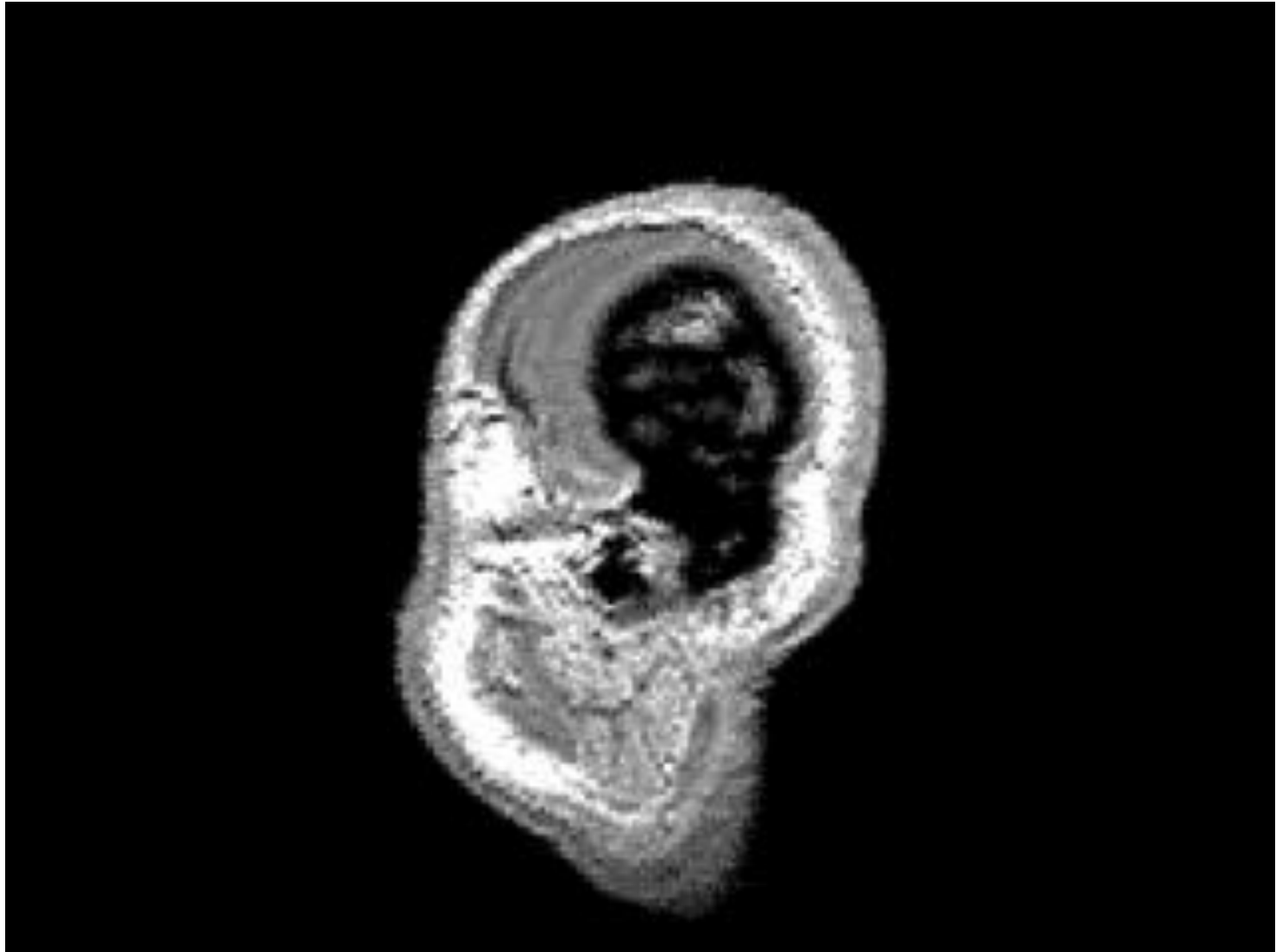
Spatial resolution – examples



MRI- frontal sections



MRI- Sagittal sections



שיטות לחקר התפקוד של המוח

1. הרס אזורי מוח

2. רישום פעילות חשמלית

- רישום אלקטרופיזיולוגי מתאים בודדים
- EEG
- ERP

3. שיטות הדמיה

- Positron Emission Tomography (PET)
- Functional MRI (fMRI)

4. מניפולציות מוחיות

- גרוי חשמלי
- גרייה מגנטית
- מניפולציות נוירוכימיות
- אופטוגנטיקה



הרס אזורי מח



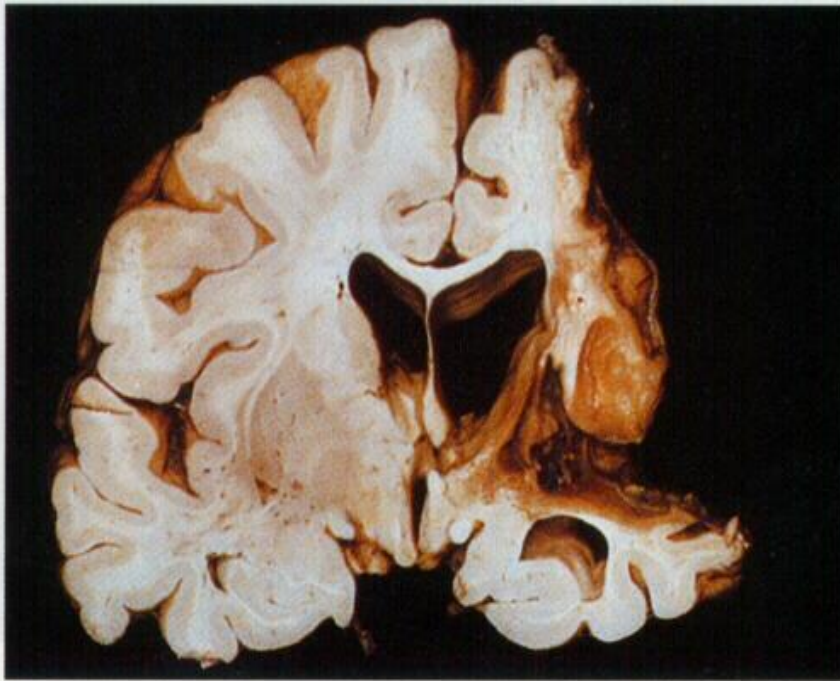
Phineas Gage's accident took place on September 13, 1848.



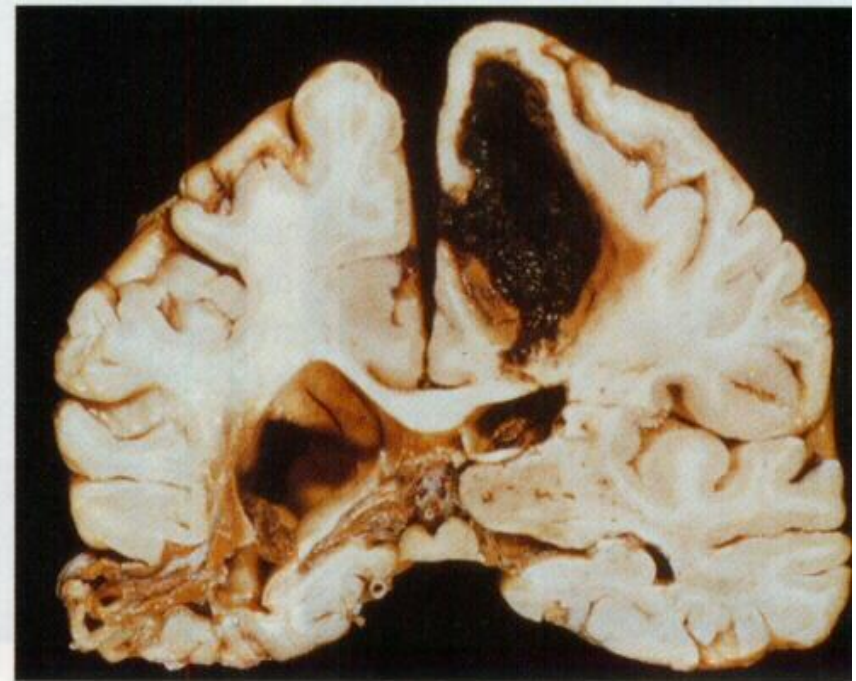
חלק חשוב מהידע שיש לנו על התפקיד ההתנהגותי של אזורי מח נצבר מתצפיות וניסויים בבני אדם שעברו נזק מוחי, כתוצאה מתהליכים ואירועים שונים (למשל, המקרה של פיניאס גייג').

הרס אזורי מח בבני אדם

נזק בעקבות חסימת
העורק המוחי האמצעי

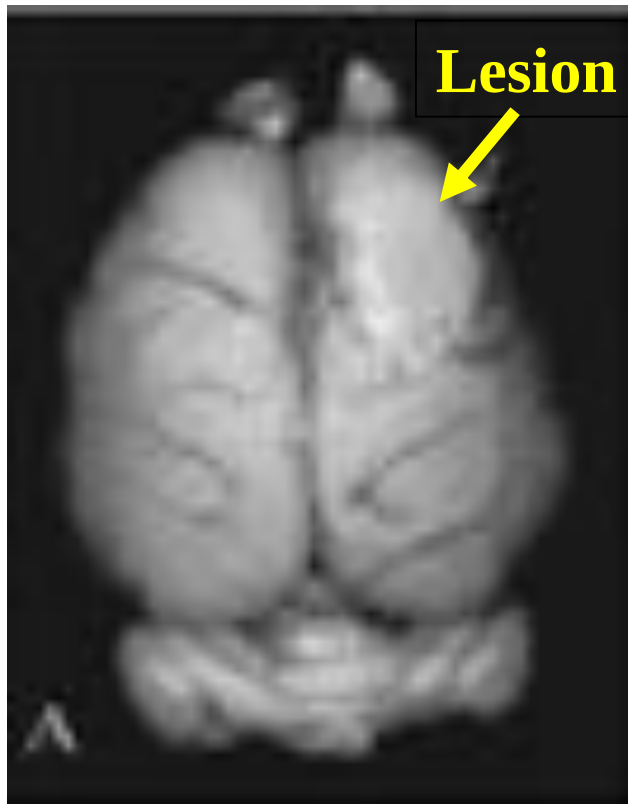


נזק בעקבות
שטף דם מוחי

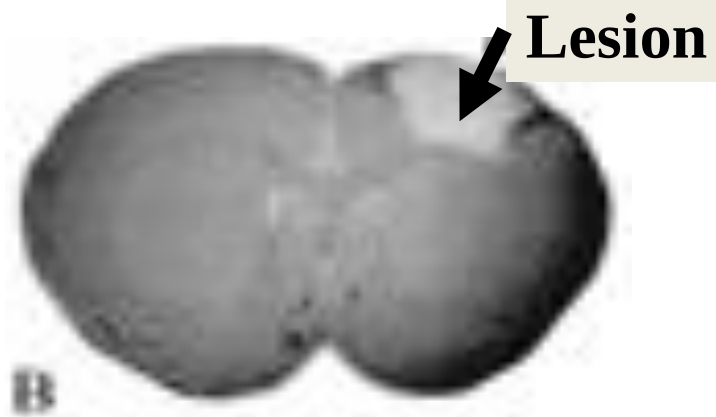


באדם, הנזק בדרך כלל נגרם ע"י בעיה בזרימת דם שגורמת להרס בכל האזורים שהעורק נמצא בהם, כלומר לא לנזק שתחום לאזור ספציפי כלשהוא. הנזק יכול גם להגרם על ידי מחלה מוחית גלובלית, שאיננה תחומה לאזור ספציפי (מחלת פרקינסון היא דוגמא למחלה שכן פוגעת באזור ספציפי ולכן הידע עליה ועל תפקוד ה-Substantia Nigra רב יותר מאשר על מחלות אחרות ואזורים אחרים).

