

Krzysztof Bielski<sup>1</sup>, Marcel Falkiewicz<sup>2</sup>, Emilia Kolada<sup>1</sup>, Iwona Szatkowska<sup>1</sup>

## Metody przyżyciowego (*in vivo*) określania organizacji ciała migdałowatego u ludzi – aktualny stan wiedzy

Methods for *in vivo* determination the amygdala organisation in humans: state of the art

<sup>1</sup> Pracownia Psychofizjologii, Zakład Neurofizjologii, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, Warszawa, Polska

<sup>2</sup> Max Planck Research Group for Neuroanatomy & Connectivity, Max Planck Institute for Human Cognitive and Brain Sciences, Leipzig, Germany

Adres do korespondencji: Dr hab. Iwona Szatkowska, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa, tel.: +48 22 589 23 95, e-mail: i.szatkowska@nencki.gov.pl

### Streszczenie

Ciało migdałowe jest parzystą strukturą podkorową zlokalizowaną w płatach skroniowych mózgu. Struktura ta wzbudza zainteresowanie badaczy ze względu na jej związek z emocjami i procesami uczenia się. Badania z udziałem zwierząt sugerują, że grupy jąder znajdujące się w różnych częściach ciała migdałowatego są elementami odrębnych sieci neuronowych i mogą pełnić odmienne funkcje w procesach emocjonalnych i poznawczych. Część autorów dochodzi wręcz do wniosku, że ciało migdałowe zostało uznane za jedną strukturę wyłącznie z powodu bliskiego położenia grup jąder. Zweryfikowanie tej hipotezy w odniesieniu do ludzi jest bardzo trudne, ponieważ do niedawna wyodrębnienie części ciała migdałowatego w ludzkim mózgu było możliwe jedynie dzięki badaniom anatomicznym wykonywanym pośmiertnie. Dopiero w ostatnich latach, za pomocą technik rezonansu magnetycznego, podjęto próby określenia części ciała migdałowatego na podstawie strukturalnych i funkcjonalnych połączeń z innymi obszarami mózgu. Dotychczas przeprowadzono nieliczne badania dotyczące tego zagadnienia, jednak ich wyniki nie są spójne – ani pod względem liczby wyodrębnionych części, ani pod względem ich lokalizacji. Przyczyn otrzymania niejednoznacznych wyników można upatrywać w stosowaniu różnych metod określania połączeń, w różnych parametrach akwizycji danych oraz w posługiwaniu się różnymi technikami analizy, przede wszystkim zaś w wykorzystywaniu różnych algorytmów grupujących. Przyszłe badania powinny zatem koncentrować się na opracowaniu jak najbardziej wiarygodnego sposobu wyróżniania części ciała migdałowatego, który pozwoliłby na jednoznaczne ich zidentyfikowanie. Tylko wtedy możliwe będzie pełne poznanie funkcjonalnej organizacji ciała migdałowatego u ludzi.

**Słowa kluczowe:** ciało migdałowe, funkcjonalny rezonans magnetyczny, obrazowanie tensora dyfuzji, analiza skupień

### Abstract

The amygdala is a subcortical structure located bilaterally in the medial temporal lobes. This structure captures the attention of neuroscientists due to its role in emotion processing and learning. Animal studies indicate that groups of nuclei situated in different parts of the amygdala are components of distinct neural circuits underlying in a varied way emotional and cognitive processes. Some authors even argue that the amygdala is deemed a single unit only owing to nuclei groups located closely. Verifying such a hypothesis with regard to humans is very difficult as, until quite recently, there has been only one method of amygdala parcellation, based on *post-mortem* anatomical tissue analysis. However, in more recent years, several attempts have been made to parcellate the human amygdala on the basis of structural and functional connectivity with other areas of the brain using magnetic resonance imaging techniques. Results of analyses conducted until now are not congruent in respect of the number and localisation of the obtained amygdala parts. This may be a consequence of using different techniques (functional magnetic resonance imaging or diffusion tensor imaging), various acquisition parameters of scanner and distinct data analysis procedures, especially clustering algorithms. Future research should be focused on the development of the most reliable method for parcellation of the human amygdala to enable clear identification. This will allow one to learn more about the functional organisation of this structure in humans.

**Key words:** amygdala, functional magnetic resonance imaging, diffusion tensor imaging, clustering

## CIAŁO MIGDAŁOWATE JAKO STRUKTURA NIEJEDNORODNA

Ciało migdałowe jest strukturą podkorową zlokalizowaną obustronnie (symetrycznie w obu półkulach mózgu) w przyśrodkowej części płatów skroniowych. Aktywność tej struktury wiąże się z takimi procesami, jak przetwarzanie informacji emocjonalnej (Phelps i LeDoux, 2005), warunkowanie strachu (LeDoux, 2000) czy uczenie się w oparciu o nagrodę (O'Doherty, 2004). Obserwacje kliniczne wskazują, że w wielu schorzeniach psychicznych, np. w zaburzeniach ze spektrum autyzmu (*autism spectrum disorder*, ASD) (Gaigg i Bowler, 2007), schizofrenii (Barbour *et al.*, 2010) i zaburzeniach lękowych (Blechert *et al.*, 2007), procesy te nie przebiegają prawidłowo. We wszystkich wymienionych schorzeniach obserwuje się nieprawidłowe funkcjonowanie ciała migdałowego.

