

## ВОЛУМЕТРИЈСКА АНАЛИЗА СИВЕ МАСЕ, БЕЛЕ МАСЕ И ПРОСТОРА ЦЕРЕБРОСПИНАЛНЕ ТЕЧНОСТИ У СХИЗОФРЕНИЈИ

Нађа МАРИЋ<sup>1</sup>, Thomas KAMER<sup>2</sup>, Thomas SCHNEIDER AXMANN<sup>2</sup>, Indra DANF<sup>3</sup>,  
Мирослава ЈАШОВИЋ ГАШИЋ<sup>1</sup>, Владимир Р. ПАУНОВИЋ<sup>1</sup>, Peter FALKAI<sup>2</sup>

1. Институт за психијатрију Клиничког центра Србије, Београд; 2. Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, University Saarlandes, Homburg; 3. Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Friedrich-Wilhelms-University, Bonn

### УВОД

Почетком прошлог века, Е. Краепелин је наговестио да се код оболелих од *dementiae praecox* (касније: шизофренија) могу очекивати широко распрострањена оштећења нервног ткива кортекса (1). Током последње три деценије, технике визуелизације мозга су обезбидиле одговарајуће услове за *in vivo* анализу дискретних морфолошких абнормалности, па је мекодама анализе појединачних региона и појединачних структура (тзв. метод „региона од интереса“ - ROI), код оболелих од шизофреније уочено проширење коморног система, абнормалности региона префронталног кортекса, темпоралних структура као и региона паријеталног режња (2).

Последњих година, осим ROI метода, проучавање је све више усмеравано на глобалну процену три интракранијална компартмана: сиву масу, белу масу и простор цереброспиналне течности (у даљем тексту: GM, WM и CSF) (3).

У те сврхе коришћени су програмски пакети са могућностима аутоматске сегментације висококвалитетних тродимензионалних записа добијених техником магнетно-резонантног имиџинга (у даљем тексту MRI) и даља анализе по принципима воџел-базиране волуметрије (4).

Досадашњи резултати студија шизофреније које су укључивале испитанике свих старосних доби, различите дужине трајања болести, различите дужине излагања психофармацима, већином мушког пола, показују делимичну инконзистентност. Како су старење мозга, ефекти хроничитета болести, ефекти медијације и сам пол фактори који утичу на налаз (5-7), у одабиру узорка посебну пажњу смо посветили контроли ограничења која проистичу од наведених параметара. Циљ ове студије је био да се утврде промене волумена GM, WM и CSF карактеристичне за шизофренију испитивањем узорка младе адултне популације уједначене полне дистрибуције.

### МЕТОД

**Узорак** - За потребе студије одабрано је 64 испитаника старих 18-31 g. (просек старости 25.5 g., SD=3.8 g.) из веће групе укључене у пројекат „MRI Family Study“ (носилац пројекта: П. Фалкаи).

Карактеристике групе дате су на табели 1. Болесници (M=18/ Ж=13) су дијагностиковани инструментом SCID I и II (8) ради потврђивања DSM IV дијагнозе шизофреније или шизоафективног поремећаја (почетак болести:  $23.2 \pm 4.6$  г., трајање:  $3.3 \pm 2.8$  г.). Сви су раније или актуелно лечени неуролептицима. Током испитивања били су већином у ремисији (PANSS =  $20.2 \pm 18.9$  (9)). Контролну групу чинило је 33 (M=19/ Ж=14) испитаника, усаглашених према годинама, полу и етничкој припадности са болесницима и одабраних међу припадницима клиничког персонала. Свим испитаницима је утврђена хемисферична доминација (10) и интелигенција (11). Критеријуми искључивања: неуролошке болести, болести зависности, повреде мозга са губитком свести дужином од 3 мин. Испитивање је вршено на психијатријским клиникама - Heinrich Heine University, Dusseldorf, и Friedrich-Wilhelms-University Bonn, на основу консекутивних пријема током периода 1995-2001, са одобрењем Етичких комитета оба Универзитета и потписаним пристанаком субјеката за учешће у студији.