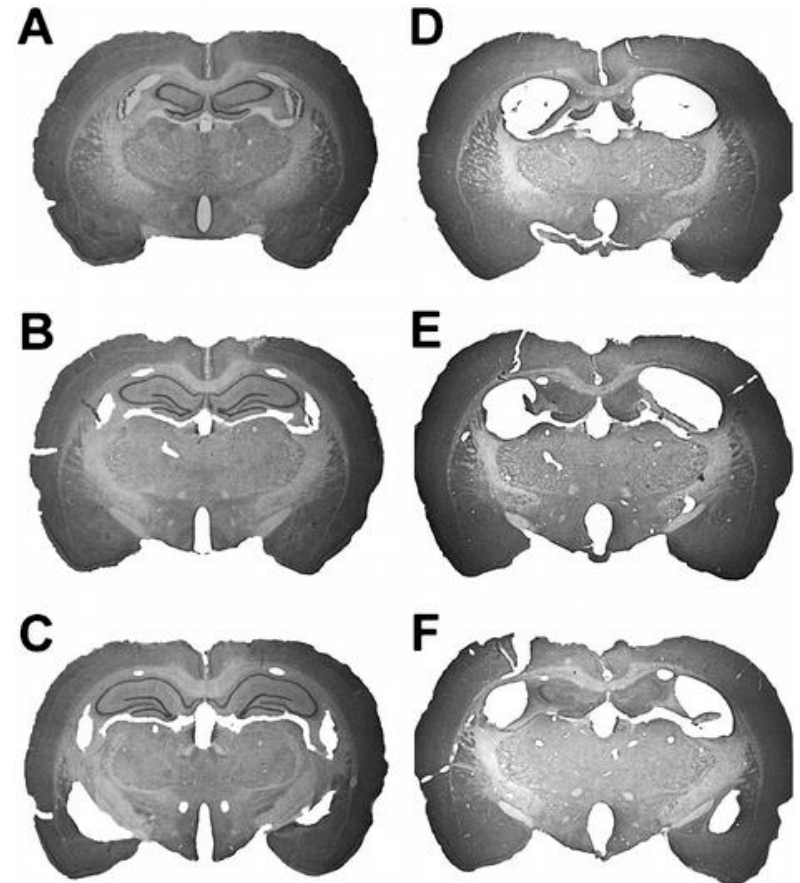
הרס ניסויי בחיות ניסוי (בדר"כ מכרסמים)



הרס באזור הקורטקס הפרונטלי

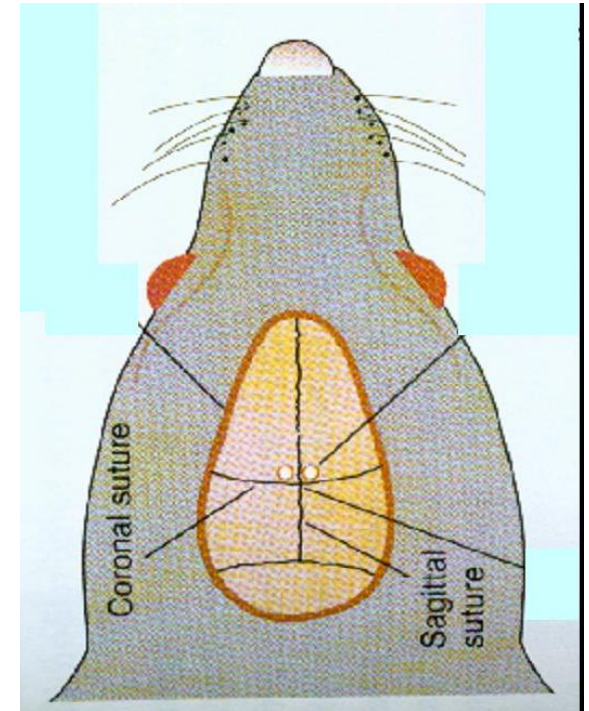
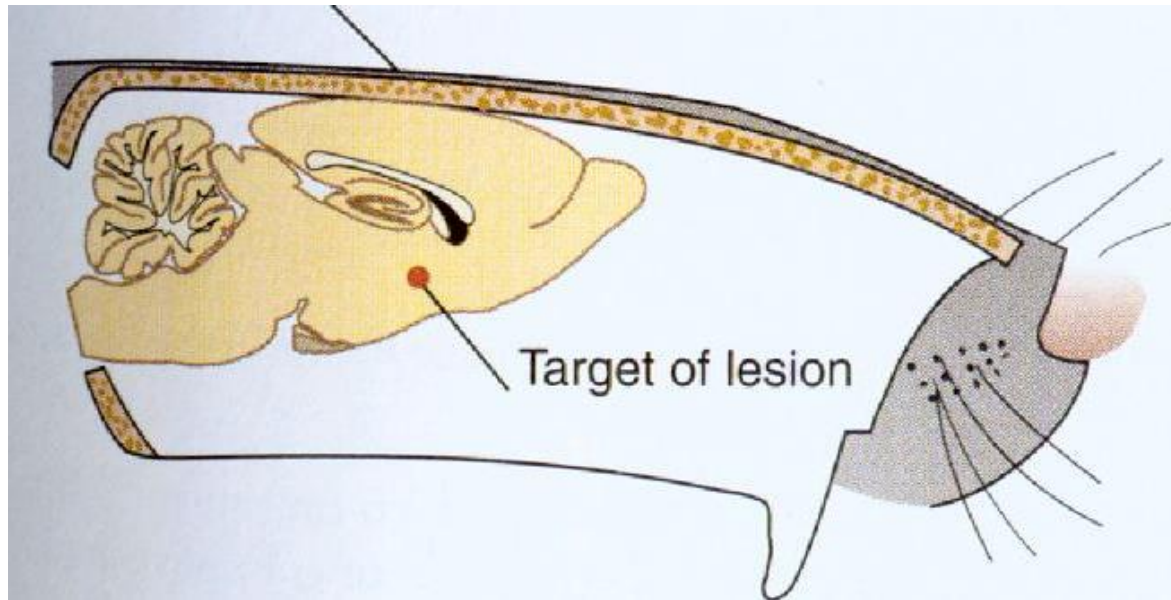


הרס באזור ההיפוקמפוס

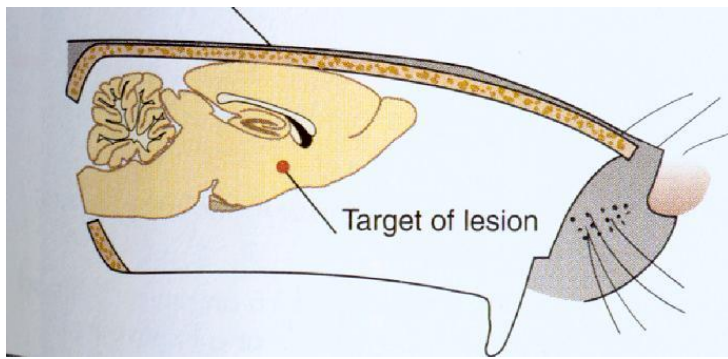


כדי לחקור באופן יותר מדויק את הקשר בין מבנה לתפקוד גורמים לנזק או הרס של אזורים מוגדרים בחיות ניסוי ובוחנים את התוצאות התנהגותיות.

ניתוח סטריאוטקסי (לפי נקודות ייחוס על פני הגולגולת)

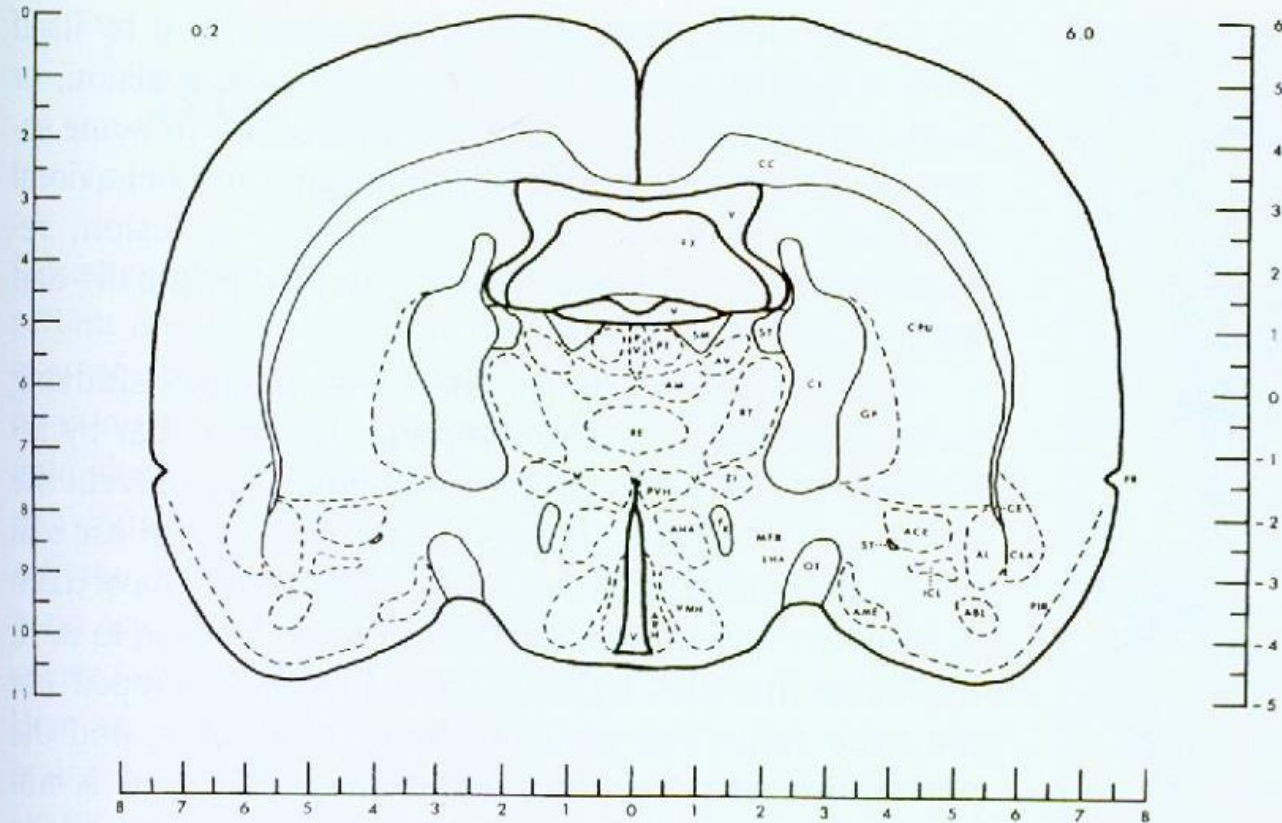


כדי לעשות לזיה באזור ספציפי משתמשים במכשיר ניתוח סטריאוטקסי. מכשיר זה מאפשר להגיע באופן מדויק ולעשות מניפולציה בכל אזור במבנה התלת מימדי של המוח. משתמשים במכשיר כזה גם בניתוחי מח באדם וגם באופן ניסויי. כדי לכוון למיקום ספציפי במח צריך למדוד נקודות ייחוס על גבי הגולגולת של האדם או החיה ולהשתמש באטלס סטריאוטקסי שמציין את המיקום התלת-מימדי של כל נקודה במח ביחס לאותן נקודות על גבי הגולגולת.



באטלס יש דפים שכל אחד מהם הוא תרשים של
חתך קורונלי שנעשה בסדר עוקב מהחלק
הפרונטלי עד לחלק הקאודלי. בכל חתך יש
קואורדינטות במישור הדורסלי-ונטרלי והמישור
המדיאלי-לטרלי.

6 מ"מ אחורית ל"תפר" הקדמי בעצמות הגולגולת

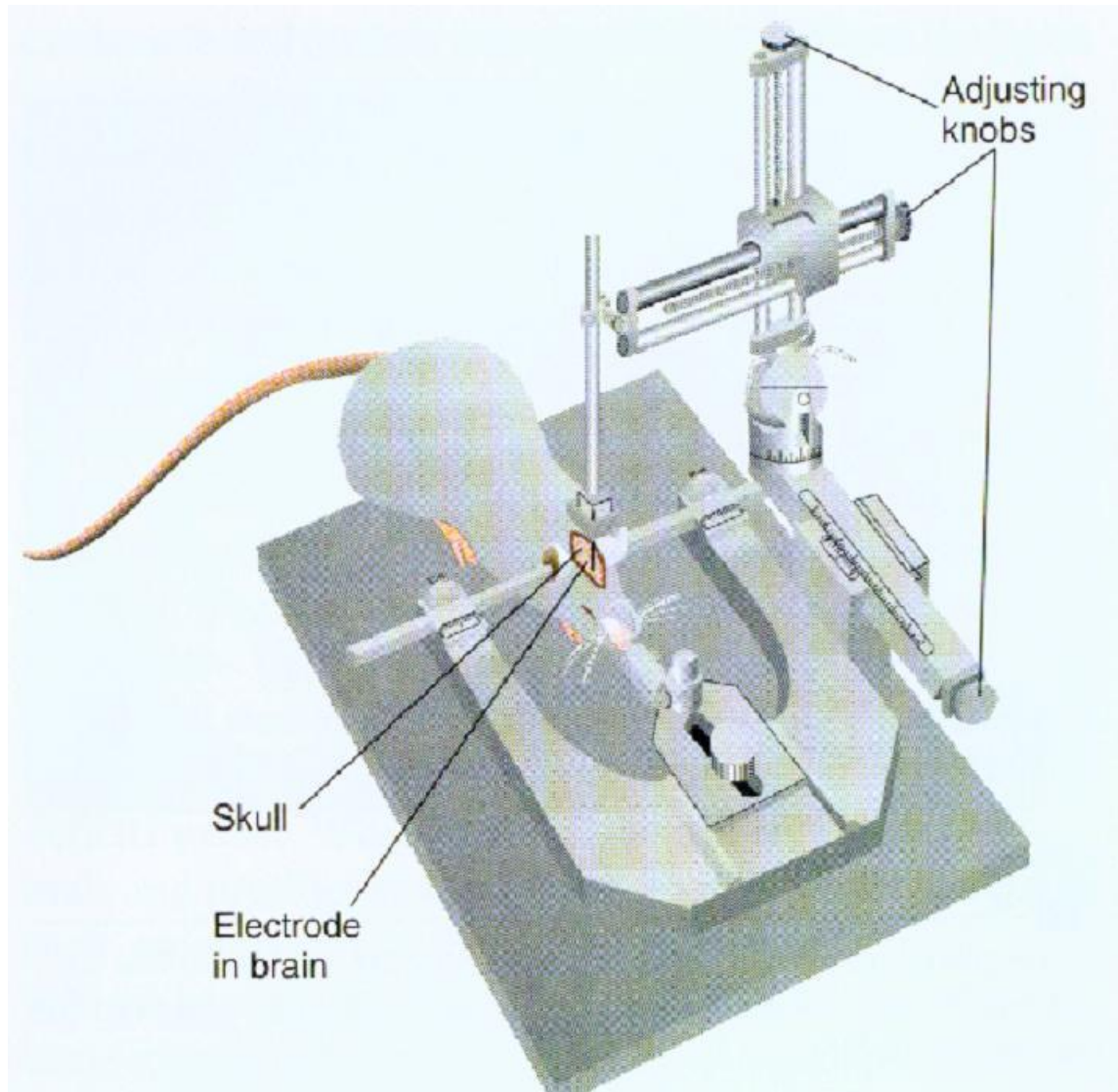


דוגמא לדף
מאטלס
סטראוטקסי
(יש הרבה
דפים כאלה
מהחלק
הפרונטלי
לקאודלי)