Badania neurobiologiczne przeprowadzone na gryzoniach (np. Knapska *et al.*, 2007) i małpach (Amaral *et al.*, 1992) wykazały heterogenną budowę ciała migdałowego. Najczęściej wyróżnia się trzy części tej struktury mózgu, chociaż badacze nie są zgodni co do tego, na jakie odrębne podjednostki można ją podzielić. Według często podawanej klasyfikacji anatomiczno-czynnościowej ciało migdałowe dzieli się na:

1. grupę jąder będącą tylnio-brzusznym rozszerzeniem prążkowia (złożoną z jądra środkowego – *central nucleus*, przyśrodkowego – *medial nucleus* i przedniego pola migdałowego – *anterior amygdalar area*);
2. grupę jąder będącą częścią tylnej kory węchowej (*caudal olfactory cortex*) (złożoną z jąder korowych – *cortical nuclei*, jądra bocznego pasma węchowego – *nucleus of the lateral olfactory tract*, pola gruszkowato-migdałowego – *piriform amygdalar area*);
3. grupę jąder związanych z obszarami korowymi czołowo-skroniowymi (złożoną z jąder podstawnych przyśrodkowego i bocznego – *medial/basal nucleus*, jądra bocznego – *lateral nucleus* oraz jądra tylnego – *posterior nucleus*) (Swanson i Petrovich, 1998).

Według bardziej współczesnej klasyfikacji jądra ciała migdałowego można podzielić na nieco inne grupy:

1. grupę jąder głębokich (*deep*), do których zaliczane są: jądro boczne, podstawne i podstawno-boczne;
2. grupę jąder powierzchniowych (*superficial*), w której skład wchodzi jądra korowe i jądro bocznego pasma węchowego;
3. grupę jąder środkowo-przyśrodkowych (*centromedial*), złożoną z jądra przyśrodkowego i środkowego (np. Sah *et al.*, 2003; Yilmazer-Hanke, 2012).

Stosowanie różnych klasyfikacji pokazuje, że kwestia podziału jąder ciała migdałowego to temat wciąż otwarty, dyskutowany i wymagający dalszych badań.

Badania na zwierzętach wykazały, że grupy jąder znajdujące się w poszczególnych częściach ciała migdałowego pełnią odmienne funkcje w procesach emocjonalnych

i poznawczych (np. Knapska *et al.*, 2007; Parkinson *et al.*, 2000; Sah *et al.*, 2003). Część autorów dochodzi wręcz do wniosku, że zostało ono uznane za jedną strukturę wyłącznie z powodu bliskiego położenia grup jąder (Swanson i Petrovich, 1998). W badaniach z udziałem ludzi coraz częściej podejmowane są próby uwzględnienia anatomicznego i funkcjonalnego różnicowania tej struktury. Jednak metody, które umożliwiły wyróżnienie grup jąder ciała migdałowego w organizmach zwierzęcych, są inwazyjne i niemożliwe do zastosowania w badaniach z udziałem ludzi. Dlatego w ostatnich latach liczne ośrodki naukowe koncentrują się na opracowaniu jak najlepszej metody, która umożliwi podział ciała migdałowego *in vivo* w organizmie ludzkim. Istnieje szereg takich metod, ale każda z nich pozwala na określenie nieco innego wymiaru organizacji tej struktury mózgu. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie aktualnie stosowanych sposobów wyróżniania odrębnych części ciała migdałowego u ludzi.

### PODZIAŁ CIAŁA MIGDAŁOWATEGO NA PODSTAWIE CECH MIKROSKOPOWYCH

Do cech mikroskopowych najczęściej branych pod uwagę przy podziale struktur mózgu na mniejsze jednostki należą:

1. cechy morfologiczne tkanki, takie jak gęstość neuronów w danym obszarze, rozmiar komórek, pojawienie się komórek innego typu (Zilles *et al.*, 2015), określane jako cytoarchitektonika;
2. cechy budowy otoczki mielinowej rozmieszczonej wzdłuż aksonów (gęstość mieliny oplatającej aksony neuronów znajdujących się w danym obszarze), określane jako mieloarchitektonika (Nieuwenhuys, 2013);
3. cechy budowy chemicznej danych struktur (skład chemiczny receptorów błonowych i komórek jako takich, różnice w występowaniu neuroprzekazników na danym obszarze, rodzaj komórek nerwowych – hamujące lub pobudzające), określane jako chemoarchitektonika lub, bardziej szczegółowo, receptoarchitektonika (Zilles i Amunts, 2009).

