

## Espetroscopia ( $^1\text{H}$ ) por ressonância magnética do disco intervertebral lombar no adulto e sua aplicação na rotina imagiológica

J. Cruz Maurício<sup>1,2</sup>, Maria Margarida Ribeiro<sup>3,4</sup>

1. Centro de Radiologia de Tomar.

2. Clínica CREAM, Lisboa.

3. Área Científica de Radiologia, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa. margarida.ribeiro@estesl.ipl.pt

4. Departamento de Anatomia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa.

**RESUMO: Objetivos** – Demonstrar o potencial da espectroscopia ( $^1\text{H}$ ) por ressonância magnética na doença degenerativa discal lombar e defender a integração desta técnica na rotina clínico-imagiológica para a precisa classificação da involução vs degenerescência dos discos L4-L5 e L5-S1 em doentes com lombalgia não relacionável com causa mecânica. **Material e métodos** – O estudo incluiu 102 discos intervertebrais lombares de 123 doentes. Foram estudados 61 discos de L4-L5, 41 discos de L5-S1 e 34 discos de D12-L1. Utilizou-se um sistema de ressonância magnética de 1,5 T e técnica monovoxel. Obtiveram-se os rácios  $[\text{Lac}/\text{N}_{\text{acetyl}}]$  e  $[\text{N}_{\text{acetyl}}/(\text{Lac}+\text{Lípidos})]$  e aplicou-se a ressonância de lípidos para avaliar a bioquímica do disco com o fim de conhecer o estado de involução vs degenerescência que o suscetibilizam para a instabilidade e sobrecarga. Avaliou-se o comportamento dos rácios e do teor lipídico dos discos L4-L5-S1 e as diferenças apresentadas em relação a D12-L1. Foi também realizada a comparação entre os discos L4-L5, L5-S1 e D12-L1 na ponderação T2 (T2W), segundo a classificação ajustada (1-4) de Pfirrmann<sup>1</sup>. **Resultados** – Verificou-se que os rácios e o valor dos lípidos dos discos L4-L5-S1 apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando relacionados com os discos D12-L1. O rácio  $[\text{Lac}/\text{N}_{\text{acetyl}}]$  em L4-L5-S1 mostrou-se aumentado em relação a D12-L1 ( $p=0,033$  para os discos com grau de involução [1+2] e  $p=0,004$  para os discos com grau [3+4]). Estes resultados sugerem que a involução vs degenerescência dos discos nos graus mais elevados condiciona um decréscimo do pico do Lactato. O rácio  $[\text{N}_{\text{acetyl}}/(\text{Lac}+\text{Lip})]$  discrimina os graus de involução [1+2] do [3+4] no nível L4-L5, apresentando os valores dos rácios (média 0,65 e 0,5 respetivamente com  $p=0,04$ ). O rácio médio de  $[\text{N}_{\text{acetyl}}/(\text{Lac}+\text{Lip})]$  dos discos L4-L5 foi 1,8 vezes mais elevado do que em D12-L1. O espectro lipídico em L4-L5-S1 nos graus mais elevados não mostrou ter uma prevalência constante quanto às frequências de ressonância. **Conclusão** – A espectroscopia ( $^1\text{H}$ ) dos discos intervertebrais poderá ter aplicação na discriminação dos graus de involução vs degenerescência e representar um contributo semiológico importante em suplemento à ponderação T2 convencional. As ressonâncias de lípidos dos discos L4-L5 e L5-S1, envolvidos ou degenerados, devem ser avaliadas em relação a D12-L1, utilizando este valor como referência, pois este último é o nível considerado estável e com baixa probabilidade de degenerescência.

*Palavras-chave: espectroscopia ( $^1\text{H}$ ), discos intervertebrais lombares, involução, degenerescência discal.*

## Magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$ ) of the intervertebral lumbar disc in the adult and its application in the imaging routine

**ABSTRACT: Aims** – To assess the potential of magnetic resonance spectroscopy ( $^1\text{H}$ -MRS) in the diagnostic of degenerative disease of the lumbar disc and to advocate the adding of this technique in the classification of the intervertebral disc involution vs degeneration (L4-L5 and L5-S1) in the clinical routine of lumbar pain status, not related with mechanic causes. **Material and method** – We studied 102 out of 123 lumbar intervertebral discs. The distribution among spaces was 61 discs at L4-L5, 41 at L5-S1 level and 34 at D12-L1 level. The magnetic resonance studies were performed using a 1.5 T scan-

ner. A single-voxel Point Resolved Spectra Selection (PRESS) technique was used. The ratios  $[Lac/N_{acetyl}]$ ,  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  and additionally the resonance of lipids were applied to evaluate the biochemistry of the discs, its involution, disc disruption and eventual susceptibility to initiate degeneration process. The ratios and the lipidic value of L4-L5-S1 discs were ascertained with the different behavior of D12-L1. Furthermore, the comparison between L4-L5, L5-S1 and D12-L1 discs was performed according with rating in T2 weighted (adjusted scale 1-4 from Pfirrmann<sup>1</sup> criteria). **Results** – Related to D12-L1, the ratios and the lipids of L4-L5-S1 discs are statistically different. When used as a complementary of conventional T2 weighted, they have a good discrimination in the all degrees of disc involution vs degeneration. The ratio  $[Lac/N_{acetyl}]$  at L4-L5-S1 level was increased when compared to D12-L1 ( $p=0.033$  for disks with [1+2] score of involution and  $p=0.004$  for disks with score [3+4]). These results suggest that disc degeneration vs involution in higher degrees defines a decrease in the lactate's peak. The ratio  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  provides a good discrimination of involution between scores [1+2] and [3+4] at L4-L5 level, presenting the values of the ratios (mean 0.65 and 0.5 with  $p=0.04$ ). The mean ratio of  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  in the L4-L5 disc was 1.8 times higher than that of L1-D12. The lipid spectrum at L4-L5-S1 in the higher scores showed no constant prevalence in the resonance frequencies. **Conclusion** – The (<sup>1</sup>H) spectroscopy of intervertebral discs may contribute with a supplementary semiology to the conventional MRI. The resonances of L4-L5 and L5-S1 discs, involuted or degenerated, must be related with D12-L1, which are more stable and have lower likelihood of disc degeneration.