לטרלי – מדיאלי – לטרלי

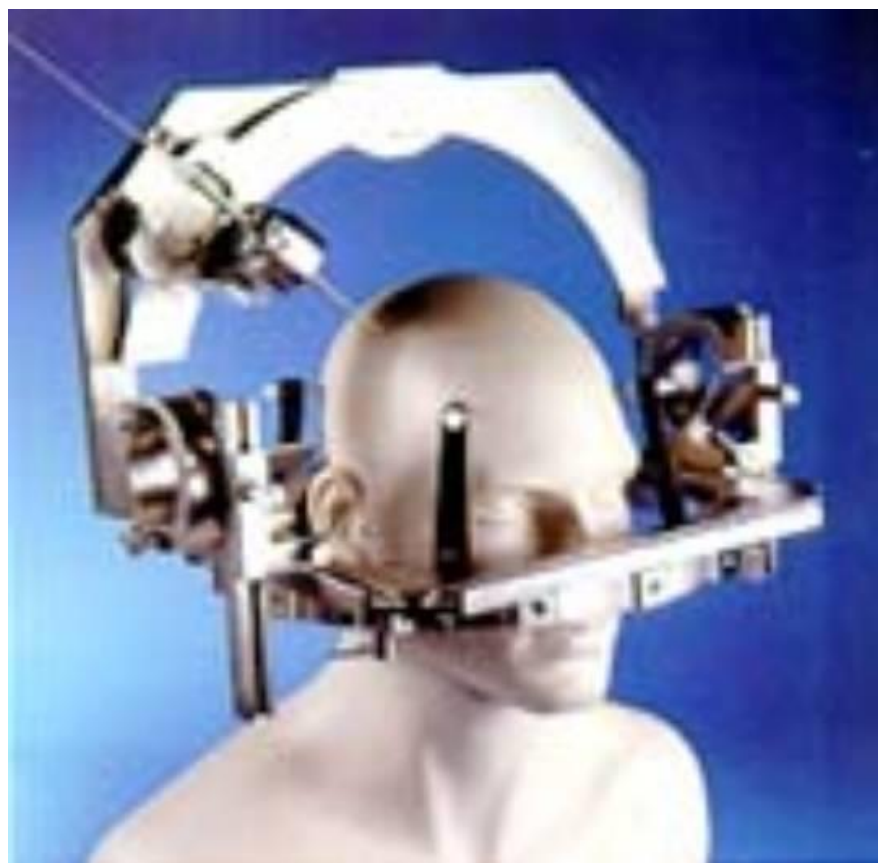
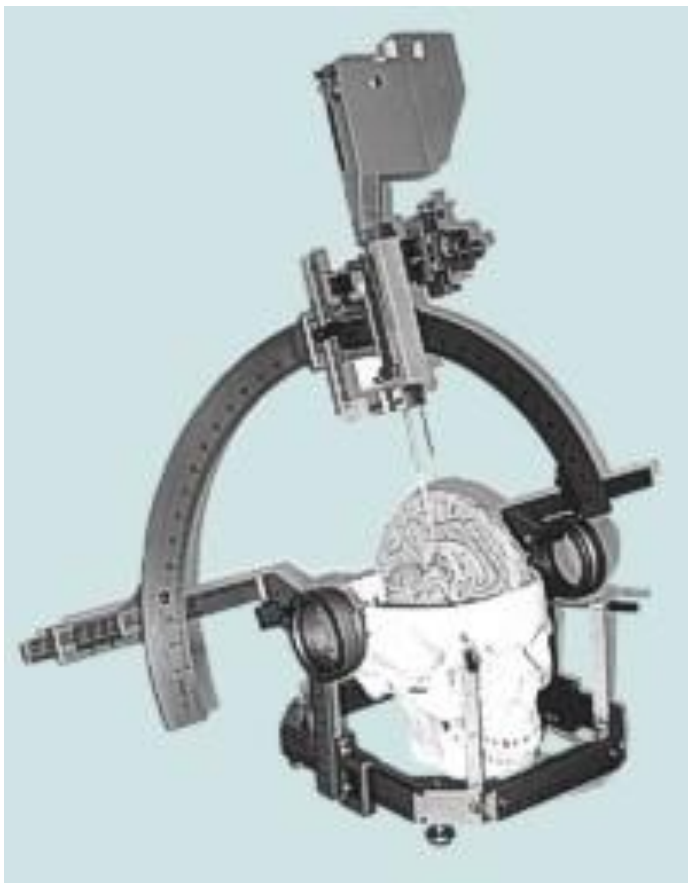
דורסלי-ונטרלי

ניתוח סטריאוטקסי - מכשיר



המכשיר הסטראוטקסי
כולל מעין זרוע
שניתנת להזזה
בשלושה מישורים,
ובכל מאפשרת הגעה
לכל נקודה במח.

ניתוח סטריאוטקסי באדם



Lesion/ablation studies

- במחקרים מסוג זה מנסים להסיק על התפקיד של אזור מוח מסוים לפי הפגיעה בהתנהגות בעקבות הריסתו. למשל, ניתן להראות שנזק בקורטקס האוציפיטלי גורם להפרעה בראיה. מכאן ניתן להסיק שהאונה האוציפיטלית עוסקת בראיה.

- הסקה כזאת היא בעייתית מפני ש:

א. יש לבדוק שהפגיעה לא נובעת מבעיות מוטוריות או מוטיבציוניות כלליות (למשל אם חוקר רוצה להסיק שחיה עם הרס בקורטקס האוציפיטלי היא עוורת מכך שהיא נתקלת בחפצים בדרכה או שאיננה רצה לקצה מואר של מבוכ שבו היא למדה שהיא עומדת לקבל אוכל טוב, הוא עדיין צריך לבדוק שלא מדובר בבעיה במוטוריקה, בשווי משקל, או במוטיבציה, למשל, שהחיה נעשתה מדוכאת ולא "בא לה" על אוכל טוב).

ב. כל מבחן התנהגותי בודק בד"כ כמה פונקציות משולבות. פגיעה בעקבות הרס לא נותנת מידע על התפקוד הספציפי של האזור כיון שכל התנהגות מיוצרת על ידי רשת של אזורים שקשורים בניהם אנטומית ולא על ידי אזור אחד בלבד. כלומר כל אזור תורם דרך תפקודו אספקט מסוים לקראת ההתנהגות הכוללת. למשל, במהלך קריאה יש אזור במח ששולט ומווסת את תנועות העיניים, אזור אחר אחראי להתמקדות העדשה בעין, אזור אחר עוסק בתפיסה וזהוי האותיות, ואזור נוסף בהבנה של המילים וכו'. אי לכך נזק באזור מסוים יכול לפגוע בקריאה, אך זה לא יגיד לנו הרבה על התפקוד הספציפי של אזור זה.

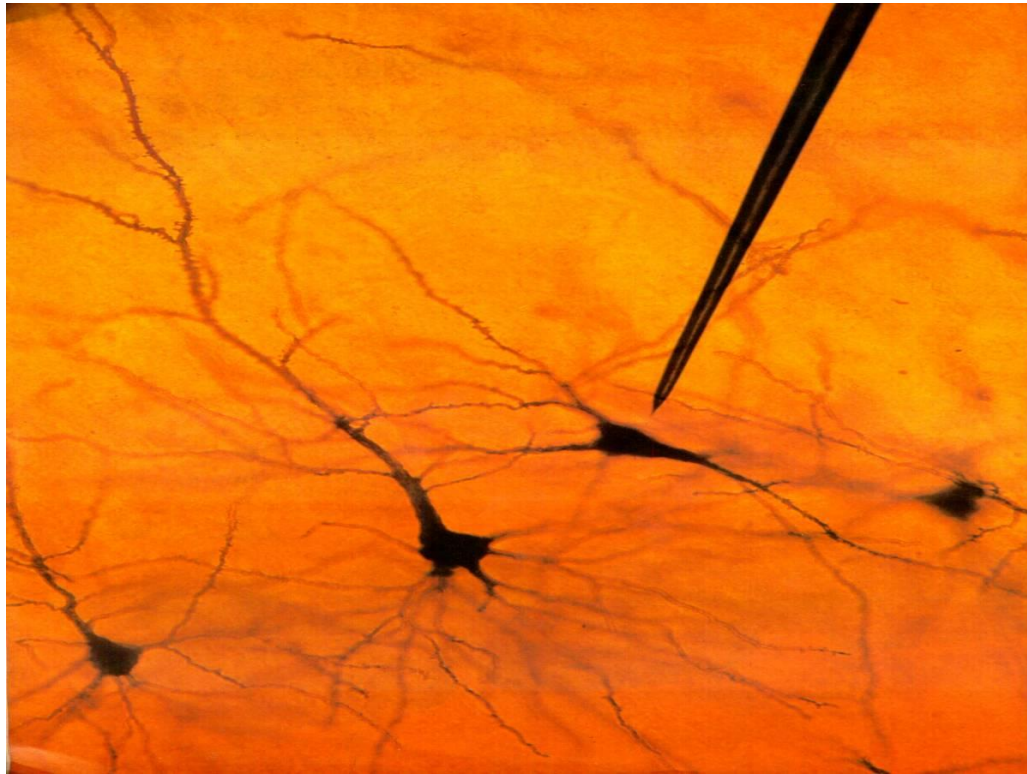
ג. פגיעה בעקבות הרס באזור מסוים לא אומרת בהכרח שהוא האחראי על ההתנהגות התקינה – יתכן שנפגעו מסלולים של אקסונים שעוברים באותו אזור.

צריך גם להזהר מייחוס שלילי – גם אם לאחר נזק לא רואים פגיעה בתפקוד כלשהוא, עדיין יתכן שהאזור מעורב בתפקוד זה. הסיבה לכך שלא רואים את הנזק יכולה להיות שאזורים אחרים מפצים על הכשר שאבד והחיה או האדם מבצעים את המשימות באסטרטגיות אחרות.