Студија је рађена током 2001-02, у Laboratory for the Brain Research, Психијатријска клиника у Бону, Немачка, средствима из „Balkan-Initiative der Berlin-Brandenburg Wissenschaft - Fellowship“.

MRI снимање - Снимање је обављено на два скенера:

1. Siemens Magnetom 1.5T (Dusseldorf): T1, брзе ехо-секвенце, репетиција 40 мс, 5м/с ехо, флип-угао 40 степени, укупно 128 консекутивних пресека дебљине 1.17мм са 256x256 пиксел-а по пресеку.
2. Philips Gyroscan 1.5T (Bonn), T1, турбо ехо-секвенце, репетиција 12 мс, 4 м/с ехо, флип-угао 20 степени, укупно 160 пресека 1mm дебљине, 256x256 пиксел-а по пресеку.

Обрада MRI снимака - У току обраде записа, коришћене су перформансе три програмска пакета: Analyze (Mayo Clinic, [www.mayo.edu/bir/Software/Analyze](http://www.mayo.edu/bir/Software/Analyze)), SPM99 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, [www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm)) и Matlab ([www.mathworks.com/matlabcentral/](http://www.mathworks.com/matlabcentral/)). Сви записи су сведени на церебрум, јер пројекција нижих можданих делова може да се интерпонира у сигнале са супратенторијалних локалитета, па се ограничавањем на церебрум умањује могућност грешке (12)

	Контролна група Controls	Схизофренија Schizophrenia	P
Године старости Age	24,5 ± 3,5	26,6 ± 3,8	0.02
Полна дистрибуција (мушкарци/жене) Sex (male female)	19 / 14	18 / 13	0.97
Висина (cm) Height (cm)	175.3 ± 6,4	177.4 ± 10,6	0.45
Интелигенција (MWB-скала) Intelligence (MWB- scale)	31.0 ± 2.5	28.9 ± 3.5	0.05
Место MRI снимања (Dusseldorf / Bonn) MRI location (Dusseldorf / Bonn)	10 / 23	23 / 8	0.00

Табела 1. Опште карактеристике испитаника  
Table 1. General characteristics of subject group

**Анализе:** 1. Припрема снимака за анализу (уједначавање оријентације записа и корекције разлика услед различитих положаја главе при скенирању): Опцијом „oblique display fly“ сваки снимак постављен паралелано са линијом која спаја предњу и задњу комисуру (АС-РС линија). Након тога, извршена је: 2. Стандардизација на димензије воксела 1,1,1 мм, са резолуцијом записа од 8-бита, преко операције „Матрикс“. 3. Селекција подручја испитивања. Оивичавање церебрума је извршено на 10 случајно одабраних записа: граница за одвајање од мозданог стабла је била линија која спаја церебралне педункуле са врхом мезенцефаличног текста, а церебелум је одвојем природном границом изнад тенторијума церебелли, илустрација 1.

Овај поступак је рађен паралелно од стране два истраживача (Н.М., Т.К.) и потврђена је међусобна усклађеност налаза од 0.89. На основу 10 записа конструисана је церебрална маска, а затим је ради аутоматске селекције церебрума она пројектована на свих 64 записа програмом SPM 99.

SPM 99 1. Сегментација. Аутоматски су одвојени и уклоњени сви сигнали који припадају коштаном ткиву (функција „scalp editing“). 2. Нормализација: преостали запис за свих 64 испитаника је нелинеарном трансформацијом адаптиран у стандардизовани простор SPM 99 опцијом „нормализација“, на димензије „bounding box-a“: x) -78 до 78mm, y) -112 до 76mm и z) -50 до 85mm, према атласу Talairach&Tournoux (13). 3. Пројекција церебралне маске. На скуп свих нормализованих записа аутоматски је пројектована церебрална маска добијена нормализацијом десет обрађених записа, и сви записи сведени су на церебрум. 4. Сегментација. Трансформација записа на WM, GM и CSF извршена је преко SPM 99 функције која се базира на Bayesian алгоритму, на основу кога се сачињавају про-

бабилистичке мапе тј.схеме вероватноће налажења датог компартмана у датој тачки (14)

**Маглаб:** На основу обрађених снимака и воксел-стандардизације извршене претходно, израчунат је волумен појединачних компартмана тј. сума свих воксела сврстаних у један компартман.