*Keywords: the (<sup>1</sup>H) spectroscopy, lumbar intervertebral discs, involution, disc degeneration.*

**Acrónimos e abreviaturas:** ADC – Apparent Diffusion Coefficient; CHESS – CHEmical-Shift-Selective; DWI – Diffusion Weighted Imaging; FFE – Fast Field Echo; FOV – Field Of View; FSE – Fast Spin Echo; [Lac] – lactato; [Lip] – Lípidos; ms – milissegundos; [Nacetyl] – N-acetyl; NEX – Número de Excitações; ppm – partes por milhão (unidade de escala); PRESS – Point RESolved Spectra Selection; RF – Radiofrequência; rms – valor eficaz; TE – Tempo de Eco; TI – Tempo de Inversão; TR – Tempo de Repetição.

## Introdução

A doença degenerativa discal atinge cerca de doze milhões de pessoas nos Estados Unidos. A ressonância magnética estrutural e as técnicas radiográficas convencionais permitem detetar estádios evoluídos da doença, isto é, alterações degenerativas da morfologia do disco, altura, hidratação, contorno e hérnias. Estes métodos não são, porém, sensíveis a alterações degenerativas precoces<sup>2</sup>.

A ressonância magnética (RM), baseada nas características do sinal em ponderação T2, é o método mais preciso na avaliação clínica da patologia discal. Contudo, este sinal depende em grande medida da técnica aplicada – *spin eco* ou *fast spin eco* –, do tipo de equipamento ou da bobina e não apenas das alterações causadas pela idade ou pelo processo de degenerescência dos discos<sup>1,3-5</sup>. É então necessária a aplicação de uma outra técnica de diagnóstico que permita quantificar com exatidão o nível de degeneração do disco, livre da dependência de contraste da gordura e dos fluídos que estas estruturas contêm<sup>6-7</sup>.

A aplicação de técnicas sensíveis à composição dos proteoglicanos e métodos que permitem a sua quantificação por RM têm vindo a ser desenvolvidos no sentido de melhor caracterizar as alterações degenerativas discas. A demonstração dos potenciais benefícios da complementaridade da

avaliação visual e bioquímica destas técnicas levou ao desenvolvimento de estudos que detetam e classificam os estádios iniciais de degenerescência discal. As medições quantitativas do T1ρ e tempos de relaxação T2 são uma forma não invasiva de detetar alterações bioquímicas precoces na degenerescência do disco antes de se revelarem alterações morfológicas com ou sem correlação clínica<sup>2,8-9</sup>.

A decomposição do conteúdo de proteoglicanos, o aumento do teor de água dos tecidos e a alteração no conteúdo de colagénio ocorrem no início do processo de degenerescência e podem ser quantificados através do T1ρ e tempos de relaxação T2<sup>8,10-11</sup>. O contraste por ponderação T1ρ é produzido por relaxamento da magnetização transversal na presença de uma onda contínua de pulsos de RF (pulso de *spin-lock*)<sup>10</sup> em técnicas 3D balanceadas (b-FFE), o qual permite o estudo de interações físico-químicas de movimentos lentos, como as moléculas de água e as moléculas da matriz extracelular que compõem os proteoglicanos de natureza hidrófila do núcleo pulposo e o tecido fibro-elástico do colagénio no anel fibroso<sup>2</sup>. Esta técnica, através do pulso de RF de desfasamento, possibilita a manipulação dos tempos de decaimento das amostras e a alteração das medidas de coerência. Assim, a reorientação do pulso de RF, destinado a reverter as interações dipolares

mais lentas, pode separar o contraste T2 do T1 $\rho$ <sup>8-10</sup>. De uma forma geral, na avaliação do disco, o valor médio T1 $\rho$  do núcleo pulposo é maior do que o do anel fibroso e uma redução do valor T1 $\rho$  pode ser indicativa do início de degenerescência do disco intervertebral<sup>10-11</sup>.

Estudos utilizando o T2 paramétrico e T2\* *mapping*, embora apenas circunscritos a equipamentos de 3T e com tempos de aquisição elevados, permitem avaliar a componente bioquímica do disco e avaliar a sobrecarga sujeita a variações diurnas/noturnas na composição de água<sup>12</sup>.

A técnica DWI e a relação entre o coeficiente aparente de difusão (ADC) com a degenerescência do disco lombar têm também sido estudadas por alguns autores que concluem haver correlações negativas entre o ADC e o aumento do score de degenerescência do disco. Os valores de ADC podem mesmo ser negativos nos casos de herniação<sup>13</sup>. Outros autores, para estudarem a fisiopatologia do disco, aplicam técnicas de perfusão, alta resolução e injeção de contraste que avaliam o suprimento sanguíneo dos planaltos vertebrais. Aplicam baixos tempos de eco para avaliar as calcificações e alterações subcondrais e em fases sequentes, através do T1 $\rho$  e da DWI, analisam a microestrutura do disco e a perda de proteoglicanos como forma de obter medidas multiparamétricas das alterações locais, monitorização da doença e resposta terapêutica<sup>13-14</sup>.

