

Raziskovalni pristopi

Kot ste lahko prebrali v predhodnih poglavjih, je nevroznanost izjemno napredovala v zadnjih 150 letih. Gonilo tega napredka je bil razvoj novih raziskovalnih orodij in tehnologije, ki so omogočili prve slike posameznih nevronov in razkrili genetske dejavnike v razvoju bolezni živčevja. V tem poglavju bomo predstavili nekatere najpomembnejše raziskovalne metode, ki so prispevale k boljšemu razumevanju možganov, od novih načinov mikroskopiranja in živalskih modelov do naprednih molekularnih tehnik.

ANATOMSKA ORODJA



Anatomija je veda o zgradbi bioloških organizmov. Anatomija možganov se začne z zgradbo nevronov, ki so med najbolj zapletenimi in raznolikimi vrstami celic v človeškem organizmu. Znanstveniki so prvič videli nevrone v poznem 19. stoletju, kar je omogočil razvoj histoloških tehnik. Izhodišče za histološko analizo so zelo tanke rezine možganskega tkiva, na katere znanstveniki nanesejo barvila ali spojine, ki povečajo kontrast ali označijo posamezne strukture. Označene rezine nato analizirajo s svetlobnim mikroskopom, ki usmeri svetlobo skozi tanko tkivo in sistem leč, ki poveča sliko tkivne zgradbe tako, da so strukture videti do 1000-krat večje kot s prostim očesom.

Histologija je veda o celični zgradbi tkiv. Histološke tehnike lahko prikažejo razlike v gostoti posameznih vrst celic ali prisotnost nekaterih molekul, ki so značilne za prisotnost določene bolezni. Te tehnike so olajšale spoznavanje procesov, ki botrujejo nastanku nekaterih nevrodegenerativnih bolezni. Histološke metode so recimo pokazale, da je encim, ki razgrajuje acetilholin, povezan z možganskimi

plaki in pentljami pri Alzheimerjevi bolezni. V možganih bolnikov s Parkinsonovo boleznijo je histologija razkrila odmiranje nevronov, ki z izločanjem dopamina uravnavajo gibanje.

Še dolgo po tem, ko je svetlobna mikroskopija znanstvenikom omogočila prvi vpogled v nevrone, je znanstvena srenja živahno razpravljala o vprašanju, ali so nevroni posamezne celice ali neprekinjena mreža povezanih celičnih teles. Nevroni so posejani tako na gosto, da odgovora nismo imeli vse do petdesetih let 20. stoletja, ko se je razvila nova tehnologija - elektronska mikroskopija (EM). EM lahko prikaže izjemno podrobne slike celične zgradbe, povečane nekaj 100.000-krat, z usmerjanjem snopa elektronov skozi ultra tanke rezine tkiva, ki jih nato poveča in izostri z uporabo elektromagnetnih leč. S pomočjo EM so raziskovalci končno lahko videli, da nevroni niso del neprekinjene mreže, temveč ločene celice.

Čeprav gre za ločene celice, delujejo nevroni kot sestavni deli omrežij, kjer z ostalimi celicami komunicirajo prek ozkih špranj, imenovanih sinapse, kjer aksonski končič enega nevrona stopi v stik z dendritom ali celičnim telesom druge celice. En način za prikaz teh signalnih povezav med nevroni vključuje injiciranje radioaktivnih molekul ali sledilcev v telo nevrona. Raziskovalci nato spremljajo potovanje radioaktivnosti vzdolž aksona, kar izriše pot in pelje do naslednje sinapse. Podobna tehnika uporablja sledilce, ki lahko prehajajo tudi prek sinaps, od enega nevrona do drugega. S temi sledilci so znanstveniki razkrili zapletene povezave, prek katerih informacija potuje med mrežnico v zrklih in vidno skorjo v možganih.