חקר התפקוד של המוח: רישום הפעילות העצבית

החשמלית (Recording of neural activity)

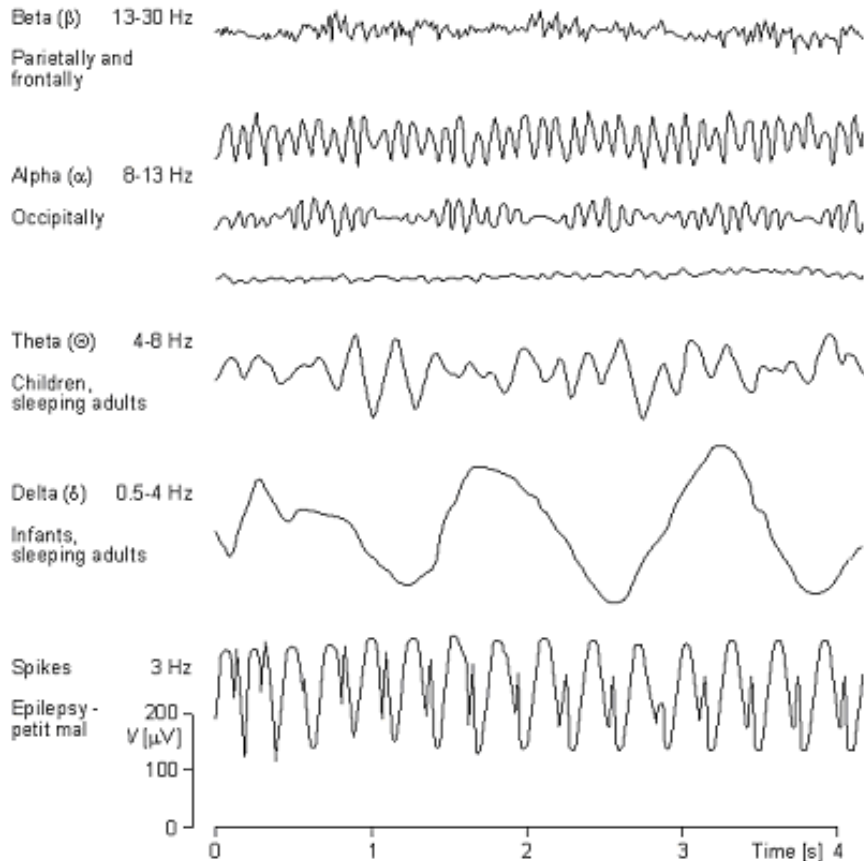
כדי לבחון את ההשפעה של גרויים פסיכולוגיים או פרמקולוגיים ניתן להכניס למח מיקרואלקטרודות, שרושמות את השינויים במתח החשמלי של הנוירונים (EPSP ו/או פוטנציאלי פעולה). ניתן לרשום את הפעילות החשמלית בתוך נוירון בודד (רישום תוך-תאי), או להשתמש באלקטרודות יותר גדולות ולרשום מחוץ לתאים את השינויים באוכלוסיה שלמה של תאים.



בעיה עיקרית – רושמים ממספר קטן של נוירונים בעוד שבהתנהגות יכולים להיות מעורבים מיליונים של נוירונים

EEG (Electroencephalogram)

שיטה נוספת לרישום הפעילות החשמלית של המוח היא ה-EEG. בשיטה זו רושמים ממקרואלקטרודות (macroelectrodes), שיכולות להיות מונחות על פני הראש. משתמשים בשיטה זו כדי לרשום שינויים גלובליים בפעילות המוחית (כלומר, הפעלה מסונכרנת של אוכלוסיות שלמות של נוירונים), למשל בזמן שינה לעומת ערנות, בהתקפים אפילפטיים או כשיש גידולים סרטניים.

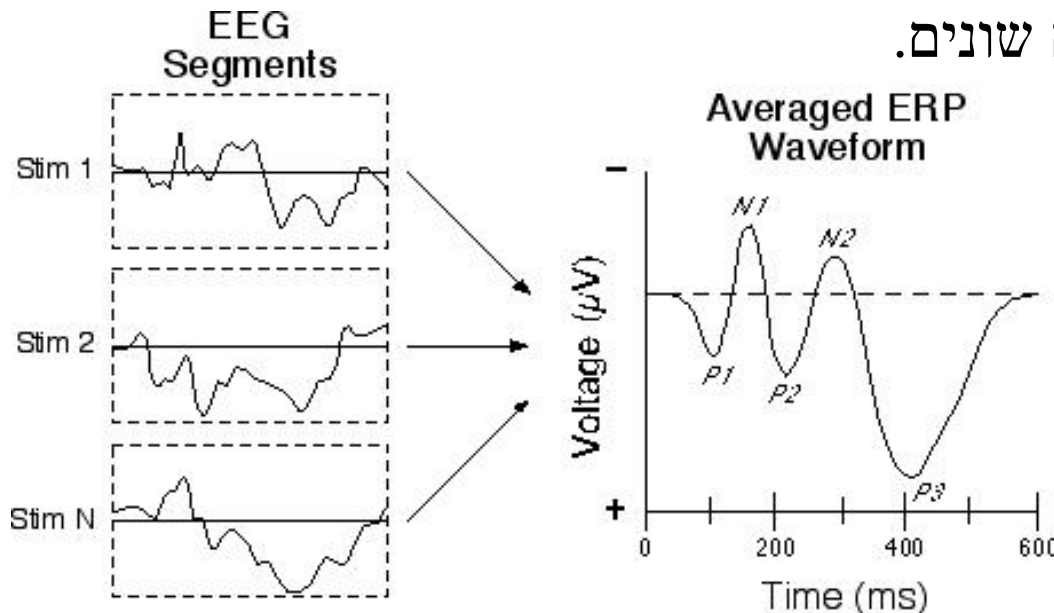


Event Related Potentials (ERP)

פוטנציאלים מעוררים

על ידי רישום EEG, ניתן גם למדוד אותות חשמליים שמועלים על ידי גרויים ספציפיים (למשל, תמונות, פרצופים, צלילים). שיטה זו נקראת Evoked potentials.

מציגים את הגרוי מספר פעמים וממזעים את תבנית גלי המוח (מעבר לחזרות השונות); כל הפעילות המוחית שלא שייכת לגרוי מתאפסת והפעילות שכן קשורה לגרוי נראית בברור. ניתן להשוות את גודל ותבנית הגלים במצבים ותנאים שונים.



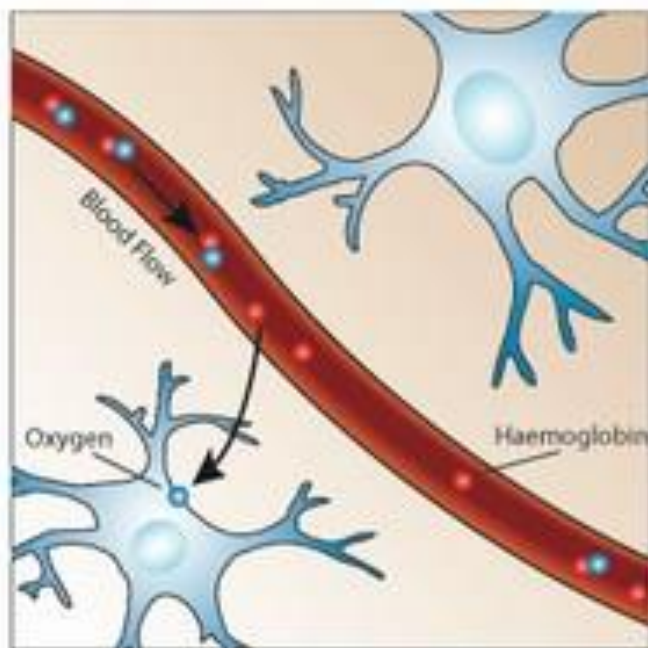
שיטות הדמיה (Imaging) לחקר התפקוד של המוח באדם חי



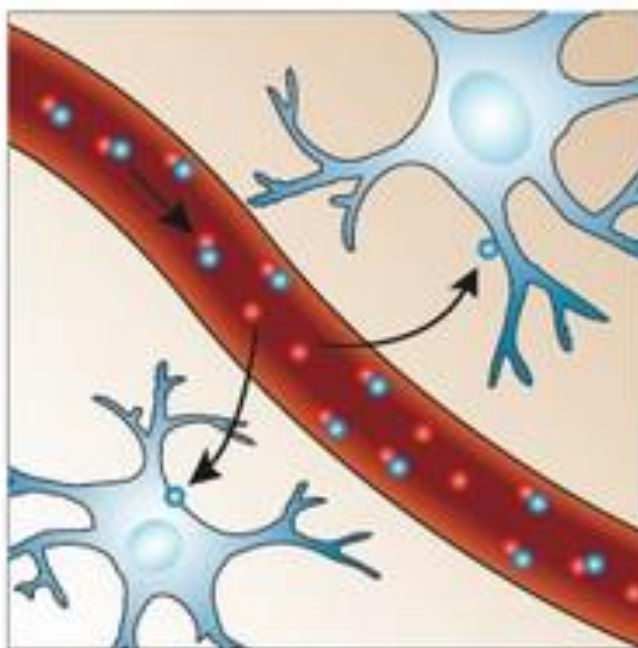
- Positron Emission Tomography (PET)
- Functional MRI (fMRI)

שיטות לחקירת הפעילות של המח החי

יש שתי שיטות עיקריות לחקירת הפעילות של אזורי מח ספציפיים באדם חי:
(1) הדמיית PET (2) הדמיית MRI תיפקודית (fMRI). שתי השיטות מתבססות על העובדה שפעילות עיצבית מוגברת באזור כלשהוא של המח מתואמת עם עליה בזרימת הדם לאזור זה ועליה בצריכת הגלוקוז והחמצן באזור (גלוקוז הוא המרכיב העיקרי של סוכרים אשר מהווה את המרכיב המזין העיקרי של תאים במח). עליה זו נובעת מכך שאזורים שפעילים יותר צריכים יותר חמצן וגלוקוז ולכן זרימת הדם לאזור עולה עקב התרחבות מקומית של העורקים והנימים באזור זה, תוך כניסה של יותר גלוקוז וחמצן לתאים.

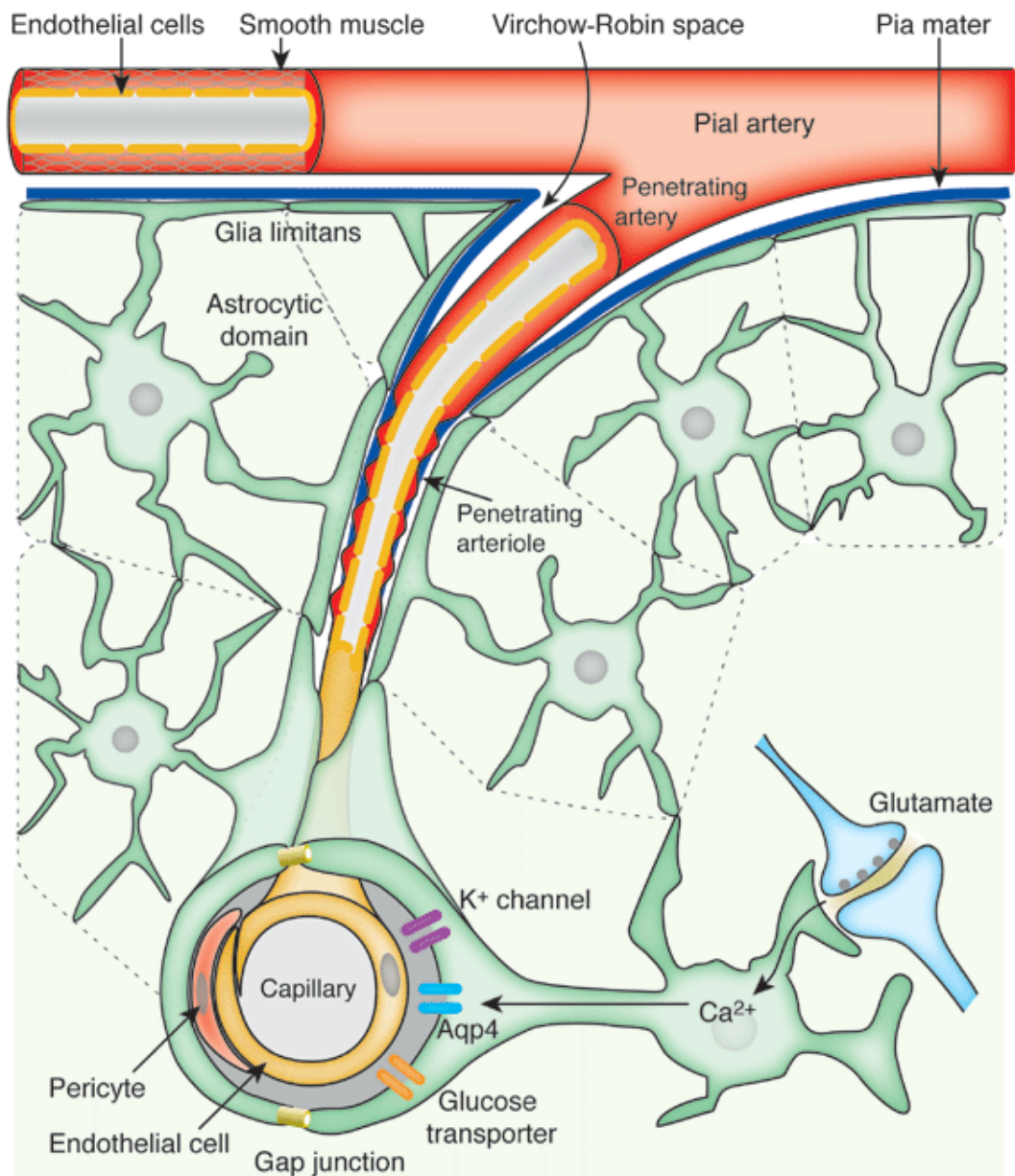


Resting



Activated

העובדה שיש שינויים בזרימת הדם המקומית עקב פעילות עיצבית התגלתה כבר לפני 50 שנה, אך היכולת למדוד במדויק היכן בדיוק יש יותר זרימה התפתחה רק בעשרים השנים האחרונות.