Estudos de difusão com a determinação do valor da difusividade média encontram-se associados à diferenciação das doenças neurológicas crônicas da medula, sendo que este parâmetro, nestes casos, pode encontrar-se aumentado por necrose celular devido à permeabilidade das membranas. Nas doenças agudas com envolvimento de perda axonal, o valor da difusividade média tende a diminuir. O estudo por transferência da magnetização utiliza-se como marcador indireto de desmielinização e possível perda axonal. A espectroscopia tem sido utilizada em escassos casos para determinar os valores do N<sub>acetyl</sub> Aspartato que, por ser sintetizado pelas mitocôndrias, é usado como marcador da integridade neuronal da medula. Tem sido ainda descrita a caracterização das alterações bioquímicas associadas a mielopatia espondilótica, doenças inflamatórias desmielinizantes, traumatismos agudos por "golpe do coelho", siringomielia, esclerose lateral amiotrófica ou tumores. Estes estudos estão praticamente circunscritos aos equipamentos de 1,5 T à determinação do N<sub>acetyl</sub> Aspartato (NAA), Colina (Co) e Creatina (Cr). Mais recentemente estão a ter relevância os equipamentos de 3T e novos *softwares* de processamento para a melhor separação dos picos do Glutamato-glutamina (GLx) e do Mio-inositol (Ins)<sup>15</sup>.

Não é comum a integração da espectroscopia (<sup>1</sup>H) no exame de rotina por RM quando existe evidência de involução ou degenerescência do disco lombar. Na nossa pesquisa não foram encontrados estudos da coluna por espectroscopia para além das lesões da medula e apenas dirigidas ao segmento cervical.

Contudo, deve ser considerada uma cuidadosa avaliação de toda a coluna lombar nos discos intervertebrais e nos elementos inter-apofisários quer nos estudos morfológicos

quer nos estudos funcionais. Deste modo, o conhecimento do grau de alteração do disco através da avaliação por espectroscopia, a sua bioquímica e implicitamente a sua estrutura podem constituir a solução clínica para antever o prognóstico, ponderar sobre a terapêutica ou eventualmente optar por uma decisão cirúrgica<sup>6,16-17</sup>.

Assim, os objetivos deste estudo foram demonstrar o potencial da espectroscopia (<sup>1</sup>H) por RM na doença degenerativa discal lombar e defender a integração desta técnica na rotina clínico-imagiológica para a precisa classificação da involução vs degenerescência dos discos L4-L5 e L5-S1 em doentes com lombalgia não relacionável com causa mecânica.

## Material e métodos

### Amostra

No período de maio a junho de 2013, 123 pacientes adultos referenciados pelas consultas das especialidades de neurocirurgia e ortopedia, na maioria subsidiados por seguradoras, foram submetidos a RM dirigida ao segmento lombo-sagrado. Os discos intervertebrais em avaliação neste estudo foram D12-L1, L4-L5 e L5-S1.

A análise incidiu sobre 102 discos intervertebrais lombares: 61 em L4-L5 e 41 em L5-S1. Adicionalmente foram estudados 34 discos no nível D12-L1 para controlo e normalização dos valores dos discos lombares. A média de idades dos doentes avaliados em L4-L5-S1 foi de 48 anos e a idade média dos doentes avaliados em D12-L1 foi de 44 anos.

Em todos os doentes, o sintoma prevalente para inclusão foi a lombalgia recorrente e incapacitante não explicada por compressão direta, tendo sido excluídos os doentes com outro tipo de sintomatologia, com material de osteosíntese pós-cirúrgico e os que apresentaram intenção de não adesão por claustrofobia ou outro desconforto. Em cerca de 20% dos casos, a radiografia simples tinha sido obtida anteriormente entre 3 e 6 meses ou tinha sido solicitada apenas após a RM.

Para a obtenção dos espectros foram selecionados os casos que revelaram na imagem protusão focal em todos os níveis e sem extrusão ou pinçamento intervertebral igual ou superior a 10%.

### Equipamento

O estudo foi realizado num equipamento de RM com [1,5] T de intensidade de campo magnético (*Achieva, Philips Healthcare, Best, The Netherlands*), equipado com gradientes de amplitude máxima 30mT/m e *slew rate* de 75 T/m/s. Foi utilizada uma bobina de sinergia dedicada para estudos da coluna, apetrechada com a tecnologia SENSE e 16 canais transmissores.

### Procedimento

Conformou-se um estudo experimental pela aplicação da sequência de espectroscopia (<sup>1</sup>H), em complemento ao estudo *standard* lombo-sagrado requisitado.

Após apresentado o objetivo e mais-valias do estudo foi obtido o consentimento informado para aplicação adicional da espectroscopia ( $^1\text{H}$ ), em simultâneo com o questionário de segurança. Foi garantido o anonimato dos dados.

De acordo com a escala proposta por Pfirrmann<sup>1</sup>, os doentes foram classificados em grau [1+2] para um nível de degenerescência discal baixo e grau [3+4] para uma condição de degenerescência de média a elevada. Aplicou-se a técnica PRESS (*Point RESolved Spectra Selection*) na aquisição de imagem por ser a sequência que menos influencia a frequência de ressonância dos constituintes que tenham contantes de acoplamento ( $J$ ) aproximadas. Por outro lado, também produz estimativas do T2 dos lípidos e medições da fração dos lípidos mais reais. Utilizou-se o pulso CHESS (*CHEmical-Shift-Selective*) para supressão do sinal da água<sup>18-19</sup>. O processamento do espectro foi efetuado segundo as predefinições do equipamento.

O protocolo de aquisição das imagens estruturais incluiu uma sequência em sagital T1 spin-eco com os seguintes parâmetros: tempo de repetição [TR] 700 ms/Tempo de eco [TE] 12 ms e Sagital em FSE (*Fast-Spin Eco*), ponderada em T2 (TR 5000 ms/TE 130 ms). A matriz de aquisição foi de 512x512 e um campo de visão – FOV (*Field Of View*) de 370mm. A espessura de corte foi de 4mm e o espaço entre corte de 0,5mm. O número de excitações (NEX) foi de 5. A sequência axial foi ponderada em T2 FSE (TR 5000 ms/TE 72 ms; matriz, 210x256; FOV de 150mm; espaço entre corte de 0,5mm e um número de excitações de 2).

As imagens obtidas a partir da ponderação T2 permitiram uma avaliação visual dos discos nos planos sagitais e axiais.