Pośród wyżej wymienionych metod do przyżyciowego podziału ciała migdałowego u ludzi przyczyniła się jedynie analiza cytoarchitektoniczna wykonywana pośmiertnie (*post mortem*). W jedynym opublikowanym badaniu tego typu analizowano materiał tkankowy pochodzący od 10 osób – 5 kobiet i 5 mężczyzn o średniej wieku 64,9 roku (Amunts *et al.*, 2005). Autorzy podzielili opisywaną strukturę na trzy części, zgodnie z podziałem zaproponowanym na podstawie modeli zwierzęcych: część podstawno-boczną (*basolateral*), część środkowo-przyśrodkową (*centromedial*) i część korową (*superficial*). Podział ten jest zgodny z wynikami doświadczeń na materiale tkankowym pochodzącym od gryzoni i małp.

Następnie podział uzyskany w badaniach cytoarchitektonicznych został wykorzystany do badań *in vivo*. W tym celu określoną *post mortem* lokalizację poszczególnych części ciała migdałowego oznaczono w standardowej

przestrzeni stereotaktycznej MNI, używanej w badaniach z użyciem rezonansu magnetycznego (*magnetic resonance imaging*, MRI) (Amunts *et al.*, 2005; Eickhoff *et al.*, 2005). Każdemu fragmentowi mózgu w standardowej przestrzeni przypisano prawdopodobieństwo, z którym dany woxel (najmniejszy element obrazu pochodzącego z MRI) należy do każdej ze struktur określonych w analizie *post mortem* (Eickhoff *et al.*, 2005, 2006). Na uzyskany w ten sposób atlas probabilistyczny można nałożyć obrazy funkcjonalne znormalizowane do przestrzeni MNI, by następnie określić lokalizację poszczególnych części na poziomie indywidualnym, czyli u pojedynczej osoby (ryc. 1 B). U podstaw prezentowanego podejścia leży założenie, że lokalizacja tych części jest względnie stała, a atlas probabilistyczny odzwierciedla rozkład ich lokalizacji w populacji. Taki sposób podziału ciała migdałowatego wykorzystano w wielu badaniach nad procesami uczenia się (Boll *et al.*, 2013), zaburzeniami psychicznymi (Barbour *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2014; Etkin *et al.*, 2009) czy połączeniami ciała migdałowatego z innymi strukturami mózgu (Roy *et al.*, 2009).

W ostatnich latach zaczęto jednak dostrzegać ograniczenia tej metody. Przede wszystkim prawdopodobieństwa przypisane w atlasie każdemu fragmentowi mózgu są wyliczone na podstawie bardzo małej grupy (10 osób) o średniej wieku wynoszącej prawie 65 lat. Ponieważ wraz z wiekiem rozmiary i kształty struktur mózgu podlegają zmianom (nawet u osób niedotkniętych chorobami neurodegeneracyjnymi), nie można mieć pewności, że zastosowanie tego atlasu będzie dawało wiarygodne wyniki np. u osoby 20-letniej. Innym argumentem przeciwko stosowaniu atlasu probabilistycznego jest spostrzeżenie, że zawarte w nim mapy poszczególnych części ciała migdałowatego nachodzą na sąsiednie obszary mózgu, w tym na istotę białą znajdującą się w przyśrodkowej części płata skroniowego (Hrybowski *et al.*, 2016; Prévost *et al.*, 2011).

Trudność związana z podzieleniem ludzkiego ciała migdałowatego na podstawie cech mikroskopowych, a zwłaszcza nieprecyzyjność wyników otrzymywanych przy użyciu atlasu probabilistycznego, doprowadziła do dalszych poszukiwań metod, które umożliwiłyby określenie organizacji tej struktury *in vivo*. W tym celu wzięto pod uwagę cechy charakterystyczne dla budowy mózgu w skali makroskopowej.

## PODZIAŁ CIAŁA MIGDAŁOWATEGO NA PODSTAWIE CECH MAKROSKOPOWYCH

### Podział manualny

Części określonego obszaru mózgu można zidentyfikować na obrazach strukturalnych z MRI, ustalając ich granice na podstawie cech makroanatomicznych lub innych charakterystycznych cech strukturalnych otoczenia, takich jak gradient istoty szarej i białej, sąsiedztwo innego obszaru lub przestrzeni wypełnionych płynem mózgowo-rdzeniowym (Entis *et al.*, 2012). W tym paradygmacie

stosuje się metodę manualnego podziału obszarów mózgu. Polega ona na tym, że badacz, opierając się na dostępnych atlasach mózgu (w wielu badaniach tego typu stosuje się *Atlas of the Human Brain* autorstwa Mai *et al.*, 2008), wyrysowuje na skanie strukturalnym MRI granice między częściami analizowanego obszaru. Skuteczność tej metody w dużym stopniu zależy od doświadczenia badacza w rozpoznawaniu cech charakterystycznych danego obszaru mózgu i jego otoczenia; co więcej, trudno uwzględnić różnice indywidualne w budowie poszczególnych obszarów. Metoda manualnego podziału ciała migdałowatego została opisana w pracy Entisa i wsp. (2012), w której wykazano, że można je podzielić na cztery odrębne grupy jąder (ryc. 1 C), oraz w pracy Prévost i wsp. (2011), w której badano procesy asocjacyjnego uczenia się w odniesieniu do trzech grup jąder.