הגורמים להתרחבות כלי הדם עדיין אינם ברורים לגמרי. ישנם ממצאים לפיהם נוירונים פעילים משחררים חמרים שיכולים להשפיע על כלי הדם באופן ישיר – למשל בזמן פוטנציאל פעולה בנוזל החוץ תאי מצטבר יותר אשלגן (K^+) שמשפיע על השרירים החלקים שמקיפים את כלי הדם וגורמים להרפייתם. עם זאת, העדויות העיקריות הן לכך שההשפעה של פעילות עיצבית מתווכת על ידי אסטרוציטים. כזכור תאים אלה שולחים שלוחות שמקיפות את כלי הדם. השחרור של גלוטמט בסינפסה פועל על רצפטורים לגלוטמט על גבי האסטרוציט וגורם לתא זה לשחרר חמרים שמרחיבים כלי דם, כמו NO, אדנוזין וחמרים שנקראים פרוסטגלנדינים. כמו כן, החמרים שמשתחררים מובילים למיצוי יותר יעיל של הגלוקוז מהדם הרב יותר שמגיע לאזור.

Positron Emission Tomography –PET

כמו ב-CT scan, גם בשיטה זו יש דטקטורים אשר קולטים קרינה שעוברת דרך המה, אלא שכאן הקרינה אינה נובעת ממקור חיצוני (למשל ממכונת קרני X ב-CT), אלא מהתפזרות של חומר רדיואקטיבי שהוזרק לנבדק לפני הפרוצדורה. כדי למנוע נזק, מזריקים חמרים

רדיואקטיבים שמתפרקים

במהירות (תוך מספר דקות עד

מקסימום שעתיים) ופולטים

פוזיטרונים, שהם חלקיקי אנטי-

חומר שמקבילים לאלקטרונים.

התנגשות של פוזיטרון עם

אלקטרון גורמת להשמדתם, תוך

כדי יצירה של שני פוטונים

שנעים בכוונים מנוגדים.

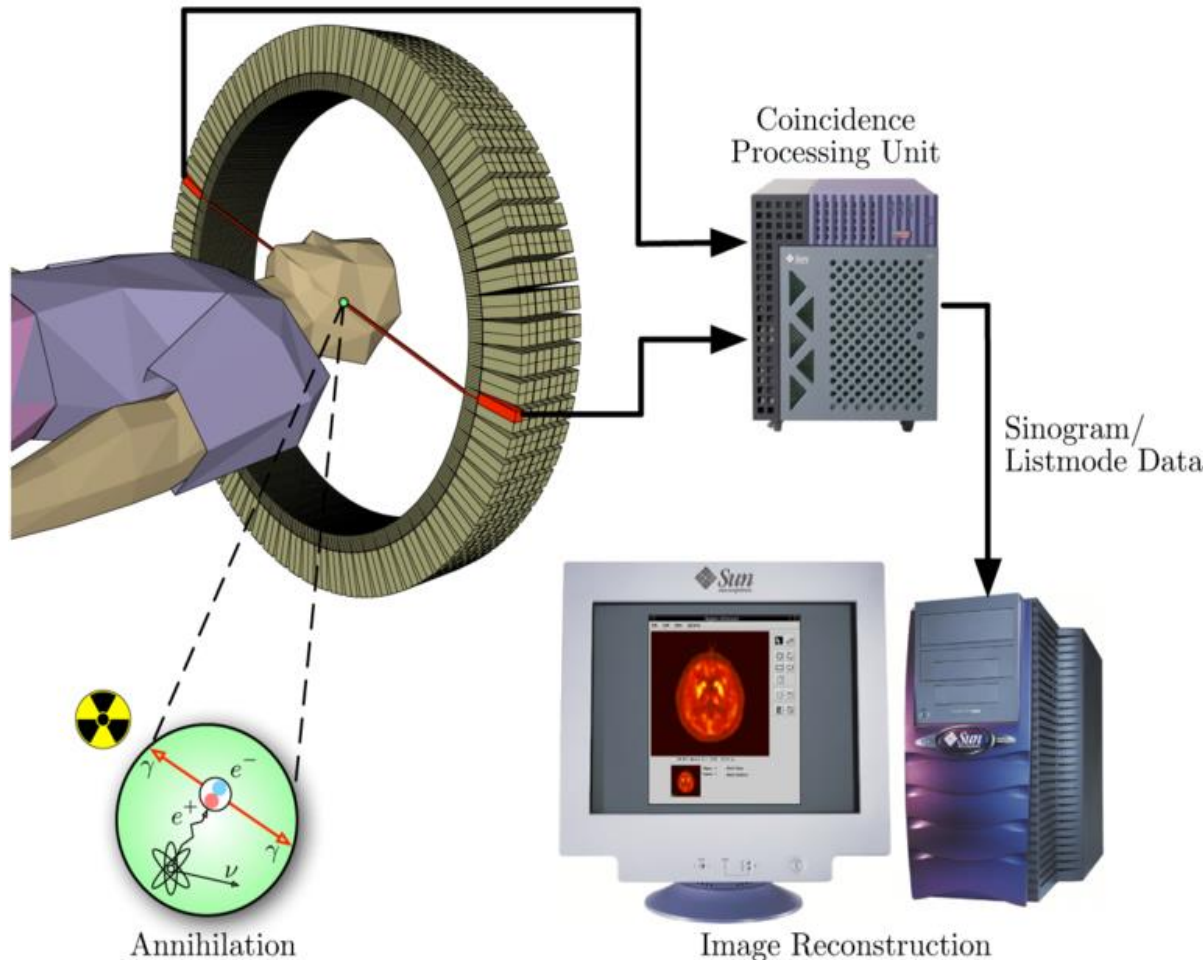
הדטקטורים חשים את ההגעה

הבו-זמנית של פוטונים ומחשבים

את מיקום היציאה שלהם על סמך

הבדלים קטנים (פיקו-שניות)

בזמן ההגעה לשני צידי הדטקטור.



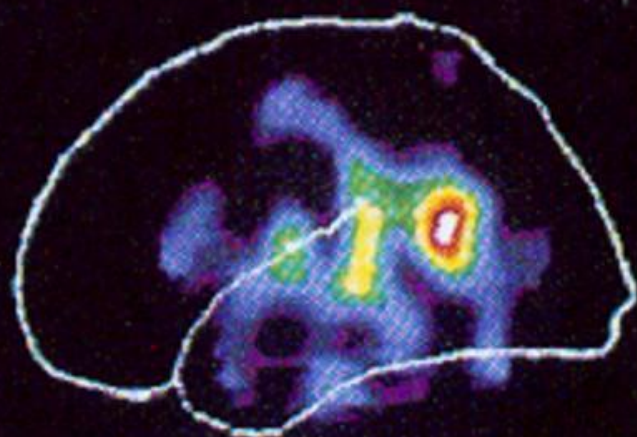
PET לבחינת שינויים בזרימת דם וצריכת גלוקוז במחקרי

Cognitive neuroscience

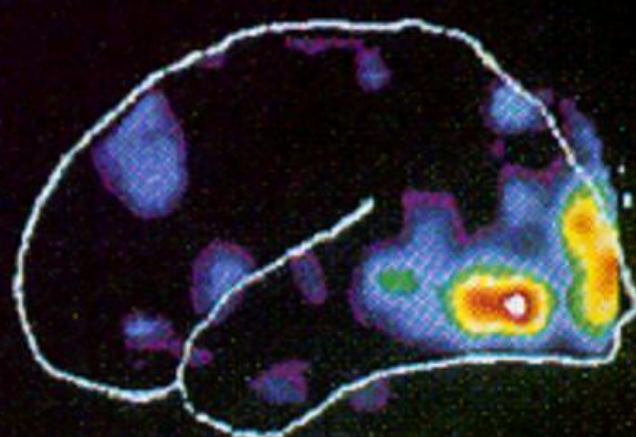


בחינת שינויים בזרימת דם ניתן למדוד בעזרת O_{15} רדיואקטיבי (יותר חמצן מגיע לאזור פעיל). הבעיה היא שזמן מחצית החיים של חומר זה היא 2 דקות. אי לכך, השיטה היותר רווחת היא שימוש בחומר בשם 2- deoxyglucos (2DG) רדיואקטיבי (מסומן בפלואורין-18). חומר זה דומה לגלוקוז. החומר נכנס לתאים אך ברגע שהוא נכנס אליהם הוא אינו יכול להמשיך הלאה בשרשרת פירוק המזון לאנרגיה אלא נשאר בצורתו לזמן ארוך יחסית.

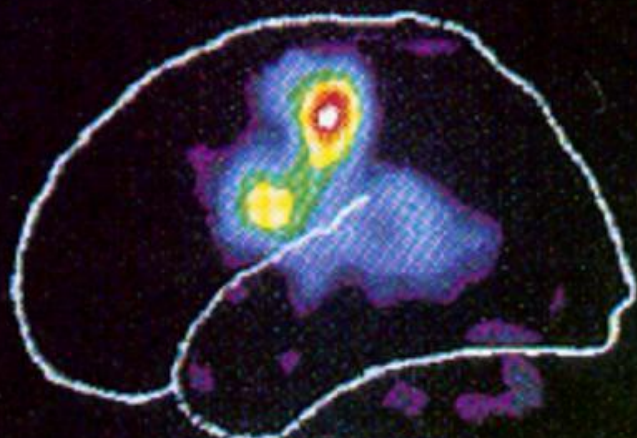
כיוון שכניסת גלוקוז (ולכן גם 2-DG) לתאים היא פרופורציונלית לפעולתם, ניתן "לראות" אילו חלקים יותר פעילים מאחרים כיוון שבהם תתרכז כמות גדולה יותר של 2-DG ולכן תפלט מהם יותר אנרגיה. אי לכך, ה-PET אינו נותן רק תמונה סטאטית, כפי שמתקבלת ב-CT, אלא תמונה אקטיבית של פעילות המח (למשל ניתוח של יצירה מוסיקלית על ידי מוסיקאים מקצועיים בדרך אנליטית לעומת התרשמותית/סובייקטיבית).



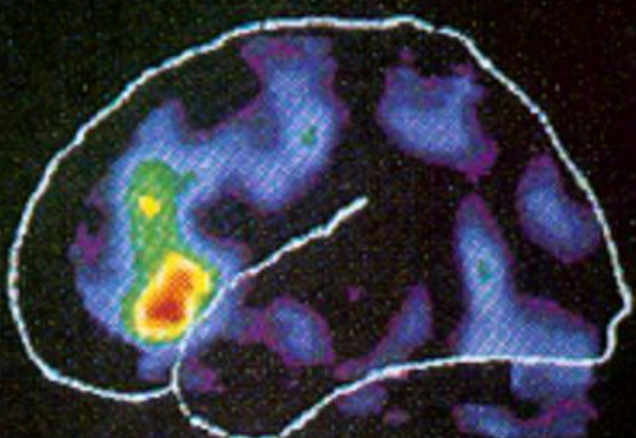
HEARING
WORDS



SEEING
WORDS



SPEAKING
WORDS

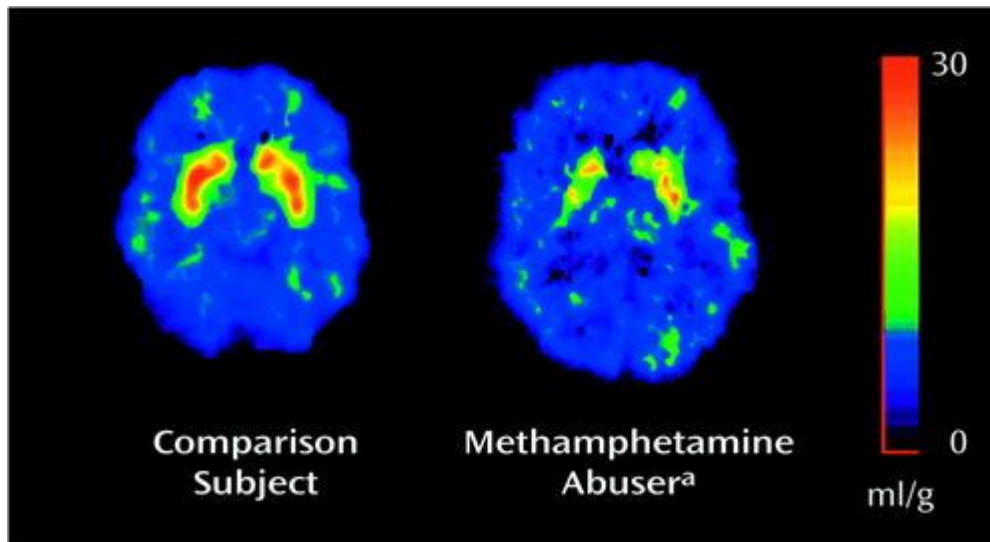


GENERATING
WORDS



שמוש ב PET לאיתור רצפטורים או נשאים (למשל, במחלות נוירולוגיות ופסיכיאטריות)

כדי לאתר רצפטורים לחומר מסוים (למשל דופמין, סרוטונין, אופיטים, קנבינואידים) או לבדוק התקשרות של תרופה לרצפטור, ניתן להזריק לנבדק ליגנד רדיואקטיבי ספציפי לרצפטור המסוים ולעקוב אחרי ההתקשרות שלו לרצפטורים אלה. ניתן להשוות בין מיקום וצפיפות הרצפטורים במצבים שונים או במחלות שונות.