Na colocação e dimensionamento do *voxel* foi tido em conta o seu ajustamento restrito a cada espaço discal, evitando tocar os planaltos vertebrais, processos de esclerose subcondral ou osteofitose (cf. Figura 1). A sequência inclui a opção automática de supressão da água.

Os parâmetros de aquisição da sequência espectro estão resumidos na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros da sequência espectroscopia ( $^1\text{H}$ )

Parâmetro	Valor	Unidade
TR	2000	ms
TE	288	ms
Ângulo de bascula	90	graus
Pulso base	50 (180 <sub>max.</sub> )	Hz
2.º pulso	300	Hz
Ângulo de bascula	180	graus
Atraso T1	5	ms
TR <sub>min.</sub>	1077	ms
TE <sub>min.</sub>	159	ms
Resolução do espectro	1,95	Hz
Matriz	512x128	pixel
B1 rms	1,18	$\mu\text{T}$

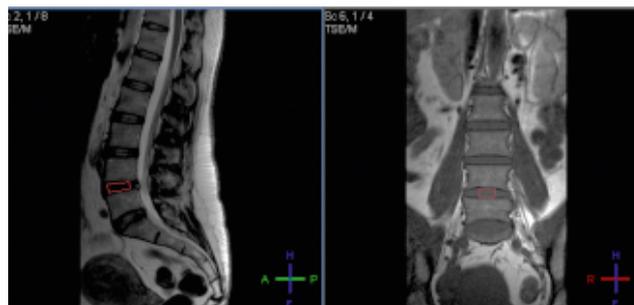


Figura 1: Representação da colocação do *voxel* no nível L4-L5.

Os valores obtidos em D12-L1 foram considerados como padrão de referência após confirmação da normalidade do seu sinal, por ser este o nível considerado mais estável e com baixa probabilidade de degenerescência.

O modelo de classificação aplicado foi a escala de Pfirrmann<sup>1</sup> ajustada a 4 graus de avaliação visual: **Grau 1** – hipersinal, brilhante, homogêneo com distinção entre o núcleo e o anel; **Grau 2** – sinal intermédio, heterogêneo com ou sem bandas horizontais com distinção duvidosa entre o núcleo e o anel; **Grau 3** – hipossinal, heterogêneo, sem distinção entre o anel e o núcleo, com diminuição da altura do disco; **Grau 4** – irregular, hipointenso com colapso do espaço discal e com esclerose ou erosão dos planaltos vertebrais (cf. Figura 2).<sup>1,20</sup>

Adicionalmente foi estudado o total de lípidos e a sua fração média de ressonância em 100 discos do espaço L4-L5, 100 discos em L5-S1 e 50 discos em D12-L1.

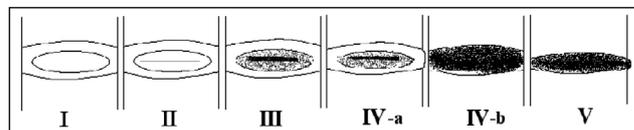


Figura 2: Representação gráfica do modelo de classificação visual do disco intervertebral segundo a escala de Pfirrmann, ajustada pelo autor Puertas *et al*<sup>20</sup>.

A classificação, segundo o modelo acima referido, foi efetuada por 3 médicos radiologistas residentes com mais de 20 anos de experiência em RM da coluna.

Para limitar as discrepâncias ou desvios nos resultados, devidos à qualidade de imagem e não à patologia, apenas os discos cuja avaliação revelou uma relação entre o sinal e o ruído igual ou superior a 1 foram considerados na avaliação. Sempre que se verificou haver um metabolito cuja ressonância era superior a 1, todo o espectro foi rejeitado.

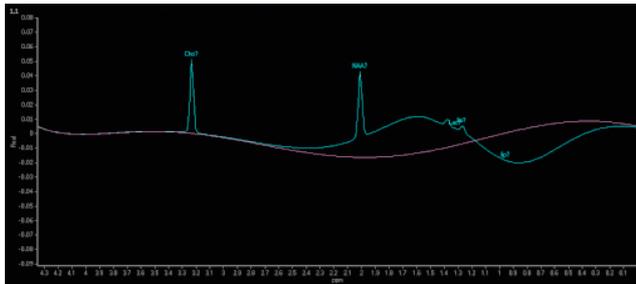
Um total de 61 dos 102 discos no intervalo L4-L5-S1 pertenciam ao nível L4-L5, estando 21 classificados no grau de Pfirrmann ajustado [1+2] e 40 no grau [3+4]. Dezoito de 41 dos discos L5-S1 pertenciam ao grau [1+2] e 23 ao grau [3+4]. Em 31 discos avaliados no nível D12-L1 foi apenas encontrado o grau [1+2] com predominância (73%) do grau 1. As variáveis avaliadas foram os metabolitos  $N_{\text{acetyl}}$  – N acetyl; **Lac** – Lactato e **Lip** – Lípidos.

Para tratamento dos dados foi utilizado o *software* SPSS®, versão 22. O modelo estatístico aplicado contemplou os

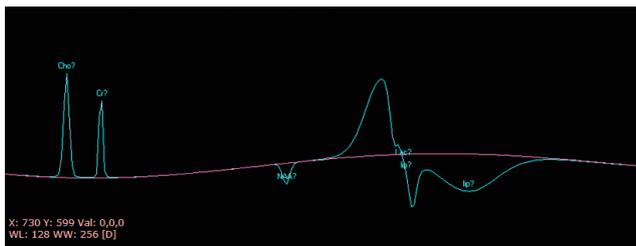
testes não paramétricos *Mann-Whitney* devido à violação dos pressupostos para estatísticas paramétricas – não normalidade da amostra dada pelo teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Ao nível de significância de 5%, a hipótese nula não foi rejeitada. Os rácios dos metabolitos são apresentados em unidades arbitrárias (u.a.).