Še ena tehnika za raziskovanje anatomije možganov je slikanje z magnetno resonanco (MR). MR je bila razvita v

osemdesetih letih prejšnjega stoletja in je pogosta metoda, s katero raziskovalci in zdravniki prikažejo podrobne slike možganov. MR temelji na uporabi močnega magnetnega polja in radijskih valov za prikaz možganov glede na razporeditev vode v tkivu. Slikanje z MR je za preiskovanca neškodljivo in neboleče, terja pa mirno ležanje ali sedenje v ozki cevi tomografa. Preiskava je tudi dokaj hrupna. Z uporabo MR-slikanja lahko raziskovalci ločijo možgansko sivino od beline. Sivino sestavljajo telesa nevronov, njihovi dendriti in sinapse. Belino sestavljajo aksoni, oviti v maščobno mielinsko ovojnico, zaradi katere so ti predeli videti svetlejši. Na temelju zaznavanja vsebnosti vode v tkivu slikanje z MR omogoča jasno razločevanje med cerebrospinalno tekočino, sivo možganovino, kjer so telesa celic, polna vode, in maščobno belino.

ORODJA RAZISKOVANJA FIZIOLOGIJE



Ko se električni impulzi prenašajo vzdolž aksonov, se informacija posreduje prek nevronskih povezav, ki prepredajo možgane. Za raziskovanje te aktivnosti raziskovalci merijo spremembe električnega naboja prek membrane posameznih nevronov z elektrofiziološkimi metodami. Zelo tanko stekleno elektrodo vstavijo v nevron, da lahko izmerijo napetost prek njegove membrane, ki se spremeni, ko je nevron vzdražen. S to tehniko lahko merijo celično aktivnost v možganih živih laboratorijskih živali, kot so podgane ali miši, kar omogoča raziskovanje prenosa živčnih električnih signalov v stanju normalnih celičnih povezav. Druga metoda raziskuje delovanje celic v rezinah možganov, ki jim z ustrezno temperaturo, kislostjo, ionsko sestavo in ostalimi pogoji v raztopini omogo-

čamo kratkotrajno preživetje v petrijevki. V taki možganski rezini lahko raziskovalci natančneje prepoznajo celice, ki jih nato preučujejo. Prav tako lahko raziskujejo učinke različnih snovi, ki jih dodajo možganskim rezinam v laboratoriju.

S temi metodami so znanstveniki prišli do pomembnih spoznanj o sinaptični plastičnosti — sposobnosti sinaps, da okrepijo ali oslabijo prenos signalov v odziv na zaznane prilive impulzov in druge spremembe. Ponavljajoče se vzburljenje živčne celice, ki ga izzovemo z urjenjem živali, da izvaja določeno nalogo, ali pa z neposrednim električnim draženjem nevrona, okrepi sinapse tega nevrona z njegovimi tarčnimi celicami in poveča verjetnost, da se bo naslednja živčna celica odzvala na prihajajoči signal.

Slabost opisanih pristopov elektrofiziologije je, da gre za invazivne metode. Toda niso vse elektrofiziološke metode invazivne: elektroencefalografija (EEG) zaznava električno aktivnost možganov brez poseganja v organizem. Pri EEG namestimo tanke ploščate kovinske elektrode na površino lasišča. Vsaka elektroda je s tanko žičko povezana s strojem, ki beleži električno aktivnost nevronov blizu možganske površine. Ta pristop je bil zlasti koristen pri raziskovanju epilepsije in faz spanja. Žal pa nam EEG ne pove ničesar o delovanju posameznih nevronov. Raziskovalci, ki jih zanima delovanje posameznih nevronov v živih možganih, lahko uporabijo metodo, ki se imenuje dvofotonska mikroskopija. Pri tej metodi mora biti poskusna žival (vinska mušica ali miš) genetsko spremenjena tako, da nekateri nevroni v njenih možganih proizvajajo beljakovino, ki sveti, kadar jo osvetlimo s svetlobo določene valovne dolžine (tj. z laserjem). Dvofotonska mikroskopija je omogočila vpogled v možgane med

normalnimi procesi (npr. učenjem), kot tudi v dogajanje med razvojem bolezni — recimo postopen propad nevronskih odrastkov v bližini odlag bolezensko spremenjenih beljakovin pri Alzheimerjevi bolezni.

GENETSKA ORODJA



Človeški genom je sestavljen iz treh milijard parov gradnikov deoksiribonukleinske kisline (DNK), ki jih imenujemo »baze.« Ta množica adenina (A), citozina (C), gvanina (G) in timina (T) tvori približno 20.000 genov, ki vsebujejo navodila za sintezo beljakovin, dodatne dele DNK, ki imajo regulatorno vlogo, in dele, katerih vlog še ne poznamo. Znanstveniki raziskujejo dednostne dejavnike na mnogo načinov, denimo s sledenjem bolezni ali izbranih značilnosti skozi družinske rodovnike ali z določanjem natančnega zaporedja baz v DNK (t. i. sekvence), ki vsebuje zapis za določeno značilnost. Sodobnejša genetska orodja omogočajo tudi spreminjanje genov in drugih dednih lastnosti v prid boljšemu razumevanju delovanja možganov in v korist zdravljenja motenj ali bolezni.