**Статистичка обрада** - Зависне варијабле: волумен церебрума, сиве, беле масе као и простора цереброспиналне течности су изражене као релативне у односу на запремину мозга. Преко мултипле анализе коваријансе (МАНЦОВА), кроз фиксиран фактор: дијагноза, уз коваријансе: центар и године (без међусобне корелације), анализиран је ефекат дијагнозе на волумен компартмана.

## РЕЗУЛТАТИ

Карактеристике групе приказане су у табели 1. Међу групама није било разлике у полној дистрибуцији ( $\chi^2=0.00$ ,  $p=0.97$ ), висини ( $F=0.58$ ,  $p=0.45$ ), хемисферичној доминацији ( $\chi^2=0.08$ ,  $p=0.78$ ). За оне факторе за које је утврђена међугрупна разлика: интелигенција, године старости и локација снимања, испитан је ефекат на даље статистичке анализе. На зависне варијабле су утицале локација снимања и године старости (негативна корелација са GM запремином), па су у даљим анализама контролисани и кориговани наведени ефекти.

Просечан моздани волумен (Vm) износио је 1518  $\text{cm}^3$  (100%) у групи здравих односно 1508  $\text{cm}^3$  (100%) у групи оболелих. Волумен церебрума здравих је био 1240.2  $\text{cm}^3$ , док је код оболелих он заузимао 1217.3  $\text{cm}^3$  (81.7% тј. 80.7% Vm). Ефекат дијагнозе тј. запажена редукција церебрума није имала ниво високе статистичке значајности ( $p=0.16$ ). Сива маса је заузимала 675  $\text{cm}^3$  код здравих и 636  $\text{cm}^3$  код оболелих (44.5 % тј. 42.2%

	Запремина компартмана (cm <sup>3</sup> ) ± SD		Разлика Difference	MANCOVA*		
	Compartment volume (cm <sup>3</sup> ) ± SD			Df	F	p
Компартмани Compartments	Контролна група	Схизофренија				
Церебрум Cerebrum	1240,2±16.5	1217,3±15.7	- 2%	1,5	2.1	0.16
Сива Маса (GM) Gray Matter (GM)	675,5±10.8	636,4±9.6	- 6%	1,5	8.1	0.006**
Бела Маса (WM) White Matter (WM)	384,1±6.9	372,5±4.5	- 3%	1,5	7.6	0.019
Цереброспинална течност (CSF) Cerebrospinal fluid (CSF)	176,1±2.3	203,6±4.1	+ 14%	1,5	16.2	0.0002**

Табела 2. Волуметрија сиве масе, беле масе и простора цереброспиналне течности

Table 2. Volumetry of gray matter, white matter and cerebrospinal fluid

\* анализе кориговане у односу на ефекте параметара: центар, старост (analysis corrected for the factors: center, age)

\*\* visoka statisticka značajnost, (high statistical significance)

Вм), са ефектом дијагнозе на нивоу високе статистичке значајности (редукција код оболелих 6%,  $p=0.006$ ). Бела маса је била 3% редукована код оболелих (запремина 372.5, тј. 24.7% Вм) у односу на контролну групу (запремина 384,1, тј. 25.3% Вм), ниво статистичке значајности  $p=0.019$ . Повећање простора цереброспиналне течности од 14% је високо статистички значајно ( $p=0.0002$ ), а одражава разлику запремина од 203,0 cm<sup>3</sup> (13.6% Вм) код оболелих у односу на 176,1cm<sup>3</sup> (11.6% Вм) код контролних субјеката.