## Resultados

O rácio  $[Lac/N_{acetyl}]$  permitiu distinguir a involução natural vs a degenerescência dos discos intervertebrais L4-L5-S1 classificados com o grau [1+2] e dos classificados com o grau [3+4]. Os valores de precisão foram 3,4 e 2,9 com ( $p=0,000$ ). Estes rácios obtiveram um incremento global de 26% e de 31% em relação aos picos de ressonância dos mesmos metabolitos nos discos D12-L1 nos dois graus de degenerescência [1+2] e [3+4] ( $p=0,033$  para os discos com grau de involução [1+2] e  $p=0,004$  para os discos com grau [3+4]). A diferença entre os picos do espectro, de acordo com o resultado da classificação dos discos no grau [1+2] foi 0,3 ppm. Estes resultados sugerem que a involução vs degenerescência dos discos nos graus mais elevados condicionam um decréscimo do Lactato (*cf.* Figuras 3 e 4). A diferença média do rácio  $[Lac/N_{acetyl}]$  entre os discos D12-L1 e L4-L5-S1, nos graus [1+2] e [3+4], foi de 2,5 e 2,0 com ( $p<0,005$ ). Considerando globalmente os discos L4-L5-S1 no grau [1+2] de Pfirrmann, o aumento do rácio  $[Lac/N_{acetyl}]$  esteve presente em 13 de 39 discos (33%) e em 6 de 63 (9,5%) nos discos classificados com grau [3+4]. Os picos de ressonância dos discos D12-L1 no grau [1+2] apresentaram um rácio normal  $[Lac/N_{acetyl}]$  em 11 de 34 discos avaliados (32,4%) e moderadamente aumentado nos restantes.



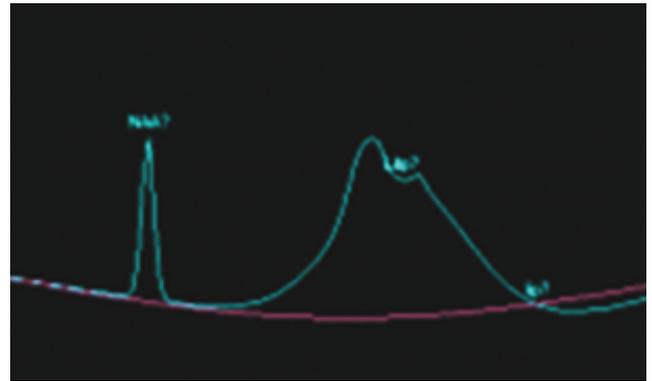
**Figura 3:** Espectro referente a uma paciente do género feminino, 43 anos, disco L4-L5 no grau 1 (classificação de Pfirrmann ajustada). Rácio  $[Lac/N_{acetyl}]$  de 1,56 e rácio  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  de 0,14.



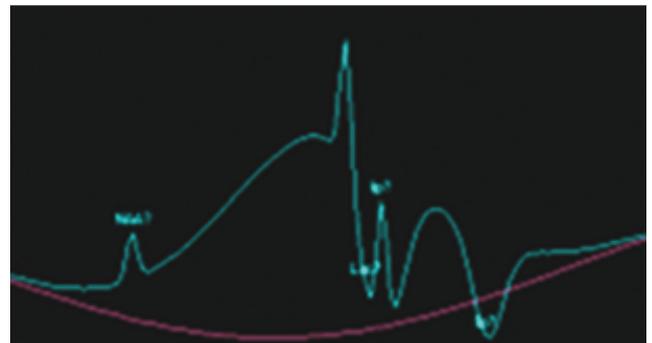
**Figura 4:** Espectro obtido a partir dum paciente do género masculino com 57 anos, disco L4-L5 classificado com grau [3+4]. Rácio  $[Lac/N_{acetyl}]$  de 1,46 e rácio  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  de 0,32. Deterioração do disco e dor de possível origem discogénica.

Nos discos L5-S1 com o grau [1+2], o rácio  $[Lac/N_{acetyl}]$  demonstrou um valor médio de 6,7. O mesmo rácio teve um valor médio de 1,82 nos discos L4-L5 grau [1+2] e de 2,12 nos discos D12-L1, também no grau [1+2] de involução de Pfirrmann.

Estes resultados poderão corresponder a estadios iniciais de involução vs degenerescência discal nas fases precoces ainda não observáveis na escala visual. Em relação ao rácio  $[Lac/N_{acetyl}]$ , os discos com evidente sinal de involução vs degenerescência pertencem ao nível L5-S1 (*cf.* Figuras 5 e 6). É possível extrapolar que alguns discos classificados no grau [1+2] poderão conter alterações estruturais que justificam o aumento do Lactato.



**Figura 5:** Espectro referente a um paciente do género masculino com 61 anos, disco L4-L5 no grau 3. Rácio  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  de 0,74.



**Figura 6:** O mesmo doente da Figura 5, disco L5-S1 com grau 4. Rácio  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  de 0,08. A degenerescência do disco é elevada em L5-S1 em relação a L4-L5. A degenerescência do disco parece distribuída homogeneamente por todo o disco em L5-S1 e predominantemente anular em L4-L5.

O rácio  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  não discrimina completamente o grau [1+2] do [3+4] comparativamente às imagens ponderadas em T2 convencional e aos valores das ressonâncias dos discos; no entanto, a discriminação entre os graus [1+2] e [3+4] no nível L4-L5 é notória quando observados os rácios correspondentes (média 0,65 e 0,5 com  $p=0,04$ ). A diferença média nos rácios L4-L5 (0,60) e L5-S1 (0,28) é também estatisticamente significativa quando relacionada com D12-L1 ( $p=0,004$ ). O rácio médio de  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  dos discos L4-L5 foi 1,8 vezes mais elevado que em D12-L1. Desta forma, a involução vs degenerescência dos discos

com instabilidade variável, sobrecarga e alterações estruturais não tem o mesmo padrão de variação no que respeita à avaliação bioquímica, se considerarmos os discos L4-L5, L5-S1 e D12-L1 (cf. Figuras 7, 8 e 9).