Znanstveniki pogosto ne vedo, kateri gen ali druga lastnost dedne snovi je temelj neke značilnosti. Ta je lahko izraz zapisa znotraj kate-regakoli od 23 parov kromosomov v človeški celici. Toda raziskave genetskih povezav so raziskovalcem omogočile oblikovanje boljše predstave o položajih posameznih genov. Pri tem raziskovalci najprej izberejo neko že poznano lastnost, ki se deduje skupaj z raziskovano značilnostjo in za katero že vedo, kje se nahaja zapis v kromosomu. Ta pristop, ki olajšuje iskanje še neznanih genov, je botroval spoznanjem o dednih dejavniki številnih nevroloških bolezni.

Ob omembi mutacij verjetno

najprej pomislimo na škodljiv vpliv sprememb posameznih baz v dednem zapisu na organizem. Toda nekatere bolezni niso izraz posameznih napačno zapisanih črk v dedni abecedi, temveč nastanejo zaradi prekomernega števila ponovitev (kopij) istega zapisa v DNK. Tak primer je Huntingtonova bolezen. Normalen gen za beljakovino huntingtin, ki se kopiči pri tej bolezni, vsebuje okoli ducat ponovitev kratkega odseka DNK, pri bolnikih pa število teh ponovitev lahko preseže 100 kopij. Raziskovalci danes uporabljajo t. i. DNK-čipe ali mikromreže, da zaznajo spremembe v številu kopij dela dednega zapisa. Omenjena »mreža« v izrazu mikromreža se nanaša na tisoče točk, urejenih v vrste in stolpce na površini DNK-čipa. Vsaka točka vsebuje znano zaporedje dednega zapisa, ki se lahko poveže z ustreznimi deli dedne snovi v raziskovanem vzorcu. S tem orodjem lahko znanstveniki primerjajo vzorce DNK dveh oseb, ene zdrave in ene z določeno motnjo, in vidijo, ali so delčki zapisa DNK prisotni v več kopijah pri eni od obeh oseb. Druga vrsta mikromreže omogoča prepoznavo morebitne premestitve dela kromosoma (t. i. kromosomska translokacija) iz običajnega mesta na drug kromosom.

V sodobnem času smo pričali izjemnemu napredku postopkov za določanje zaporedja (sekvence) baz (t. i. sekveniranja) DNK, ki omogočajo učinkovito in cenovno dostopno raziskovanje zaporedij baz v DNK, povezanih z boleznimi. V začetku tega tisočletja je projekt Humani genom (ang. Human Genome Project) objavil večino človeškega dednega zapisa. Temu je kmalu sledilo boljše razumevanje delovanja možganov na ravni genov, celic in nevrnalnih omrežij. Genomika lahko pomaga prepoznati genske variacije, ki prispevajo k različ-

nim motnjam, od depresije in shizofrenije do motenj gibanja.

Genetsko raziskovanje je že daleč preseгло branje dednega zapisa. V zadnjih letih so znanstveniki izpilili molekularno orodje, s katerim lahko dedni zapis urejajo bolj natančno in učinkovito kot kdajkoli prej. To orodje, imenovano CRISPR (angl. *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* ali »gručasto urejeno razporejene palindromne ponovitve«), je vzniknilo naravno, kot bakterijski obrambni odziv na viruse. Znanstveniki uporabljajo orodje CRISPR tako, da ga usmerijo na določeni izbrani del DNK-zapisa pri poskusni živali ali na človeških celicah v kulturi. Z dodatkom encimov, ki prepoznani del DNK izrežejo in nadomestijo z novim, lahko znanstveniki ustvarijo mutacije, ki so jih prepoznali pri bolnikih, ali dodajo nove dele zapisa, da preverijo njihove učinke. Z orodjem CRISPR so znanstveniki pri poskusnih glodalcih uspeli posnemati spremembe, kot jih najdemo pri Alzheimerjevi bolezni, z namenom raziskovanja bolezni in možnih postopkov zdravljenja. CRISPR je uporaben tudi za raziskovanje človeških nevronov, ki nosijo mutacije. S tem orodjem se približujemo razumevanju vloge mutacij pri nastanku avtizma, Parkinsonove bolezni in drugih stanj, ki vplivajo na razvoj in delovanje nevronov.