### ДИСКУСИЈА

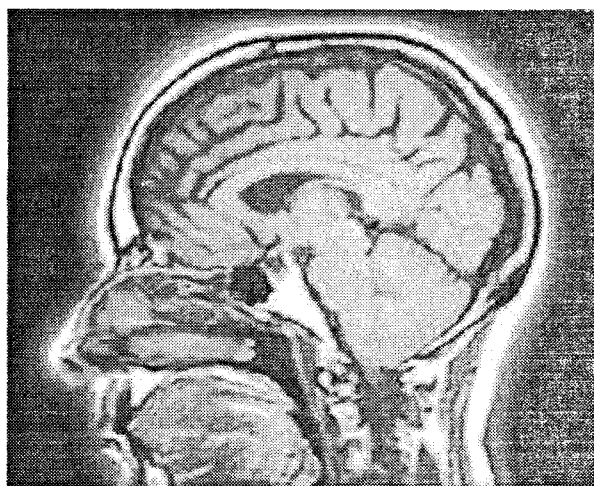
Волуметријска анализа сиве масе (GM), беле масе (WM) и простора цереброспиналне течности (CSF) је показала да у схизофренији постоји смањен волумен GM, повећан волумен простора CSF и непромењен волумен WM.

Резултати ове студије интерпретирани су на нивоу статистичке значајности  $p<0.01$  да би се постигла висока поузданост и минимизирали ефекти атрефаката. С друге стране, у статистичке анализе су као коваријансе укључивани сви фактори који су корелирали са зависним варијаблима од нивоа  $p<0.05$ . На овај начин, обезбеђена је адекватна контрола и корекција корелације варијабли и отклоњена је могућност појаве лажно-позитивних резултата.

Обзиром на контролу фактора медикације, старења и пола, ова студија је указала да утврђене промене не проистичу од хроничитета болести, ефеката дугог излагања психофармацима или самог старења мозга, већ да се ради о променама карактеристичним за болест у њеног најранијој фази, евентуално и преморбидно.

Иако су болесници били изложени психофармацима, просечна дужина болести указује да се радило о краткотрајној експозицији и не може се очекивати да би она могла имати значајних ефеката на резултате (измена волумена базалних ганглија је очекивана промена услед хроничне неуролептичке терапије, али се она налази тек након вишегодишњег излагања (15).

Мета анализа коју је спровео Wright (6), сумирала је резултате 6 студија са различитим ограничењима и утврдила средњу вредност редукције GM од 2-4%, WM од 1-2%, а повећање запремине CSF од 20-30%. Студија болесника након прве епизоде болести (дужина болести 2.3-3.3 г., просечна старост испитаника 26 г.) Зипурског са сар. (16), утврдила је редукцију GM код обо-



Слика 1: Ограничавање региона од интереса - церебрум

лелих од 7-10%, одсуство промена волумена WM и проширење CSF за 7%. Слично њој, студија Гур и сар. (17) којом је праћена промена GM код болесника пре излагања неуролептицима, показала је редукцију од 6% код мушкараца и 2% код испитаница женског пола оболелих од шизофреније, што налаже и даље испитивање са посебним освртом на полни мождани диморфизам.

У сваком случају, може се закључити да су налази ове студије у сагласности са већином реферисаних резултата других аутора и да стога поуздано осликавају мождану патоморфологију шизофреније.

Подаци из литературе који се односе на остале психијатријске поремећаје показују да се нпр. у биполарном поремећају налази само проширење CSF (18), без промена у остала два компартмана. С друге стране, код дегенеративних болести CNS, нпр. деменције Alzheimer-типа или у случају алкохолизма (19) уочена је редукција како GM, тако и WM. Одсуство промена волумена WM у шизофренији очигледно указује да се она не може сврстати у дегенеративне болести, већ пре да су налази наше, као и наведених студија, још један аргумент неуроразвојне хипотезе настанка болести.