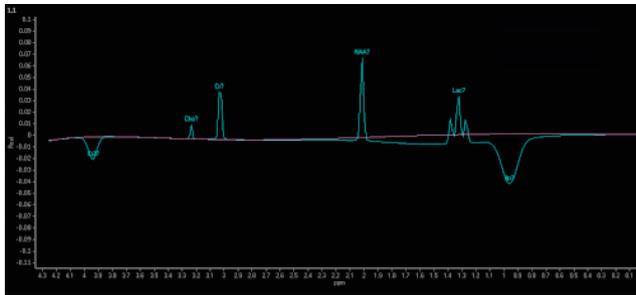


Figura 7: Espectro obtido a partir de uma paciente do gênero feminino, 53 anos, disco D12-L1, grau [1+2]. Normal relação entre [Lac] e  $[N_{\text{acetyl}}]$ . O pico dos Lipídios [Lip] é mais elevado do que o do [Lac].

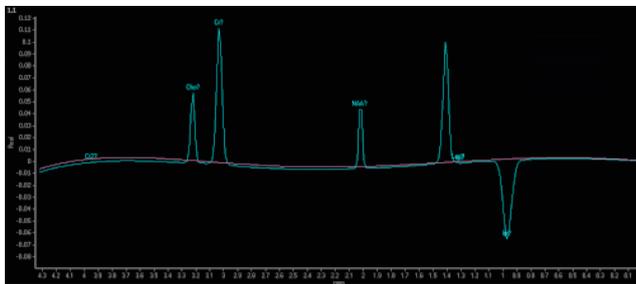


Figura 8: O mesmo caso da Figura 7, mas referente ao disco L4-L5. Existe um decréscimo no pico de ressonância do  $[N_{\text{acetyl}}]$  e um aumento dos picos do [Lac] e [Lip]. O rácio [Lac/Lip] é positivo.

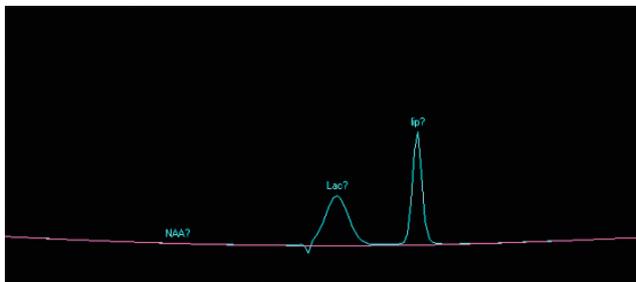


Figura 9: O mesmo caso das Figuras 7 e 8, disco L5-S1 com grau 3 (classificação de Pfirrmann ajustada). Marcada redução do pico de  $[N_{\text{acetyl}}]$  em relação ao perfil do espectro da Figura 6. O pico do [Lac] diminuiu enquanto o pico dos [Lip] aumentou. O perfil do disco L5-S1 sugere uma degeneração global. Os perfis dos discos L4-L5 e L5-S1 parecem representar uma tendência evolutiva na degenerescência do disco.

A distribuição média dos rácios  $[N_{\text{acetyl}}]/(\text{Lac}+\text{Lip})$  mostra que a relação entre os discos classificados nos graus [1+2] e [3+4] é diferente em L4-L5 (+1,2) e L5-S1 (-0,7). O valor dos rácios aplicados aos discos no grau [1+2] é (0,65) em L4-L5, (0,23) em L5-S1 e (0,33) em D12-L1. Estes resultados resultam dum conflito “evolutivo” entre os três níveis disciais estudados. Para além disso, é possível afirmar que a involução vs degenerescência dos discos L4-L5, L5-S1 e D12-L1 não têm o mesmo perfil quantitativo de resso-

nância quando avaliado pelo índice de Pfirrmann ajustado. Este resultado reveste um importante argumento contra a avaliação única dos discos pelo sinal da imagem T2W convencional.

O rácio  $[N_{\text{acetyl}}]/(\text{Lac}+\text{Lip})$  é mais elevado nos discos L4-L5 no grau [1+2] do que nos discos L5-S1 no grau [3+4] ou nos discos D12-L1 no grau [1+2]. O metabolito  $N_{\text{acetyl}}$  deverá ter, por isso, uma interpretação prudente. Este resultado pode ser justificado pelas diferentes fases de involução vs degenerescência do disco, da diferente composição bioquímica ou ainda da constituição celular do núcleo.

Os rácios  $[\text{Lac}/N_{\text{acetyl}}]$  e  $[N_{\text{acetyl}}]/(\text{Lac}+\text{Lip})$  unicamente avaliados nos discos com grau 1 em L4-L5-S1, e tomando os discos D12-L1 como referência, apresentam valores médios de 0,84 e 0,96, respetivamente. Estes rácios são, por isso, importantes e terão um significado complementar à avaliação por RM T2W da fase involutiva dos discos.

O espectro lipídico em D12-L1, no grau [1+2], tem prevalência na posição 0,945 ppm (com DP=0,115). Nos discos L4-L5-S1, no mesmo grau, a prevalência das três ressonâncias do espectro lipídico foi de 1,288 ppm (com DP=0,098). Nos discos L4-L5-S1, com o grau [3+4], não houve prevalência nas três frequências de ressonância.

Tomando L5-S1 como referência, estas três frequências de ressonância são elevadas nos discos com grau [3+4]; no entanto, não foram encontradas diferenças entre os mesmos discos quando comparados com os resultados do grau [1+2]. Admitindo que as fases precoces de degenerescência têm como ponto de partida uma sobrecarga mecânica<sup>3,5,8,21</sup>, a diferença quantitativa da frequência de ressonância dos lípidos nos discos L4-L5-S1, com posição 1,288 ppm, em relação ao disco D12-L1 (0,945 ppm), pode contribuir para afirmar uma possível degenerescência do disco já em sobrecarga. A variação crescente das 3 partes lipídicas, em relação a D12-L1, foi de 73,5%, 64,2% e 76,2%.