### Analiza połączeń

Drugim sposobem wyróżniania odrębnych części ciała migdałowatego na podstawie cech makroskopowych jest identyfikacja wzorców połączeń każdej grupy jąder. Można założyć, że skoro części podstawno-boczna, śródkowo-przyśrodkowa i korowa pełnią różne funkcje w procesach emocjonalnych i poznawczych, to powinny należeć do nieco innych obwodów neuronalnych (Knapska *et al.*, 2013; Prévost *et al.*, 2011). Badania na zwierzętach (przeprowadzone za pomocą różnych metod) (Knapska *et al.*, 2007; LeDoux, 2000; Swanson i Petrovich, 1998) oraz analizy z użyciem funkcjonalnego MRI (fMRI) i atlasu probabilistycznego u ludzi (Etkin *et al.*, 2009; McHugh *et al.*, 2014; Roy *et al.*, 2009) faktycznie wykazują różnice w profilu połączeń poszczególnych części ciała migdałowatego z innymi obszarami mózgu.

Możliwość badania połączeń odrębnych części ciała migdałowatego za pomocą MRI stwarzają dwie techniki: obrazowanie tensora dyfuzji (*diffusion tensor imaging*, DTI) i obrazowanie funkcjonalnym rezonansem magnetycznym w stanie spoczynkowym (*resting-state fMRI*). Na podstawie połączeń konkretnych wokseli ciała migdałowatego z innymi obszarami mózgu można pogrupować wokselse według kryterium podobieństwa wzorców połączeń – grupy takie nazywa się skupieniami. Poszczególne skupienia można utożsamiać z określonymi częściami ciała migdałowatego, o ile pod względem lokalizacji, kształtu, rozmiarów i połączeń z innymi obszarami mózgu są do nich podobne.

### Obrazowanie tensora dyfuzji

DTI umożliwia analizę połączeń strukturalnych między obszarami mózgu na podstawie pomiaru dyfuzji cząsteczek wody. Ze względu na złożoną budowę tkankowo-komórkową mózgu przebieg dyfuzji cechuje się różnymi właściwościami mobilności i kierunkowości. Charakterystyki procesu dyfuzji zależą od ułożenia większości włókien aksonalnych zlokalizowanych w wyodrębnionych wokselsach (Jones, 2008). Dzięki badaniu DTI można określić

przeważającą kierunkowość włókien aksonalnych, zwykle w kierunkach przód–tył, góra–dół oraz lewa–prawa (Solano-Castiella *et al.*, 2010). Z każdego woksela prowadzi się najbardziej prawdopodobną ścieżkę włókien aksonalnych do innych struktur mózgu. W zależności od tego, ile razy w określonej liczbie prób połączenie z danego woksela dotrze do innej struktury, obliczane jest prawdopodobieństwo, że dwie struktury są ze sobą połączone. Każdemu wokselowi można przypisać prawdopodobieństwo połączenia z innym wokselem. Woksele o podobnym wzorcu prawdopodobieństwa połączeń z innymi strukturami można zaś pogrupować w skupienia – mogące odpowiadać poszczególnym strukturom anatomicznym.

Dotychczas ukazały się trzy prace opisujące podział ciała migdałowego na podstawie analizy połączeń strukturalnych za pomocą obrazowania tensora dyfuzji. Analizując wzorce prawdopodobieństwa połączeń, Solano-Castiella i wsp. (2010) podzielili ciało migdałowe na dwie części: boczną i przyśrodkową. W drugim badaniu analizowano jedynie połączenia ciała migdałowego z korą oczodołowo-czołową oraz biegunem skroniowym i na tej podstawie również udało się podzielić ciało migdałowe na dwie części. Jedną nazwano częścią powierzchowną (*superficial*), a drugą – częścią głęboką (*deep*). Część powierzchowna zawierała środkowo-przyśrodkową i korową grupę jąder, a część głęboka obejmowała podstawno-boczną grupę jąder (Bach *et al.*, 2011) (ryc. 1 D). W trzecim badaniu,