Редукција сиве масе (најкарактеристичнији налаз за шизофренију) је заправо одраз промена неуропила, тј. синаптичких и дендритских структура, али до сада није постигнут консензус око тога да ли редукција волумена GM указује на повећање или на снижење густине ћелија у компартману (20). Наиме, постоји могућност да мањи волумен значи повисену густину тела неурона (приближавају се у одсуству разгранатих дендритских стабала и очекиваног броја синапси), али и могућност да су волуметријске промене резултат снижења ћелијске густине уопште. У том смислу потребна је даља експлорација.

Међутим, у оба случаја промене на нивоу дендрита и синапсе могу да изазову алтерације процеса обраде информације тј. утичу на процесе пријема дражи, активације неурона у одсуству стимулуса или одлагања повратка у мировање након иницијације активације неурона. Сви ови процеси у чијој основи је редукција неуропила тј. волумена сиве масе, могу да буду основа настанка феноменологије карактеристичне за шизофренију. Да ли је у основи редукције сиве масе лежи кортикална дисгенеза у раном развоју, процеси „прунинг“-а (орезивања) касније или специфична динамика која се односи на неуропластичитет, остаје важно питање које за сада превазилази домен актуелне студије.

Ово истраживање би требало да представља први и неопходан корак ка утврђивању глобалних морфолошких специфичности у шизофренији (маркирање абнормалности) и служиће као полазна основа за анализе усмерене ка испитивању профила регионалне дистрибуције волуметријских промена GM и CSF. Анализа профила дистрибуције абнормалности даје основу за разматрање њихових функционалних корелата, а тиме и даље приближавање клиничкој димензији проблема.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Kraepelin E. *Dementia praecox and Paraphrenia*. Edinburgh, Scotland: E & S Livingstone, 1919
2. Shenton M, Dickey CC, Frumin M et al. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res* 2001; 49: 1-52
3. Wright IC, McGuire PK, Poline JB, et al. A voxel based method for statistical analysis of gray and white matter applied to schizophrenia. *Neuroimage* 1995; 4: 244-52
4. Wolkin A, Rusinek H, Vaid G et al. Structural magnetic image averaging in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1998; 155 (8): 1064-73
5. Lawrie SM, Abukmeil SS. Brain abnormality in schizophrenia. *Br J Psychiatry* 1998; 172: 110-20
6. Wright IC, Rabe-Hesheth S, Woodruff PV et al. Meta-analysis of regional brain volume in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000; 157: 16-25
7. Goldstein JM, Seidman LJ, Horton NJ. Normal sexual dimorphism of the adult human brain assessed by in vivo magnetic resonance imaging. *Cereb Cortex* 2001; 11:490-7
8. Spitzer RL, Williams JWB, Gibbon M. *The structural clinical interview for DSM-III-R (SCID)*. Washington DC: American Psychiatric Association, 1990
9. Kay SR, Opler LA, Fiszbein A. *Positive and negative syndrome scale manual*. North Tonawanda, New York: Multy Health System, 1987
10. Annett M. A classification of hand preference by association analysis. *Br J Psychol* 1970; 61:303-321.
11. Lehl S/ Mehrfachwahl-Wortschatz-Intelligenztest, B-Version. Straube, Erlangen, 1977.
12. Zipursky RB, Lim KO, Sullivan EV, et al. Widespread cerebral gray matter volume deficits in schizophrenia. *Arch Gen Psych* 1992; 49: 195-205
13. Talairach J, Tournoux P. *Co-planar Stereotaxic Atlas of Human Brain*. New York: Thieme Medical Publishers Inc., 1998
14. Yah MXH, Karp JS. Image registration of MR and PET based on surface matching and principal axes fitting. *Proc I IEEE Med Imaging Conf* 1994; 4: 1667-81.
15. Gur RE, Maany V, Mozley PD, et al. Subcortical MRI volumes in neuroleptic-naive and treated patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1998; 155:1711-7
16. Zipursky RB, Lambe EK, Kapur S, et al. Cerebral gray matter volume deficit in first episode psychosis. *Arch Gen Psych* 1998; 55:540-546
17. Gur RE, Turetsky BI, Bilker WB, et al. Reduced gray matter volume in schizophrenia. *Arch Gen Psych* 1999; 56: 905-11
18. Zipursky RB, Seeman MV, Bury A, et al. Deficits in gray matter volume are present in schizophrenia but not bipolar disorder. *Schizophr Res* 1997; 26: 85-92
19. Lewis S. Psychopathology and brain dysfunction: structural imaging studies. In: Keshavan MS, Murray RM, eds: *Neurodevelopment & Adult Psychopathology*. Cambridge: Cambridge University Press, 1997
20. Selemon LD, Goldman Rakic PS: The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 1999; 45: 17-25