דוגמא לניסוי המדגים את
הירידה ברמות הנשא
(טרנספורטר) של דופמין במח
של מכורים לאמפתמין (לאחר
גמילה של כ 11 חדשים)

PET –Positron Emission Tomography

- **לשמוש ב PET יש מספר מגבלות:**

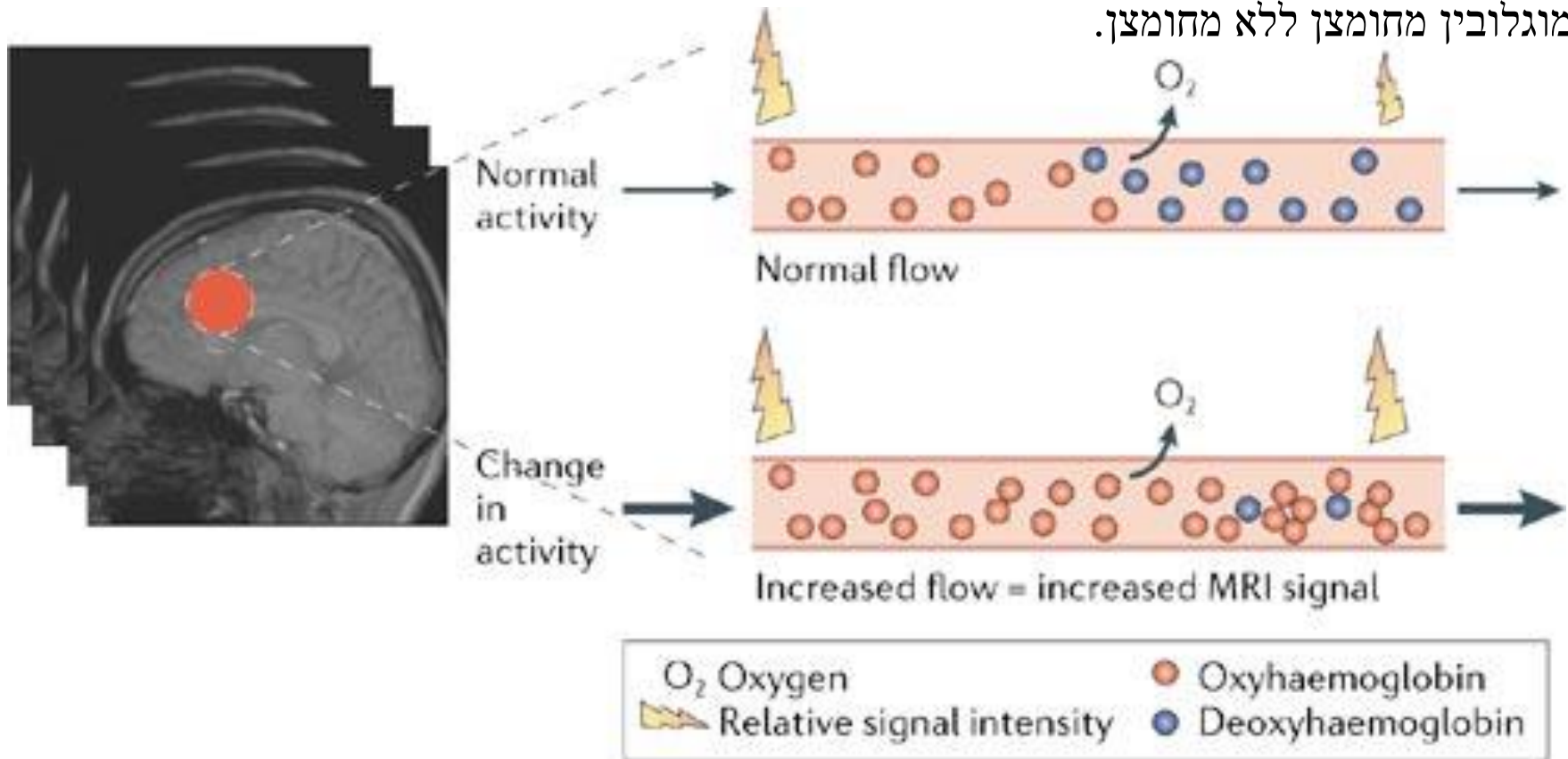
- יש צורך בהחדרת חמרים שפולטים קרינה רדיואקטיבית לגוף הנבדק.
- עלות גבוהה ומורכבות של הפרוצדורה - הכנת החמרים, שהם בעלי זמן מחצית חיים מהיר (בין דקות לשעות ספורות) מחייבת ציקלוטרון (מעין כור גרעיני קטן) בבית החולים. אי לכך משתמשים כמעט רק בחמרים מסומנים בפלואורין-18 שזמן מחצית החיים שלו הוא כשעתיים, ולא בחמרים אחרים שמתפרקים עוד יותר מהר.
- הרזולוציה בזמן של השיטה היא לא כל כך טובה (כדי לראות סיגנל צריך לחכות מינימום של כמה עשרות שניות).
- הרזולוציה המרחבית גם היא לא כל כך טובה. כדי להתגבר על כך, מכשירים מודרניים משלבים במכשיר ה-PET גם CT. הסריקה מתבצעת במקביל ונותנת תמונה מרחבית יחד עם התמונה הפונקציונלית.

מדידת פעילות מוחית באדם באמצעות functional MRI (fMRI)



מדידת פעילות מוחית באדם - functional MRI

א. האות שמאפשר את מדידת הפעילות המוחית בשיטה זאת מבוסס על כך שבשדה מגנטי המוגלובין (חלבון בדם שאחראי לקשור את החמצן בראות, להעביר אותו ולשחרר אותו לרקמות) פולט קרינה (באופן טבעי). ב. באזור שבו יש פעילות גבוהה של נוירונים יש התרחבות של כלי דם ומגיעה אליו זרימת דם מוגברת. ג. הדם הרב באזור הפעיל מכיל יותר חמצן (שקשור להמוגלובין), כי לא כל החמצן מספיק לצאת לרקמה (כלומר, קצב עליית הזרימה לאזור הפעיל עולה על קצב מעבר החמצן מהדם למח באותו אזור). ד. המוגלובין שקשור לחמצן פולט יותר קרינה (אות יותר חזק) מהמוגלובין לא מחומצן (כלומר באזור הפעיל האות המגנטי . ד. חיישנים במכשיר מאפשרים למקם הבדל בין אזורים עם המוגלובין מחומצן ללא מחומצן.



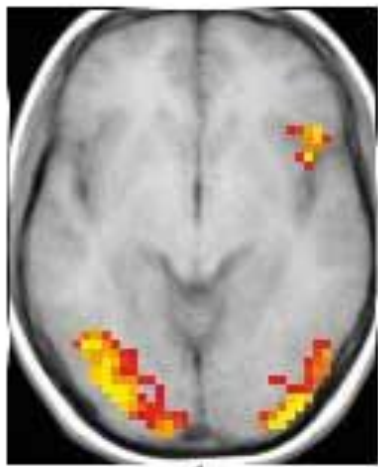
fMRI

דוגמא לניסוי

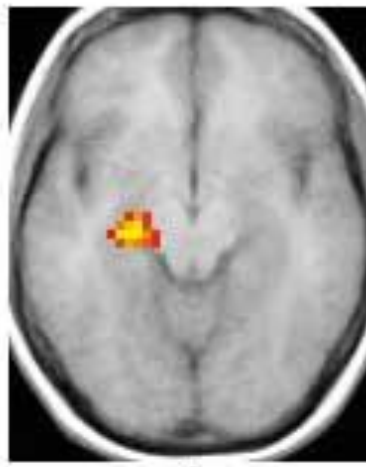
1. הנבדק מתבקש להיזכר בפרצוף
(הפעלה אוציפיטלית)

2. הנבדק מתבקש ל"חשוב על פרצוף
זה" (הפעלה של ההיפוקמפוס)

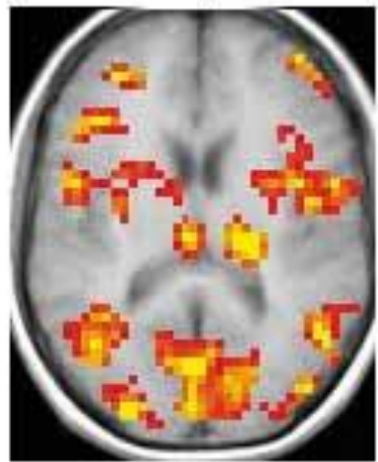
3-4. הנבדק מתבקש להשוות את
הפרצוף עם פרצוף אחר (הפעלה
באזורים שונים)



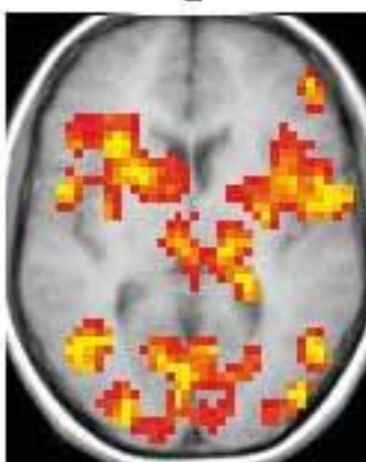
1



2



3



4

■ יתרונות השיטה:

א. שיטה מאד בטוחה – אין צורך במקור קרינה

ב. רזולוציה מרחבית טובה (עד כ- 1 מ"מ).

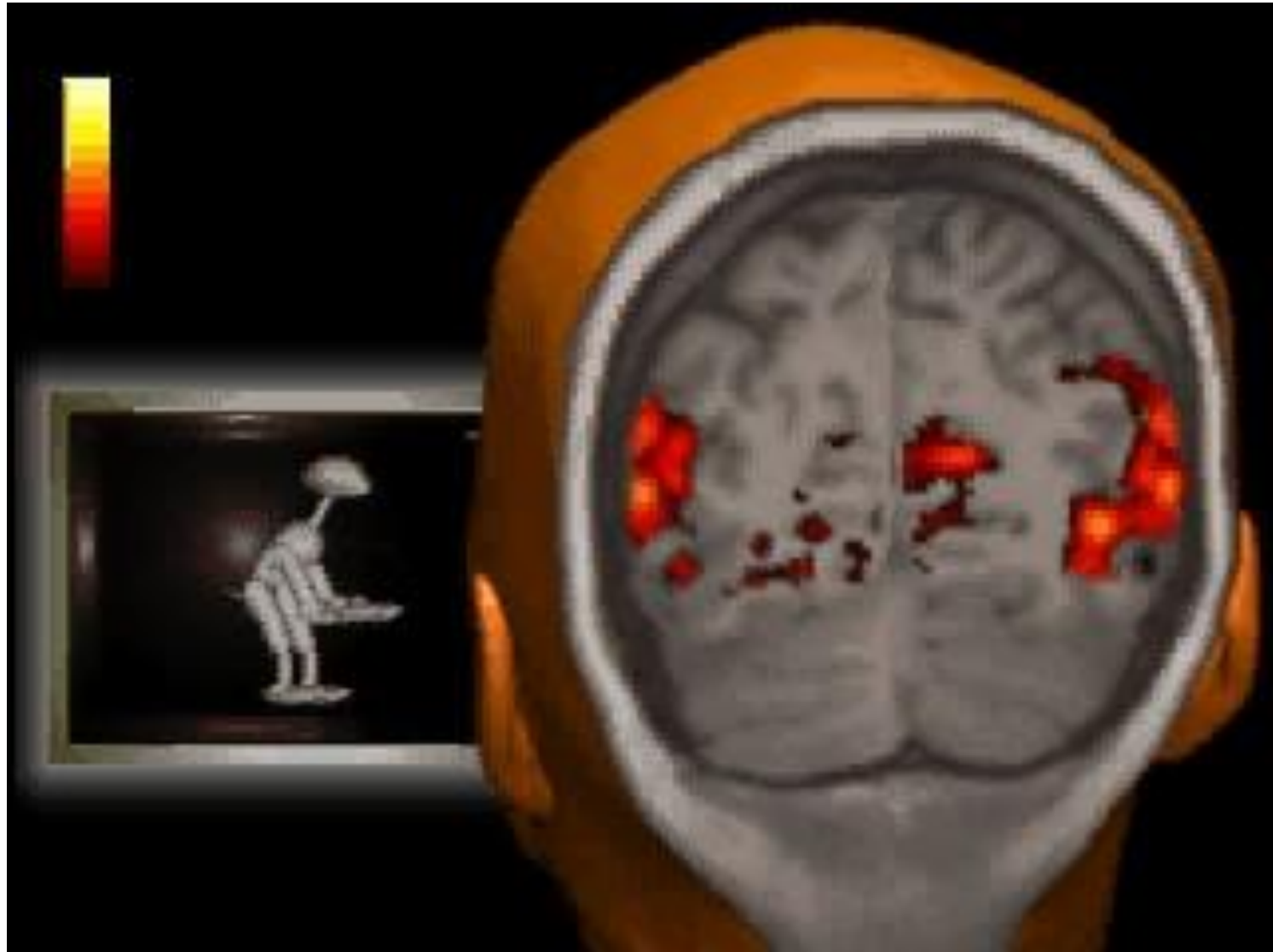
ג. רזולוציה בזמן יותר טובה מ PET (אם כי לא בסדר גודל של פעילות עיצבית – ב

fMRI לוקח 2-3 שניות מהגרוי עד שמתחילים לקבל סיגנל, שמגיע לשיא אחרי 4-6 שניות).