Optogenetika je še en zanimiv primer uporabe genetskih orodij v raziskovanju možganov. Ta izjemna tehnika omogoča raziskovalcem, da nadzorujejo delovanje možganov s svetlobnimi pulzi. Za optogenetsko raziskovanje znanstveniki najprej naredijo mišje nevrone občutljive na svetlobo tako, da v genom živali vstavijo gen za svetlobno občutljivo beljakovino. Nato v možgane vstavijo optične kable, ki s kratkimi pulzi

svetlobe osvetljujejo nevrone in jih tako vzdražijo ali zavrejo, kar se kaže v spremenjenem vedenju živali. Optogenetika je izboljšala naše razumevanje delovanja nevronske omrežij. Omogočila je tudi uravnavanje kompleksnih vedenj živali v različnih razmerah, od spanja do odvisnosti od drog.

Morda tega ne bi pričakovali, a genetika ni vedno vezana na genski zapis. Omenili smo že regulatorne dele DNK, katerih funkcija je uravnavanje izražanja genov. Ti regulatorni odseki DNK in encimi, ki so povezani z njimi, določajo, pod kakšnimi pogoji (npr. v katerih celicah, pri kateri starosti itd.) bo gen izražen in kdaj bo njegovo prepisovanje zavrtlo. Opisane epigenetske spremembe se odvijajo skozi proces, pri katerem se drobni kemijski zaznamki pripnejo na regulatorne odseke v genih. Zaznamki so signali, ki določajo, ali bo gen izražen (in bo botroval nastanku določene beljakovine) ali ne. V zadnjih desetletjih so raziskave epigenetskih mehanizmov prispevale k boljšemu razumevanju vloge genske regulacije v razvoju in delovanju možganov. Razodele so tudi, da lahko mutacije regulatornih delov DNK prispevajo k nastanku bolezni.

Genetika nevroloških bolezni

Vpliv mutacij na izražanje določenih znakov in simptomov bolezni se razlikuje med posamezniki in tudi med boleznimi. Neka mutacija lahko pojasni določene motnje, drugih pa si z njo ne moremo razložiti. Pogosto je mutacija le ena v nizu možnih genetskih sprememb pri bolniku. Vzemimo za primer lizencefalijo (starogr. *lissos* (gladek) in *enkephalon* (možgani)), razvojno motnjo, pri kateri je površina možganov povsem gladka (in ne prekrita z značilnimi vijugami možganske skorje). Dojenčki s to motnjo kmalu po rojstvu

razvijejo obliko epilepsije, ki ni odzivna na zdravila, ter kažejo izrazito intelektualno in motorično oškodovanost. Okoli 70 odstotkov teh bolnikov ima mutacijo v genu *LIS1*, toda prepoznani sta vsaj še dve drugi mutaciji, ki lahko povzročita takšno okvaro. Pri drugi genski motnji, t. i. sindromu Kabuki, so v ospredju klinične slike umska oškodovanost, značilen videz obraza, počasna rast in drugi znaki. Diagnoza te bolezni je zahtevna zaradi širokega razpona možnih manifestacij. Sekveniranje DNK je pokazalo, da ima večina bolnikov s sindromom Kabuki mutacijo v genu *KMT2D*, a te mutacije ne najdemo pri vseh bolnikih, nekateri bolniki pa jo imajo le v nekaterih celicah. Dodatno so pri bolnikih s tem sindromom našli mutacije v drugih genih, ki imajo podobno vlogo kot gen *KMT2D*.

Nosilci mutacij niso vedno bolni – ne kažejo nujno znakov bolezni. Sindrom krhkega kromosoma X, najpogostejši vzrok prirojene umske oškodovanosti moških, je posledica prekomernega števila ponovitev kratkih odsekov v genu *FMR1*. Produkt tega gena, ki je nujno potreben za delovanje sinaps, je okvarjen. Nekateri posamezniki z večjim številom ponovitev odsekov v *FMR1* sami niso prizadeti, a zelo verjetno napako posredujejo potomcem, pri katerih se število ponovitev lahko poveča in so zato umsko oškodovani.