## VOLUMETRIC ANALYSIS OF GRAY MATTER, WHITE MATTER AND CEREBROSPINAL FLUID IN SCHIZOPHRENIA

Nada MARIĆ<sup>1</sup>, Thomas KAMER<sup>2</sup>, Thomas SCHNEIDER AXMANN<sup>2</sup>, Indra DANI<sup>3</sup>, Miroslava JAŠOVIĆ GAŠIĆ<sup>1</sup>,  
Vladimir R. PAUNOVIĆ<sup>1</sup>, Peter FALKAI<sup>2</sup>

1. Institute for Psychiatry, Clinical center of Serbia, Belgrade; 2 Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, University Saarlandes, Homburg, 3 Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Friedrich-Wilhelms-University, Bonn

Schizophrenia is characterized by diffuse brain abnormalities, some of them involving volumes of three intracranial compartments: gray matter (GM), white matter (WM) and cerebrospinal fluid (CSF). Novel methods, such as Statistical Parametrical Mapping, provide an automated means of comparing structural features across high quality MRI scans and the measurement based on the principles of voxel based morphometry.

For the purposes of the present study, we selected sex balanced group of young adults with recent onset illness to assess the effects of the illness on the volumes of compartments and also to minimize the effects of chronicity, medication, sex and aging.

Sixty-four subjects were selected from a larger sample (inclusion criteria: age range 18-31). Thirty-one had DSM IV diagnosis of schizophrenia or schizoaffective disorder, 33 were controls. T1 weighted MRI images were acquired on two scanners (1.5T both): a) fast gradient echo sequence, FLASH, 40msec repetition time, 5ms echo time, 40 degree flip angle and b) turbo gradient echo, 12msec repetition time, 4msec echo time, 20 degree flip angle, 1 excitation). The resulting data set consisted of: a) 128 consecutive slices with 1.17mm thickness and 256x256 pixels per slice and b) 160 consecutive slices of 1mm thickness and 256x256 pixels per slice. All 64 images were processed by ANALYZE, and normalized and segmented by SPM99. Following the automatic segmentation of the images into the three intracranial com-

partments, volumetry was performed based on the principles of voxel analysis. Results were expressed relative to whole brain volume, and MANOVA analyses were performed to correct the confounding effects of MRI acquisition center differences and age difference between diagnostic groups.

Young adults with recent onset schizophrenia had 6% reduction in GM volume and 14% increase in the volume of CSF, after all confounders were included into analyses (MANCOVA:  $p=0.006$  and  $0.0002$ , respectively). No significant changes in WM volume were evident.

In comparison to a few similar studies published recently, all results yielded similar scores regarding effects of recent onset illness and young adult population, thus confirming the reliability of the procedure.

In conclusion, global neuropil reduction was discussed as a consequence of the cortical neurodevelopmental disgenesis. It was suggested that neuropil reduction i.e. synaptic and dendritic changes were to induce functional abnormalities and the expression of schizophrenia.

Key words: schizophrenia, magnetic resonance imaging, gray matter, white matter, cerebrospinal fluid

Dr Nada Marić,  
Institut za psihijatriju KCS, Pasterova 2, 11000  
Beograd  
Tel/fax 011 437 885  
e-mail: nadja@eunet.yu