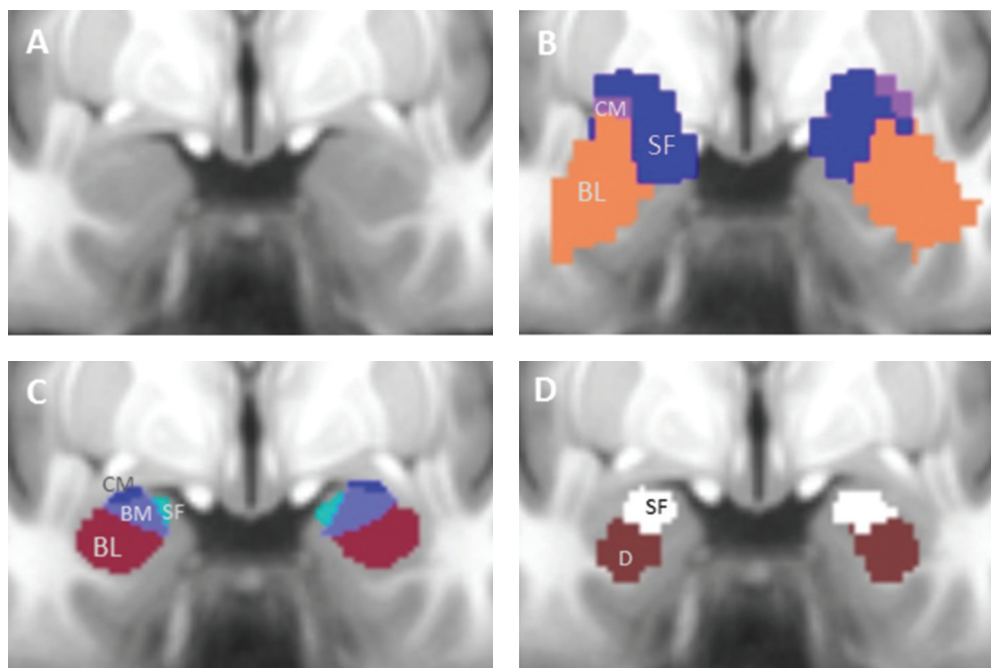
przeprowadzonym w skanerze MRI o wysokiej sile pola, wyodrębniono cztery części ciała migdałowego: środkową, przyśrodkową oraz – przez rozdzielenie części podstawno-bocznej na dwie jednostki – boczną i podstawną (Saygin *et al.*, 2011).

Za pomocą omawianej metody nie uzyskano powtarzalnych rezultatów. Na przykład wyniki otrzymane przez Solano-Castiellę i wsp. (2010) nie korespondują ani z wynikami innych badań, w których zastosowano tę metodę (np. Bach *et al.*, 2011), ani z wynikami podziału cytoarchitektonicznego (Amunts *et al.*, 2005). Przyczyny rozbieżności wyników można upatrywać w przyjmowaniu różnych założeń początkowych oraz stosowaniu odmiennych parametrów obrazowania i sposobów analizy danych. Z tego względu trudno jest ocenić wiarygodność DTI w odniesieniu do określania organizacji ciała migdałowego.

### Funkcjonalny rezonans magnetyczny w stanie spoczynkowym

Druga z metod pozwalających na podział ciała migdałowego na podstawie wzorca połączeń poszczególnych jego części dotyczy tzw. sieci funkcjonalnych. Sieci funkcjonalne określają połączenia między obszarami, które współdziałają podczas pracy mózgu. Obrazowanie tych sieci jest możliwe dzięki badaniu fMRI w stanie spoczynkowym.

Metoda ta opiera się na analizie fluktuacji sygnału BOLD (jest to miara zależności między ilością oksyhemoglobiny



Ryc. 1. Obraz ciała migdałowego uzyskany za pomocą technik MRI i różnych metod parcelacji. Fragment obrazu T1-zależnego przedstawiający ciało migdałowe (A), na który nałożono wyniki parcelacji otrzymane przy zastosowaniu: (B) map probabilistycznych opracowanych na podstawie badań cytoarchitektonicznych post mortem (Amunts *et al.*, 2005); (C) parcelacji manualnej wykonanej przez EK na podstawie protokołu zdefiniowanego przez Entisa i wsp. (2012) oraz (D) mapy probabilistycznej przygotowanej na podstawie wyników obrazowania tensora dyfuzji uzyskanych przez Bacha i wsp. (2011). Poszczególne części ciała migdałowego zostały zaznaczone różnymi kolorami. BL – część podstawno-boczna (basolateral); BM – część podstawno-przyśrodkowa (basomedial); CM – część środkowo-przyśrodkowa (centromedial); D – część głęboka (deep); SF – część powierzchniowa/korowa (superficial).

i deoksyhemoglobiny, odzwierciedlająca aktywność metaboliczną danych obszarów mózgu, związaną m.in. z aktywnością neuronów) w stanie spoczynkowym. Osoba badana, leżąca w skanerze, jest proszona o niewykonywanie przez pewien czas (zwykle od 5 do 20 minut) żadnej konkretnej czynności. Chociaż badany nie podejmuje aktywności motorycznej ani umysłowej, w jego mózgu stale przekazywane są impulsy nerwowe z różnych grup komórek nerwowych do innych. Te grupy komórek są zlokalizowane w różnych strukturach, których aktywność można zaobserwować w badaniu fMRI. Niektóre struktury wykazują aktywność w tym samym czasie co inne, a więc tworzą z nimi sieci funkcjonalne. Badanie sieci funkcjonalnych może polegać na określeniu aktywności jednej struktury mózgu i porównaniu jej z aktywnością pozostałych struktur. Podejście to nosi nazwę analizy na podstawie ziaren (w literaturze anglojęzycznej: *seed-based correlation analysis*) (Biswal *et al.*, 1995). Regiony, z którymi analizowana struktura ma silne korelacje (w przebiegu czasowym sygnału BOLD), są uznawane za funkcjonalnie z nią połączone. W ten sposób można stworzyć mapę całego mózgu – do wszystkich obszarów przypisane są korelacje z analizowanym obszarem, co tworzy sieć połączeń funkcjonalnych (Fox *et al.*, 2005). Zakłada się, że struktury najsilniej połączone z analizowanym obszarem współpracują z nim podczas realizowania procesów psychicznych.