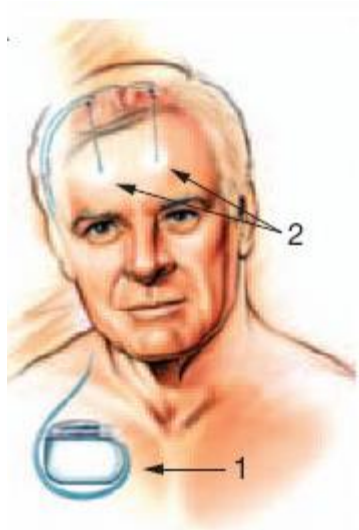
ד. קלות יחסית בעריכת ניסויים.

מדידת פעילות מוחית באדם - fMRI

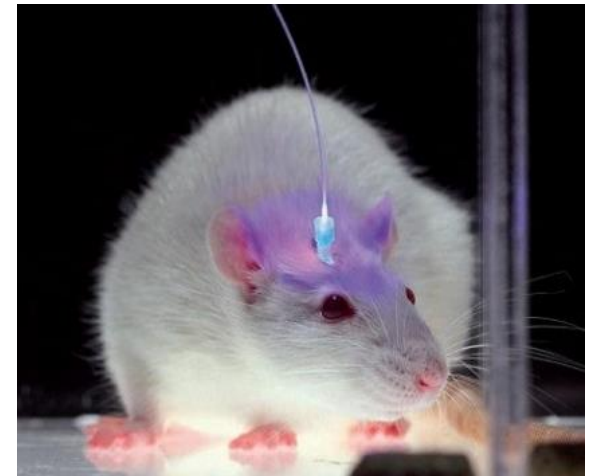
<https://www.youtube.com/watch?v=lLORKtkf2n8>



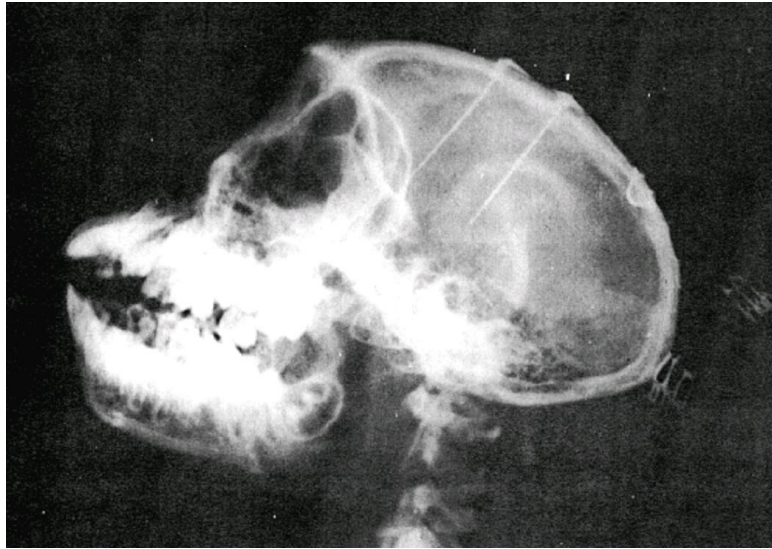
מניפולציות מוחיות



- גרוי חשמלי
- גריה מגנטית
- מניפולציות נוירוכימיות
- אופטוגנטיקה



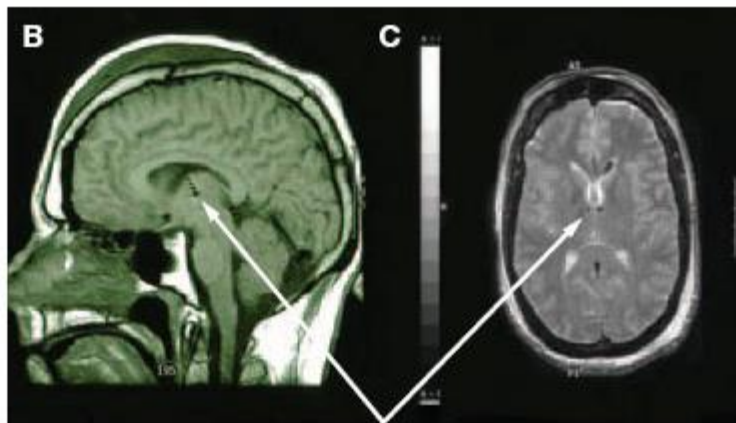
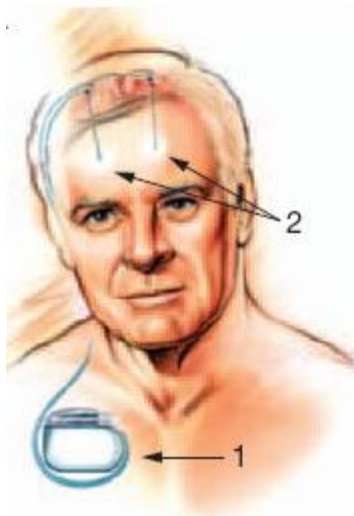
Stimulation of neural activity



- כדי לבחון את התפקוד של אזור מסוים במח, ניתן להשתיל אלקטרודה שהקצה שלה נמצא באותו אזור ודרכו ניתן להעביר זרם שמפעיל את התאים באותו אזור.

- בהתאם לתבנית הגרוי החשמלי והקונטקסט של הגריה, הפעלה כזאת יכולה להוביל לאחד משני תהליכים: (1) חיקוי ההפעלה הטבעית של האזור, או (2) הפרעה לפעילות הטבעית של האזור.

- הבעיה העיקרית – הגרוי הוא של כל התאים והאקסונים באזור – קשה לחקות את תבנית ההפעלה הפיזיולוגית. למשל, יש גרוי גם של תאים אקסיטטורים וגם של אינהיביטורים והפרת האיזון בין אקסיטציה לאינהיביציה שקיים בהקשרים התנהגותיים ספציפיים.



Stimulating electrodes

Transcranial Magnetic Stimulation (TMS)



בשיטת ה-TMS ניתן לגרות אזורים ספציפיים במח באמצעות יצירת שדה מגנטי מקומי מעל האזור המגורה. היתרון הגדול הוא שלא צריך לפתוח את הגולגולת.

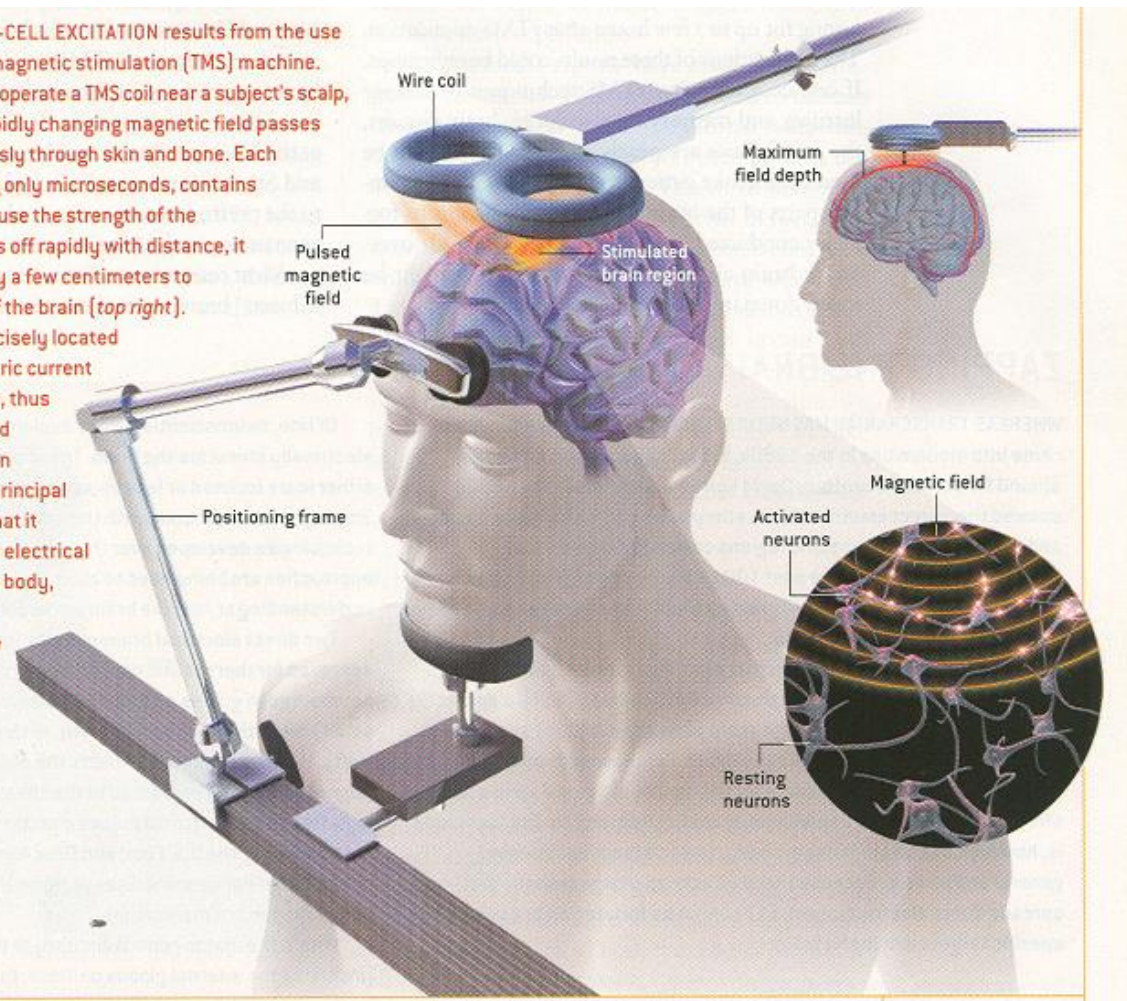
השדה המגנטי נוצר ע"י העברה של זרם חשמלי דרך סליל נחושת שעטוף בבידוד מפלסטיק. את הסליל מניחים בדיוק מעל המקום שרוצים לגרות. ניתן להשתמש בעיקר לגרוי של הקורטקס כי השדה המגנטי חודר רק כמספר מ"מ לתוך המוח.

לאחרונה פותחו גם מכשירים לגריה של אזורים עמוקים במח – Deep TMS. הפיתוח נעשה בעיקר על ידי חברת Brainsway הישראלית.