ORODJA ZA RAZISKOVANJE VEDENJA

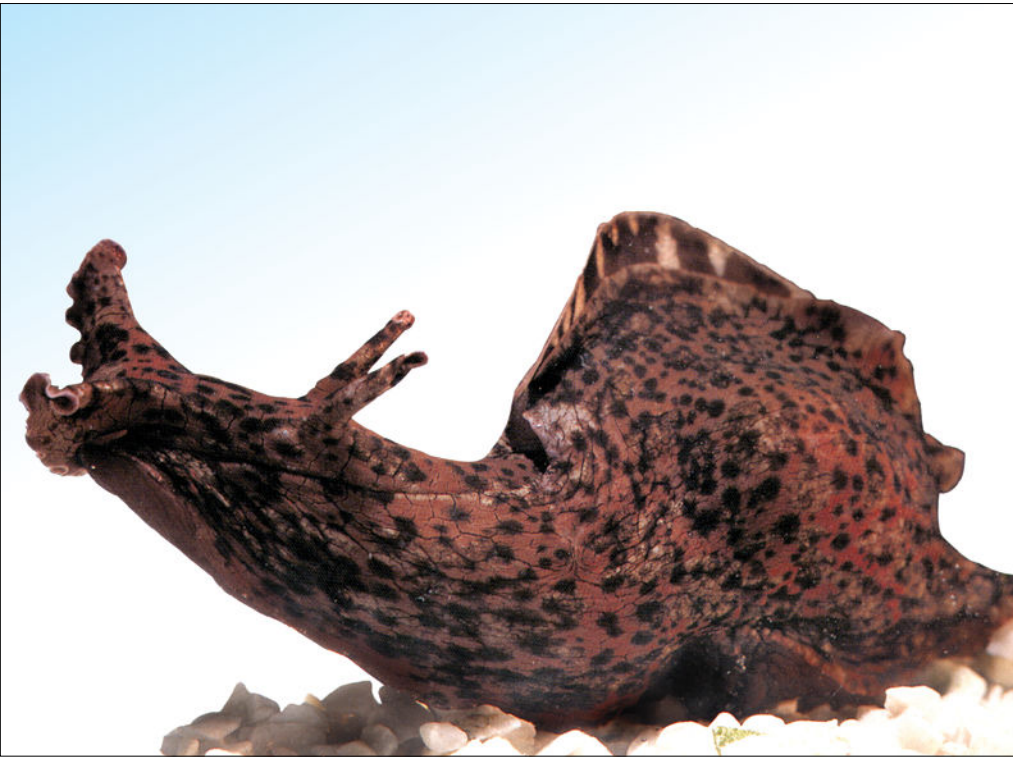


Raziskovalci se pogosto zatekajo k poskusom na živalih v iskanju odgovorov na vprašanje, kako delovanje možganov poraja vedenje. Dvajset centimetrov dolg morski polž (lat. *Aplysia*), ki nima možganov, ni videti kot obetaven model za raziskave delovanja možganov, a skozi leta so poskusi na tej živali

razkrili pomembne mehanizme učenja in spomina. *Aplysia* ima le okoli 10.000 nevronov (človek jih ima okoli 86 milijard), a nekateri med njimi so dovolj veliki, da se jih vidi s prostim očesom, in so zato dostopen poskusni model. *Aplysia* izraža preproste vedenjske vzorce, ki jih lahko spremenjamo s treningom. Ob blagem električnem sunku polžjega repa se nenaučen polž odzove z refleksnim odmikom škrge. Lahko pa ga naučimo, da umakne škrgo že v odziv na neškodljiv dotik, če smo tak dotik med treningom polža »povezali« s sočasnim električnim sunkom. Znanstveniki so ugotovili, kako časovni potek treninga vpliva na učenje, in odkrili molekule, ki okrepijo sinapse pri polžu tako, da je ob naslednjem dražljaju odziv nevronov večji. Velik del teh mehanizmov, odkritih pri polžu, velja tudi za človeka.