Rozpatrując właściwości sieci funkcjonalnych, należy rozważyć, w jakim stopniu odzwierciedlają one sieci połączeń anatomicznych. Połączenia funkcjonalne mogą odzwierciedlać zarówno połączenia synaptyczne bezpośrednie (monosynaptyczne – realizowane przez jedno połączenie synaptyczne), jak i pośrednie (multisynaptyczne – w których wiele komórek nerwowych jest zaangażowanych w przekazanie sygnału) (Bullmore i Sporns, 2009). Nie ma metody umożliwiającej określenie, czy dane połączenie funkcjonalne odpowiada połączeniu bezpośredniemu, czy też pośredniemu, nie jest również możliwe ustalenie kierunku połączenia. Może to świadczyć o tym, że sieci funkcjonalne nie muszą odzwierciedlać sieci anatomicznych. Istnieje jednak wiele badań, których wyniki wskazują na dużą zbieżność między sieciami anatomicznymi określonymi za pomocą DTI a sieciami funkcjonalnymi określonymi za pomocą fMRI w stanie spoczynkowym (Bullmore i Sporns, 2009; Greicius *et al.*, 2009). Dane te sugerują, że wzorzec połączeń funkcjonalnych danej struktury mózgu w dużym stopniu odzwierciedla jej połączenia strukturalne.

W ostatnich latach przy użyciu tej metody udało się podzielić na mniejsze, funkcjonalnie zróżnicowane komponenty takie obszary mózgu, jak dodatkowe pole ruchowe (Kim *et al.*, 2010) czy kora oczodołowo-czołowa (Kahnt *et al.*, 2012). Do tej pory ukazała się tylko jedna praca opisująca zastosowanie omawianej metody w odniesieniu do ciała migdałowatego (Mishra *et al.*, 2014). W badaniu zastosowano algorytm samoorganizujących się map, który porównuje podobieństwo między korelacjami przebiegów czasowych sygnału BOLD z wokseli w ciele migdałowatym

z przebiegami czasowymi sygnału pochodzącego z pozostałych struktur mózgu i przyporządkowuje woksle ciała migdałowatego do określonych grup (skupień). Ponieważ liczba skupień jest z góry zadana przez badacza, autorzy przetestowali powtarzalność wyników między badanymi, stosując podziały na różną liczbę skupień (od dwóch do ośmiu). Zgodnie z wynikami tej analizy podział na dwa lub trzy skupienia w obrębie ciała migdałowatego wydaje się optymalnym rozwiązaniem – zarówno pod kątem właściwości anatomicznych, jak i wrażliwości statystycznej stosowanych metod. Rezultaty uzyskane przy podziale na dwa wydają się dobrze korespondować z wynikami analiz wzorców połączeń strukturalnych uzyskanych za pomocą obrazowania tensora dyfuzji (Bach *et al.*, 2011). Autorzy obu przywołanych prac uznali, że podział na dwie funkcjonalnie odrębne grupy jąder jest najbardziej zgodny z wiedzą anatomiczną, mimo że wyniki badań anatomicznych wskazują na istnienie co najmniej trzech części ciała migdałowatego (Amunts *et al.*, 2005).

## UWAGI KOŃCOWE

Wyniki dotychczasowych prac nad identyfikacją odrębnych części ciała migdałowatego u ludzi sugerują, że zagadnienie to wymaga dalszych badań. Wątpliwości budzi przede wszystkim duża rozbieżność między podziałami uzyskanymi za pomocą różnych podejść. Problem ten ilustruje ryc. 1, przedstawiająca przykłady podziału ciała migdałowatego na podstawie różnych metod parcelacji.

Nie ma jednego sposobu analizy danych – nawet w obrębie jednej metody – który pozwalałby na jednoznaczne i powtarzalne zidentyfikowanie poszczególnych części tej struktury mózgu. Na przykład do podziału ciała migdałowatego według wzorców połączeń strukturalnych bądź funkcjonalnych wykorzystywano następujące algorytmy: algorytm *k*-średnich (Bach *et al.*, 2011), analizę skupień z dekompozycją widmową (Solano-Castiella *et al.*, 2010) oraz algorytm samoorganizujących się map (Mishra *et al.*, 2014). Wybór metody grupującej woksle pod względem wzorca połączeń jest arbitralny i w dużym stopniu zależy od tego, jakimi danymi dysponuje badacz. Niestety, od wyboru metody zależą też uzyskane wyniki. Na przykład metoda *k*-średnich najlepiej sprawdza się w przypadku regionów o małej liczbie części składowych, które mają sferyczny kształt (Eickhoff *et al.*, 2015). Problemem jest tu natomiast konieczność ustalenia z góry liczby skupień – badacze jeszcze nie są w stanie określić, na ile części można podzielić ciało migdałowate za pomocą metod neuroobrazowania. Ponadto, gdy bada się w ten sposób ciało migdałowate, raczej nie powinno się uzyskiwać skupień o równej wielkości, ponieważ część podstawno-boczna jest znacznie większa od pozostałych. Nie wiadomo wreszcie, w jakim stopniu na skanach MRI kształt poszczególnych części będzie sferyczny. Użyteczność tej metody w przypadku podziału ciała migdałowatego na podstawie połączeń jest zatem wątpliwa. Z kolei analiza skupień z dekompozycją widmową