## Discussão

É complexo estabelecer limites exatos entre a involução e a degenerescência do disco intervertebral<sup>21</sup>. Envolve elevadas alterações nos discos tanto estruturais como bioquímicas, as quais estão relacionadas com sobrecarga e instabilidade, muitas vezes em coexistência<sup>22-24</sup>. Como consequência, não é óbvio individualizar estas duas variáveis unicamente através da avaliação qualitativa ou da análise bioquímica num disco com dor intensa de outro sem sintoma doloroso. Para além disso, não é possível que um único espectro seja suficiente *per se* para mostrar a degenerescência de um disco em todas as suas vertentes, a qual integra simultaneamente alterações celulares, proteicas e arquiteturais ou separar claramente o núcleo pulposo do anel fibroso<sup>25</sup>. Acresce que nem sempre se poderá dissociar o que é senescência do que será já degenerescência, mesmo quando os estudos têm um fundamento imunológico<sup>22,26</sup>. A configuração morfológica e funcional do disco com diferente estrutura intervertebral<sup>27</sup> constitui outro

desafio para a bioquímica. Assim, a espectroscopia por RM e a sua quantificação poderá ser uma forma de avaliar não apenas a estrutura do disco, mas também a sua vulnerabilidade para desenvolver instabilidade e sobrecarga, sendo que ambas as situações se podem encontrar no mesmo espaço intervertebral, mas em diferentes *loci*<sup>21</sup>. Na degenerescência do disco será importante reconhecer que coexistem alterações involutivas e reativas, como sejam fibrose, *clusters* celulares e inervação das margens fissurais do disco<sup>6,28-29</sup>. Verificámos, por este estudo, que os índices  $[Lac/N_{acetyl}]$  e  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  dos discos intervertebrais estão em concordância com os picos do espectro e com os graus de involução vs degenerescência dos discos obtidos através da RM T2W convencional (escala visual segundo o modelo de Pfirrmann ajustado). Uma vez que o tipo de informação obtida pelo T2W clássico é de natureza diferente, mas complementar da informação obtida pela espectroscopia, é previsível que exista relação entre a imagem de uma desidratação simples e a avaliação bioquímica<sup>30</sup>. Acresce que os rácios medidos neste estudo têm elevado significado com a correlação clínica. Os picos de ressonância avaliados  $N_{acetyl}$  ( $N_{acetyl}$ ), Lac (Lactato) e Lip (Lípidos) podem apresentar a atividade bioquímica intervertebral: núcleo pulposo e interface disco-cartilágnea.

Os dois rácios medidos  $[Lac/N_{acetyl}]$  e  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  demonstraram ter idênticos resultados nos discos L4-L5-S1 para o grau de involução vs degenerescência [1+2]. Contudo, esta conclusão decorre da comparação efetuada com o nível D12-L1 ( $p=0,03$ ). Os mesmos resultados não se verificaram quando avaliados, de forma independente, os discos L4-L5 ( $p=0,34$ ) e L5-S1 ( $p=0,025$ ).

O espectro de cada disco L4-L5-S1 deve ser relacionado com o espectro de D12-L1, cujo disco tem menor probabilidade de degenerescência e é o nível considerado mais estável e com menor sobrecarga.

Os rácios  $[Lac/N_{acetyl}]$ , o  $[N_{acetyl}/(Lac+Lip)]$  e o perfil lipídico dos discos intervertebrais produzem informação complementar.

Para tirar partido da utilização da semiologia sobre a diversidade da espectroscopia, opinamos que a interpretação deve ser feita caso a caso, sobre dados clínicos e sob a forma de afirmação/exclusão<sup>4,22,31</sup>.

É importante salvaguardar alguns aspetos que poderão condicionar a realização do espectro e a sua interpretação. A variação na posição do *voxel*, o seu diferente tamanho, a sobreposição intervertebral e a variável espessura do disco podem originar falsos resultados. No entanto, devido a existir uma prevalência local de células intervertebrais, proteínas e colagénio, os rácios estudados podem responder a uma situação de involução generalizada vs degenerescência e prever as suas implicações futuras<sup>16,21</sup>. Deverá considerar-se que uma protusão discal que condicione estenose do canal superior a 15% e pinçamento do espaço (superior a 10%) pode influenciar o espectro. O aperfeiçoamento tecnológico contínuo é importante para o desenvolvimento clínico, superando aspetos como heterogeneida-

des do campo magnético, diferenças de suscetibilidade dos tecidos adjacentes ou artefactos causados pelo movimento do líquido cefalorraquidiano<sup>15</sup>.

A espectroscopia por RM poderá também vir a ser aplicada rotineiramente ao estudo da medula. Esta técnica permite medir a integridade neuronal e a concentração do  $N_{acetyl}$  Aspartato, que é um marcador dos neurónios saudáveis em fase madura. Do mesmo modo, poderá ser avaliada a presença de ácido láctico (lactato na forma ionizada), que se desenvolve na medula em processos de glicólise anaeróbia e a concentração de colina, que é um marcador dos processos caracterizados por proliferação celular<sup>15</sup>.

## Conclusão

Os resultados deste estudo não consideram a avaliação da entidade “disco doloroso”, principalmente quando uma compressão discal por hérnia do disco é excluída<sup>5</sup>. Ainda não completamente explicado, o “disco doloroso” tem uma posição epidemiológica de destaque que relaciona a dor lombar com a degenerescência e fissuras anulares<sup>32</sup>, com a inflamação do disco, com a diminuição do pH e com o incremento do lactato<sup>1,3,33-34</sup>.