Vinska mušica (lat. *Drosophila*) je še en pogost živalski model za preučevanje vedenja, posebno v raziskavah vplivov genetskih dejavnikov na vedenje. Variacije v enem izmed genov (t. i. *foraging gene*) določajo, ali se bodo mušice med hranjenjem premikale ali bodo ostale na mestu. Mušice z mutacijami v drugem genu (t. i. *timeless gene*) ne izražajo normalnega dnevnega ciklusa budnosti in spanja. Mutacije genov vplivajo na velik razpon vedenja mušic, od agresivnosti do dvorjenja, kot tudi na učenje in spomin. Mnogi od teh genov imajo ustrezne v človeškem genomu.

Odvisnost je eden večjih izzivov v raziskovanju človeškega vedenja. Pomembno je, da to motnjo začnemo bolje razumevati in da najdemo nove načine zdravljenja. Nekateri poskusni živali, denimo podgane, bodo uživale alkohol in droge, tudi če so ob tem deležne neprijetnih dražljajev, kot sta grenak priokus ali električni sunek.



National Human Genome Resource Institute.

Zaradi živčevja, ki je veliko bolj preprosto od sesalskega, je bil morski polž *Aplysia* pomemben živalski model v zgodnjih raziskavah nevrobiologije učenja in spomina.



Paulomeloadv.

Drosophila melanogaster (na sliki) se pogosto uporablja v raziskavah možganov in vedenja

Znanstveniki so odkrili spremembe v možganih živali, ki kažejo takšno, za odvisnost značilno vedenje, in odslkavajo nekatere značilnosti možganov ljudi z odvisnostjo. Zanimivo je, da nekateri soji podgan izražajo veliko dovzetnost za razvoj odvisnosti in vračanje k vedenju, značilnem za odvisnost, medtem ko so drugi bolj odporni. S primerjanjem genetskih značilnosti dveh sojev podgan z različno nagnjenostjo k odvisnosti od kokaina so znanstveniki prepoznali genetske različice, povezane z enim in drugim vedenjem; izsledki kažejo, da vključeni geni in njihovo epigenetsko uravnavanje igrajo vlogo v dovzetnosti za razvoj odvisnosti. Te raziskave lahko pripomorejo k boljšemu razumevanju razvoja odvisnosti pri ljudeh, lahko pa tudi utrejo pot k prepoznavi posameznikov z večjim tveganjem za to motnjo.

Znanstveniki raziskujejo tudi vedenje ljudi. Zgodnje raziskave povezav določenih vedenj z aktivnostjo možganskih predelov so potekale kot opazovalne raziskave vedenja in osebnostnih značilnosti posameznikov, ki so utrpeli okvare majhnih predelov možganov zaradi poškodb ali kirurških posegov. Tako so raziskovalci ugotovili, da so ljudje po okvari čelnega režnja pogosto postali neobzirni in impulzivni. Sodobne slikovne metode, ki jih predstavljamo v nadaljevanju, tudi omogočajo razumevanje povezav možganske aktivnosti z določenimi vedenji. Prepoznavna človeških obrazov pri preiskovancih poteka sočasno s povečano aktivnostjo majhnega predela možganske skorje, ki pa ni aktiven, kadar isti preiskovanci opazujejo živalske obraze. Tehnike funkcijskega slikanja možganov so uporabne tudi za raziskovanje motenj v delovanju možganov, recimo za določanje predelov v možganih, ki so bolj aktivni pri

bolnikov s shizofrenijo med doživljanjem slušnih halucinacij.

ORODJA ZA BIOKEMIJO



Čeprav veliko govorimo o prenosu električnih signalov vzdolž živčnih celic, možgani v prenosu informacij uporabljajo tudi molekule in kemijsko sporočanje med celicami. Nevrotransmiterji so kemijski sporočevalci, ki potujejo skozi sinaptično špranjo in prenašajo informacijo od presinaptične (dohodne) celice k postsinaptični (odhodni). Z uporabo mikrodializne metode lahko raziskovalci spremljajo takšno kemijsko sporočanje. S tankimi cevčicami, ki jih vstavijo v možgane, vzorčijo majhne količine tekočine tik ob nevronih in analizirajo kemijsko sestavo te tekočine. Na primer, z analizo kemijske sestave tekočine tik ob nevronih med procesom učenja lahko raziskovalci prepoznajo molekule, ki so udeležene v medceličnem sporočanju tekom učenja.