Transcranial Magnetic Stimulation (TMS)

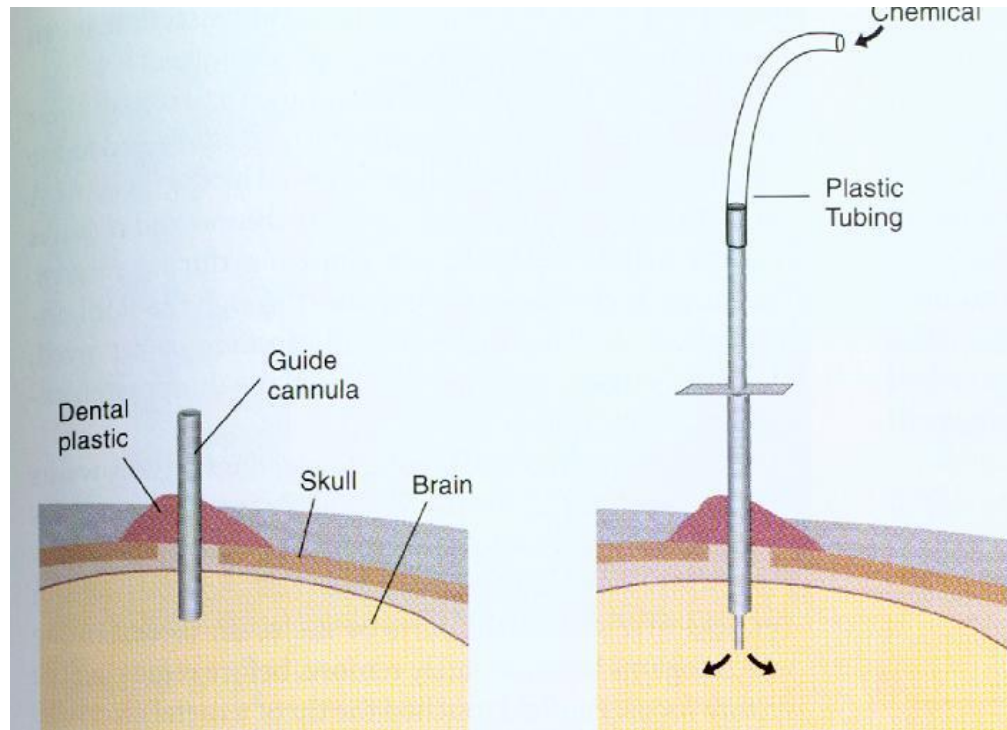
LOCALIZED BRAIN-CELL EXCITATION results from the use of a transcranial magnetic stimulation [TMS] machine. When researchers operate a TMS coil near a subject's scalp, a powerful and rapidly changing magnetic field passes safely and painlessly through skin and bone. Each brief pulse, lasting only microseconds, contains little energy. Because the strength of the magnetic field falls off rapidly with distance, it can penetrate only a few centimeters to the outer cortex of the brain (top right). On arrival, the precisely located field induces electric current in nearby neurons, thus activating targeted regions of the brain (bottom right). A principal benefit of TMS is that it requires no direct electrical connection to the body, as is required for electroconvulsive therapy.



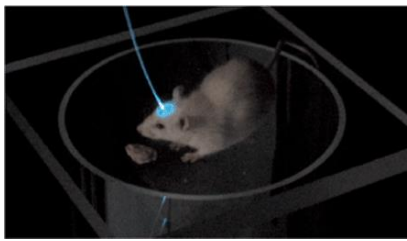
שמושים – 1) יצירת
הפרעה לתפקוד של
האזור המגורה (ע"י
הפעלה כללית של
האזור שמנטרלת את
פעילותו התפקודית
התקינה). 2) לגרוי
TMS חוזר ונשנה של
אזורי מח מסוימים יש
השפעות במספר מצבי
מחלה – בעיקר
השפעות אנטי-
דפרסנטיות בחולים
עם דיכאון קשה, אבל
גם בסכיזופרניה,
שבץ, פרקינסון
וטיניטוס.

מניפולציות נוירוכימיות:

ניתוח סטריאוטקסי להשתלת קנולה (Cannulation)



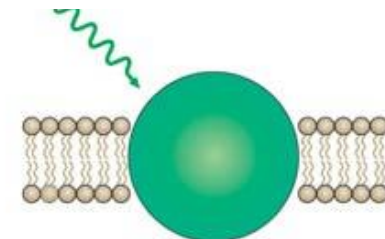
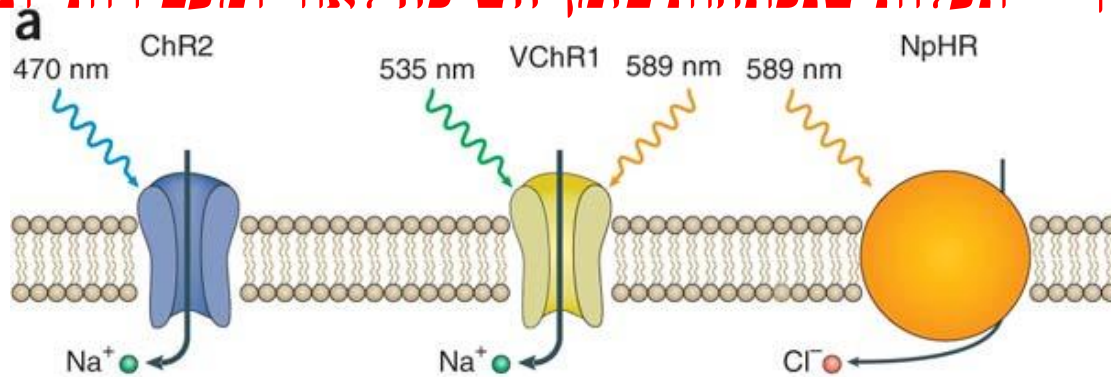
- השתלה של קנולה (מעין צינורית מתכת דקה שמקובעת לגולגולת) מאפשרת החדרת כימיקלים שונים למוח. שיטה זאת מאפשרת השגת מטרות מגוונות:
 - *החדרת תרופות (למשל אגוניסטים שמפעילים נוירונים באזור קצה הקנולה) לתוך חדרי המוח או לאזור ספציפי במוח
 - *גרימת לזיה כימית (למשל ע"י חומר שגורם ל excitotoxicity) באזור ספציפי במוח
 - *גרימת לזיה הפיכה ע"י החדרת חמרי הרדמה לאזור ספציפי במוח.
 - * הזרקת וקטורים ויראליים מהונדסים שמחדירים גנים עודפים לתאים באזור ספציפי במוח.



אופטוגנטיקה Optogenetics

שיטה שמאפשרת להחדיר (באמצעות הנדסה גנטית) גן של תעלה שנפתחת בתגובה לאור בסוגי תאים ומיקומים ספציפיים (למשל נוירונים דופמינרגיים בטגמנטום או נוירונים גלוטמרגיים בקורטקס הפרונטלי). חשיפת הנוירונים לאור מובילה לאקטיבציה או לאינהיביציה בהתאם לסוג התעלה שהגן שמקודד אותה הוחדר לחיה.

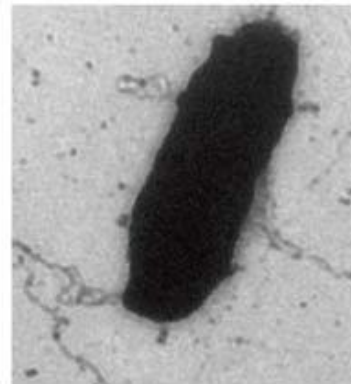
תעלה שנפתחת בזמן חשיפה לאור ומפעילה מעבירים שניוניים
תעלות שנפתחות בזמן חשיפה לאור ומעבירות יונים



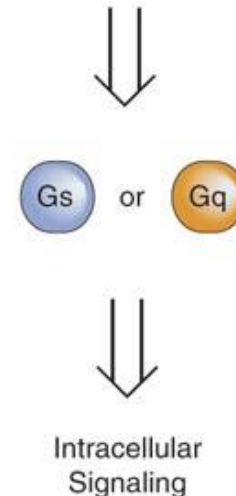
Chlamydomonas reinhardtii



Volvox carteri



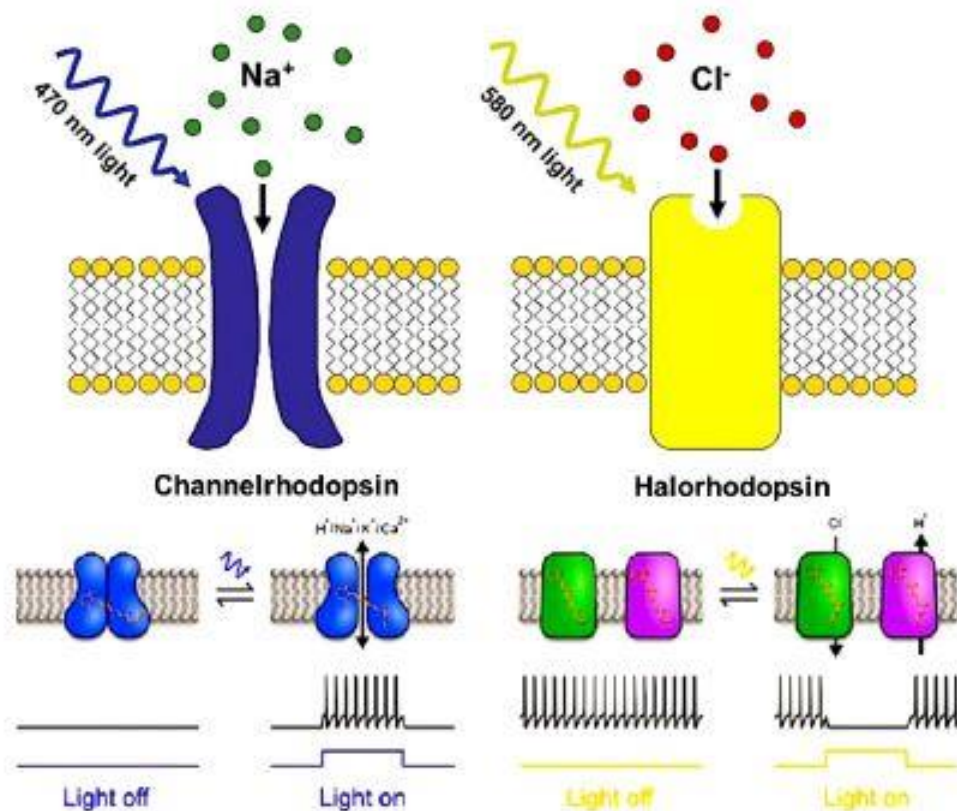
Natronomonas pharaonis



השפעת פתיחת/סגירת תעלות-תלויות אור על ירי עיצבי

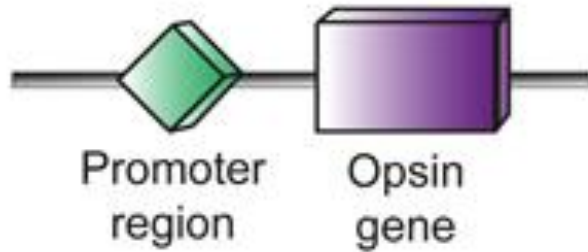
הארה על תעלה מסוג **Channelrhodopsin** פותחת אותה ומתאפשרת כניסת יוני נתרן לתא. זה מוביל לדפולריזציה וירי פוטנציאלי פעולה.

הארה על תעלה מסוג **Halorhodopsin** פותחת אותה ומתאפשרת כניסת יוני כלור לתא. זה מוביל להיפרפולריזציה ואינהיביציה על ירי פוטנציאלי פעולה.

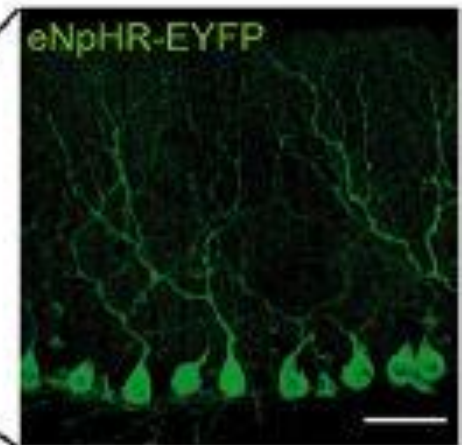
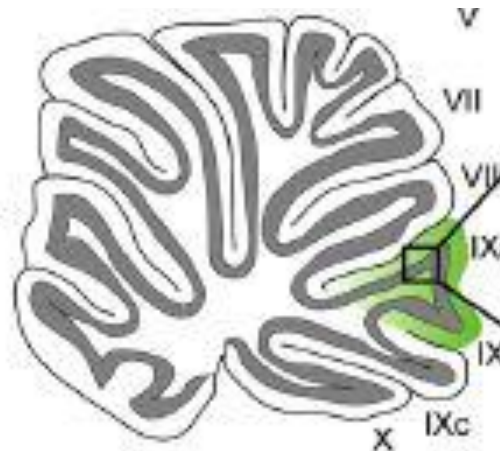
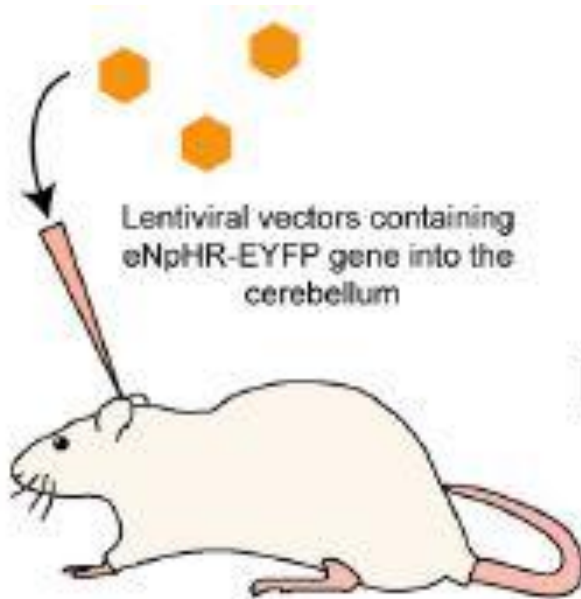


החדרת הגן שמקודד תעלה תלוית אור למח העכבר

החדרת הגן לוירוס



הזרקת הוירוס לאזור
הצרבלום במח



השתלת סיב אופטי והארה על מח העכבר