pozwała na wyodrębnienie takich części, które są w przybliżeniu równych rozmiarów i których kształt nie przypomina sfer (Eickhoff *et al.*, 2015). Jak się wydaje, również ta metoda nie jest przydatna w przypadku podziału ciała migdałowatego. Dane anatomiczne wskazują bowiem, że części tej struktury różnią się między sobą pod względem wielkości i charakteryzują się raczej regularnymi, chociaż nie zawsze sferycznymi kształtami. Dlatego w odniesieniu do podziału ciała migdałowatego duże nadzieje budzi inna metoda grupowania wokseli – hierarchiczna analiza skupień, której zaletą jest brak założeń co do kształtów i rozmiarów skupień (Eickhoff *et al.*, 2015). Niestety, tej metody dotychczas nie zastosowano do podziału ludzkiego ciała migdałowatego na funkcjonalnie odrębne części.

Przyszłe badania powinny koncentrować się na opracowaniu takiego sposobu podziału ciała migdałowatego, który pozwoliłby na jednoznaczne i powtarzalne zidentyfikowanie części tej struktury. Wydaje się, że w tym celu warto w większym stopniu wykorzystać paradygmat stanu spoczynkowego w badaniu fMRI. W przypadku podejścia odnoszącego się do połączeń funkcjonalnych warto także zwrócić uwagę na algorytmy wykrywające granice między strukturami, które były stosowane do podziału obszarów korowych (Cohen *et al.*, 2008), oraz algorytmy wykrywające źródła (centralne punkty struktur), dzięki którym podzielono *in vivo* jądra podstawne (Barnes *et al.*, 2010). Porównanie wyników uzyskanych za pomocą tych metod pozwoli na lepsze zrozumienie funkcjonalnej organizacji ciała migdałowatego i biologicznych podstaw wielu procesów, których przebieg zależy od aktywności tej struktury mózgu.

#### Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

#### Źródło finansowania

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2014/15/B/HS6/03658.

#### Piśmiennictwo

- Amaral DG, Price JL, Pitkanen A *et al.*: Anatomical organization of the primate amygdaloid complex. In: Aggleton JP (eds.): *The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory, and Mental Dysfunction*. Wiley-Liss, New York 1992.
- Amunts K, Kedo O, Kindler M *et al.*: Cytoarchitectonic mapping of the human amygdala, hippocampal region and entorhinal cortex: intersubject variability and probability maps. *Anat Embryol (Berl)* 2005; 210: 343–352.
- Bach DR, Behrens TE, Garrido L *et al.*: Deep and superficial amygdala nuclei projections revealed *in vivo* by probabilistic tractography. *J Neurosci* 2011; 31: 618–623.
- Barbour T, Murphy E, Pruitt P *et al.*: Reduced intra-amygdala activity to positively valenced faces in adolescent schizophrenia offspring. *Schizophr Res* 2010; 123: 126–136.