Mikrodializo pa lahko uporabimo tudi za dostavljanje snovi v možgane. Mnoge snovi imajo pomembne učinke na možgane in z natančnim odmerjanjem in raziskovanjem učinkov teh snovi na posamezne nevrone v možganih lahko bolje razumemo mehanizme njihovega delovanja. Farmakologija, veda o vplivih različnih učinkovin (npr. zdravil ali drugih snovi) na biološki sistem, se posveča raziskovanju novih snovi, denimo za lajšanje bolečine ali zdravljenje psihiatričnih bolezni, raziskuje pa tudi mehanizme odvisnosti in drugih neželenih učinkov različnih snovi.

Še ena pomembna metoda za raziskovanje delovanja molekul v možganih je masna spektrometrija. Po pridobitvi vzorca iz možganov (npr. z uporabo metode, kot je mikrodializa) izpostavimo snovi v vzorcu ionizaciji (tako

postanejo električno nabite), nakar jih pošljemo skozi električno ali magnetno polje, kjer na njihovo premikanje ključno vpliva njihova masa. Tako lahko pridobimo dragocene podatke o značilnostih molekul. Masna spektrometrija je pomembno prispevala k raziskovanju neurodegenerativnih bolezni. Primer je eno izmed zdravil za Parkinsonovo bolezen, ki ima izrazite neželene učinke, kot so nehoteni gibi. Z uporabo masne spektrometrije so raziskovalci določili predel v možganih, kjer omenjeno zdravilo proži nehotene gibe. Takšna spoznanja lahko peljejo k postopkom za ublažitev ali preprečitev neželenih učinkov.

ORODJA ZA RAZISKAVE NA LJUDEH



Mnoge od predstavljenih metod so preveč invazivne za uporabo na ljudeh. To pa ne velja za nove pristope k slikovnemu prikazu delovanja možganov, saj ti ne terjajo vrtanja lukenj v lobanjo in nimajo drugih trajnih posledic. Funkcijsko slikanje z magnetno resonanco (znano pod kratico fMRI iz angl. *functional magnetic resonance imaging*) lahko uporabimo za snemanje možganske aktivnosti osebe, ki mirno leži v tunelu snemalne naprave (skenerja). S to metodo lahko zaznavamo spremembe v pretoku krvi in razlike v oksigenirani (s kisikom bogati) in deoksigenirani (iz katere je kisik že izstopil v tkivo) krvi, saj bolj aktivni predeli možganov potrebujejo več kisika in hranil, ki jih prinaša oksigenirana kri. Čeprav so te spremembe le posredni izraz nevronske aktivnosti, lahko z njimi dokaj natančno spremljamo delovanje možganskih predelov.

Za razliko od fMRI, kjer spremljamo spremembe pretoka krvi, lahko z magnetoencefalografijo (MEG) zaznavamo dejanske električne tokove



Magnetnoresonančni slikovni podatki (MRI) so vir podrobnih slik organov, kot so možgani.



Miši so med najpomembnejšimi živalmi v raziskavah živčevja.

skozi gruče nevronov. Kadar je vzdraženje nevronov usklajeno (synchronizirano), njihovi skupni električni tokovi ustvarjajo šibka magnetna polja, ki jih oprema za MEG lahko zazna. Preiskovanec sedi ali leži, njegovo glavo pa obdaja čeladi podobna naprava, ki zaznava magnetna polja. MEG je bil uporaben v mnogih raziskavah: od raziskovanja odzivanja slušne skorje na zvoke do prepoznavne predelov v možganih, kjer vznikne epileptična aktivnost. MEG je uporabna za spremljanje hitrih sprememb v možganski aktivnosti (ima visoko časovno ločljivost), ne more pa natančno določiti izvora aktivnosti (ima slabšo prostorsko ločljivost). Zato raziskovalci

kombinirajo podatke, pridobljene z MEG (za hitro sledenje spremembam možganske aktivnosti), s tistimi od fMRI (ki odprejo vpogled v prostorske značilnosti delovanja možganov).

Bližnja infrardeča spektroskopija (angl. *near-infrared spectroscopy* - NIRS) je podobna fMRI v tem, da spremlja pretok oksigenirane krvi za posredno oceno nevronske aktivnosti. Ključna razlika je v tem, da NIRS omogoča zgolj meritve aktivnosti blizu površine možganov. Obenem pa je ta metoda precej cenejša in manj zahtevna od fMRI ter bolj udobna za preiskovanca. Za izvedbo NIRS potrebujemo le posebno kapo z ustrezno napeljavo, ki omogoča obsevanje z laserskimi žarki (moč je manjša od 1 megavata) in zaznavanje svetlobe po njenem prehodu skozi možgane. NIRS je uporabna za oceno nekaterih možganskih okvar in spremljanje oksigeniranosti možganov bolnikov v splošni anesteziji. Zaradi enostavne uporabe je NIRS - za razliko od fMRI - priročna za spremljanje možganske aktivnosti tudi v razmerah, ko ljudje izvajajo različne naloge (npr. vozijo avtomobil po avtocesti).

Pozitronska izsevna tomografija (angl. *positron emission tomography* - PET) zaznava kratkožive radioaktivne snovi, ki jih preiskovancem vbrizgamo v kri. Radioaktivne snovi so lahko različne, recimo kisik, glukoza, neurotransmiter ali drobna molekula, ki se veže na bolezensko spremenjene beljakovine. PET-skener

zaznava razporeditev teh snovi v telesu. Če uporabimo radioaktivni kisik, lahko ocenjujemo pretok krvi, radioaktivni neurotransmiter pa bomo našli v predelih možganov, kjer je ta molekula udeležena pri prenosu informacij in kjer se nahajajo ustrezni receptorji. PET lahko označi tudi beljakovinske plake, značilne za Alzheimerjevo bolezen, kar omogoča prepoznavo bolezenskih sprememb zgodaj v razvoju bolezni. PET ima zgledno časovno ločljivost (podobno kot MEG), nima pa dobre prostorske ločljivosti. Nekatero metode za raziskovanje človeških možganov lahko tudi spreminjajo možgansko aktivnost. Primer je magnetno draženje možganov skozi lobanjo (angl. *transcranial magnetic stimulation* - TMS). Pri TMS tuljavo, ki ustvarja magnetno polje, približamo glavi preiskovanca. Magnetno polje prodira skozi lobanjo in prehodno vzburi ali utiša predel možganske skorje. TMS zato lahko uporabljamo za lajšanje psihiatričnih motenj, kot so tesnoba, depresija ali posttravmatska stresna motnja. Zdi se, da je TMS uporabna možnost pri motnjah, ki se ne odzivajo na zdravlila.

Čeprav je nevroznanost izjemno napredovala, odkar so raziskovalci prvič ugotovili nevrone pod mikroskopom, mnogih pojavov, povezanih z uporabo sodobnih raziskovalnih metod, še ne razumemo. Primer so podatki, ki jih pridobimo z EEG. Metoda kaže, da imajo različni predeli možganov zanje značilne ele-

ktrične ritme ali nihanja (oscilacije). To velja denimo za vidno skorjo. Čeprav uporabljamo EEG že od leta 1929, še vedno ne razumemo, kako nevalna omrežja ustvarjajo te vzorce (imeno-vane »možganski valovi«).

Ena veja nevroznanosti, ki lahko pomaga premostiti vrzel med spoznanji na mikroskopski ravni z onimi, ki jih dobimo z opazovanjem celih možganov, je **računska nevroznanost**. Raziskovalci znotraj te discipline razvijajo teorije ali modele o tem, kako možgani procesirajo informacije, nato pa preverjajo delovanje teh modelov glede na resnične podatke, pridobljene z raziskovanjem živčevja. Tako lahko denimo analizirajo podatke iz EEG in slike iz fMRI, nato pa razvijajo matematične modele za razlago udeležene nevronske in omrežne aktivnosti. Podatki, zbrani s številnimi metodami, ki smo jih predstavili v tem poglavju (npr. elektrofizilogija, molekularne raziskave, anatomija, funkcijsko slikanje možganov), lahko prispevajo k izboljšanju teh računskih modelov.

To poglavje je ponudilo prelet raziskovalnih metod, ki so spodbudile in še vedno spodbujajo odkritja v nevroznanosti. Z vznikom novih tehnik in tehnologij bodo tudi te postale del nabora pristopov za boljše razumevanje možganov in odkrivanje novih pristopov za pomoč ljudem, ki jih prizadenejo boleznimi možganov. ■