- Barnes KA, Cohen AL, Power JD *et al.*: Identifying basal ganglia divisions in individuals using resting-state functional connectivity MRI. *Front Syst Neurosci* 2010; 4: 18.
- Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM *et al.*: Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magn Reson Med* 1995; 34: 537–541.
- Blecher J, Michael T, Vriends N *et al.*: Fear conditioning in posttraumatic stress disorder: Evidence for delayed extinction of autonomic, experiential, and behavioural responses. *Behav Res Ther* 2007; 45: 2019–2033.
- Boll S, Gamer M, Gluth S *et al.*: Separate amygdala subregions signal surprise and predictiveness during associative fear learning in humans. *Eur J Neurosci* 2013; 37: 758–767.
- Brown VM, LaBar KS, Haswell CC *et al.*: Altered resting-state functional connectivity of basolateral and centromedial amygdala complexes in posttraumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology* 2014; 39: 351–359.
- Bullmore E, Sporns O: Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nat Rev Neurosci* 2009; 10: 186–198.
- Cohen AL, Fair DA, Dosenbach NUF *et al.*: Defining functional areas in individual human brains using resting functional connectivity MRI. *Neuroimage* 2008; 41: 45–57.
- Eickhoff SB, Heim S, Zilles K *et al.*: Testing anatomically specified hypotheses in functional imaging using cytoarchitectonic maps. *Neuroimage* 2006; 32: 570–582.
- Eickhoff SB, Stephan KE, Mohlberg H *et al.*: A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. *Neuroimage* 2005; 25: 1325–1335.
- Eickhoff SB, Thirion B, Varoquaux G *et al.*: Connectivity-based parcellation: critique and implications. *Hum Brain Mapp* 2015; 36: 4771–4792.
- Entis JJ, Doerga P, Barrett LF *et al.*: A reliable protocol for the manual segmentation of the human amygdala and its subregions using ultra-high resolution MRI. *Neuroimage* 2012; 60: 1226–1235.
- Etkin A, Prater KE, Schatzberg AF *et al.*: Disrupted amygdalar subregion functional connectivity and evidence of a compensatory network in generalized anxiety disorder. *Arch Gen Psychiatry* 2009; 66: 1361–1372.
- Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL *et al.*: The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 9673–9678.
- Gaigg S, Bowler DM: Differential fear conditioning in Asperger's syndrome: implications for an amygdala theory of autism. *Neuropsychologia* 2007; 45: 2125–2134.
- Greicius MD, Supekar K, Menon V *et al.*: Resting-state functional connectivity reflects structural connectivity in the default mode network. *Cereb Cortex* 2009; 19: 72–78.
- Hrybowski S, Aghamohammadi-Seresheki A, Madan CR *et al.*: Amygdala subnuclei response and connectivity during emotional processing. *Neuroimage* 2016; 133: 98–110.
- Jones DK: Studying connections in the living human brain with diffusion MRI. *Cortex* 2008; 44: 936–952.
- Kahnt T, Chang LJ, Park SQ *et al.*: Connectivity-based parcellation of the human orbitofrontal cortex. *J Neurosci* 2012; 32: 6240–6250.
- Kim JH, Lee JM, Jo HJ *et al.*: Defining functional SMA and pre-SMA subregions in human MFC using resting state fMRI: functional connectivity-based parcellation method. *Neuroimage* 2010; 49: 2375–2386.
- Knapska E, Lioudyno V, Kiryk A *et al.*: Reward learning requires activity of matrix metalloproteinase-9 in the central amygdala. *J Neurosci* 2013; 33: 14591–14600.
- Knapska E, Radwanska K, Werka T *et al.*: Functional internal complexity of amygdala: focus on gene activity mapping after behavioral training and drugs of abuse. *Physiol Rev* 2007; 87: 1113–1173.
- LeDoux JE: Emotion circuits in the brain. *Ann Rev Neurosci* 2000; 23: 155–184.
- Mai JK, Paxinos G, Voss T: *Atlas of the Human Brain*. 3<sup>rd</sup> ed., Elsevier Academic Press, Amsterdam 2008.

- McHugh MJ, Demers CH, Salmeron BJ *et al.*: Cortico-amygdala coupling as a marker of early relapse risk in cocaine-addicted individuals. *Front Psychiatry* 2014; 5: 16.
- Mishra A, Rogers BP, Chen LM *et al.*: Functional connectivity-based parcellation of amygdala using self-organized mapping: a data driven approach. *Hum Brain Mapp* 2014; 35: 1247–1260.
- Nieuwenhuys R: The myeloarchitectonic studies on the human cerebral cortex of the Vogt–Vogt school, and their significance for the interpretation of functional neuroimaging data. *Brain Struct Funct* 2013; 218: 303–352.
- O'Doherty JP: Reward representations and reward-related learning in the human brain: insights from neuroimaging. *Curr Opin Neurobiol* 2004; 14: 769–776.
- Parkinson JA, Robbins TW, Everitt BJ: Dissociable roles of the central and basolateral amygdala in appetitive emotional learning. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 405–413.
- Phelps EA, LeDoux JE: Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron* 2005; 48: 175–187.
- Prévost C, McCabe JA, Jessup RK *et al.*: Differentiable contributions of human amygdalar subregions in the computations underlying reward and avoidance learning. *Eur J Neurosci* 2011; 34: 134–145.
- Roy AK, Shehzad Z, Margulies DS *et al.*: Functional connectivity of the human amygdala using resting state fMRI. *Neuroimage* 2009; 45: 614–626.
- Sah P, Faber ESL, Lopez De Armentia M *et al.*: The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev* 2003; 83: 803–834.
- Saygin ZM, Osher DE, Augustinack J *et al.*: Connectivity-based segmentation of human amygdala nuclei using probabilistic tractography. *Neuroimage* 2011; 56: 1353–1361.
- Solano-Castiella E, Anwender A, Lohmann G *et al.*: Diffusion tensor imaging segments the human amygdala *in vivo*. *Neuroimage* 2010; 49: 2958–2965.
- Swanson LW, Petrovich GD: What is the amygdala? *Trends Neurosci* 1998; 21: 323–331.
- Yilmazer-Hanke DM: Amygdala. In: Mai JK, Paxinos G (eds.): *The Human Nervous System*. 3<sup>rd</sup> ed., Elsevier Academic Press, San Diego 2012.
- Zilles K, Amunts K: Receptor mapping: architecture of the human cerebral cortex. *Curr Opin Neurol* 2009; 22: 331–339.
- Zilles K, Palomero-Gallagher N, Amunts K: Cytoarchitecture and maps of the human cerebral cortex. In: Toga AW (ed.): *Brain Mapping: An Encyclopedic Reference*. Elsevier Academic Press, 2015.