Em conclusão, a espectroscopia (<sup>1</sup>H) dos discos intervertebrais lombares, sendo reprodutível, deve integrar, como complemento, a RM convencional<sup>34</sup> e discriminar a diversidade estrutural a qual é importante para uma discussão em perspetiva pluridisciplinar<sup>7,35-38</sup> sobre o tratamento da lombalgia. A combinação dos rácios  $[Lac/N_{acetyl}]$  e  $[Lip]$  por espectroscopia (<sup>1</sup>H) tem potencial para ser um complemento na caracterização da involução vs degenerescência do disco, principalmente quando os seus resultados forem associados à avaliação clínica e à classificação de Pfirrmann.

As conclusões gerais deste estudo, bem como os valores dos rácios dos metabolitos, não encontraram na literatura estudos idênticos para apoio ou confronto e, por isso, se sugere a realização de ulteriores estudos que possam validar estes rácios, encontrar valores padrão hierarquizados por *score* de degenerescência e nível intersomático e, assim, estabelecer uma correspondência com as escalas de classificação visual.

A continuidade de estudos de quantificação bioquímica de outros metabolitos em equipamentos de maior intensidade de campo e validados por análises histopatológicas poderão contribuir não só para a avaliação das fases precoces da doença degenerativa discal como ajudar a entender os mediadores da doença focados na intervenção preventiva e apoiar a definição de esquemas terapêuticos mais eficazes<sup>31,33</sup>.

## Agradecimentos

Aos Técnicos de Radiologia S. Ferreira, R. Mendes, C. Casimiro, P. Lourenço e R. Silva pelas aquisições e processamento do espectro e à Inês Maurício pela revisão do manuscrito.

## Referências bibliográficas

1. Pfirrmann CW, Metzdorf A, Zanetti M, Hodler J, Boos N. Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration. *Spine*. 2001;26(17):1873-8.
2. Johannessen W, Auerbach JD, Wheaton AJ, Borthakur A, Reddy R, Elliott DM. Spin-lock (T1 rho) MRI as a quantitative measure of intervertebral disc degeneration. In *Transactions of the Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society*. 2006. Paper no. 0016.
3. Adams MA, McNally DS, Dolan P. "Stress" distributions inside intervertebral discs: the effects of age and degeneration. *J Bone Joint Surgery Br*. 1996;78(6):965-72.
4. Boden SD, Davis DO, Dina TS, Patronas NJ, Wiesel SW. Abnormal magnetic-resonance scans of lumbar spine in asymptomatic subjects: a prospective investigation. *J Bone Joint Surg Am*. 1990;72(3):403-8.
5. Boos N, Dreier D, Hilfiker E, Schade V, Kreis R, Hora J, et al. Tissue characterization of symptomatic and asymptomatic disc herniation's by quantitative magnetic resonance imaging. *J Orthop Res*. 1997;15(1):141-9.
6. Brown MF, Hukkanen MV, McCarthy ID, Redfern DR, Batten JJ, Crock HV, et al. Sensory and sympathetic innervation of the vertebral endplate in patients with degenerative disc disease. *J Bone Joint Surg Br*. 1997;79(1):147-53.
7. Ohtori S, Inoue G, Ito T, Koshi T, Ozawa T, Doya H, et al. Tumor necrosis factor-immunoreactive cells and PGP 9.5-immunoreactive nerve fibers in vertebral endplates of patients with discogenic low back pain and modic type I or type II changes on MRI. *Spine*. 2006;31(9):1026-31.
8. Haughton V. Medical imaging of intervertebral disc degeneration: current state of imaging. *Spine*. 2004;29(23):2751-6.
9. Ludescher B, Effelsberg J, Martirosian P, Steidle G, Matket B, Claussen C, et al. T2- and diffusion-maps reveal diurnal changes of intervertebral disc composition: an in vivo MRI study at 1.5 Tesla. *J Magn Reson Imaging*. 2008;28(1):252-7.
10. Wang YX, Zhao F, Yuan J, Mok GS, Ahuja AT, Griffith JF. Accelerated T1rho relaxation quantification in intervertebral disc using limited spin-lock times. *Quant Imaging Med Surg*. 2013;3(1):54-8.
11. Yuan J, Wang YX, Griffith JF. Intervertebral disc T1rho relaxation mapping with spin-lock 3D b-FFE imaging at 3T. *Proc Intl Soc Mag Reson Med*. 2010;(18):3219.
12. Hoppe S, Quirbach S, Mamisch TC, Krause FG, Werlen S, Benneker LM. Axial T2 mapping in intervertebral discs: a new technique for assessment of intervertebral disc degeneration. *Eur Radiol*. 2012;22(9):2013-9.
13. Zhang W, Ma X, Wang Y, Zhao J, Zhang X, Gao Y, et al. Assessment of apparent diffusion coefficient in lumbar intervertebral disc degeneration. *Eur Spine J*. 2014;23(9):1830-6. Epub 2014 Apr 6.
14. Kubota G, Eguchi Y, Ohtori S, Inoue G, Orita S, Kamoda H, et al. Diffusion weighted MR imaging of degenerative intervertebral discs: GP136. *Spine: Affiliated Society Meeting Abstracts*. 2011.
15. Cohen-Adad J, Wheeler-Kingshott C. *Quantitative MRI of the spinal cord*. Academic Press; 2014. ISBN 9780123969736
16. Cassinelli EH, Hall RA, Kang JD. Biochemistry of intervertebral disc degeneration and the potential for gene therapy applications. *Spine J*. 2001;1(3):205-14.
17. Crock HV. Internal disc disruption: a challenge to disc prolapsed fifty years old. *Spine*. 1986;11(6):650-3.
18. Hamilton G, Middleton MS, Bydder M, Yokoo T, Schwimmer JB, Kono Y, et al. The effect of PRESS and STEAM sequences on magnetic resonance spectroscopic liver fat quantification. *J Magn Reson Imaging*. 2009;30(1):145-52.
19. Drost DJ, Riddle WR, Clarke GD. Proton magnetic resonance spectroscopy in the brain: Report of AAPM MR task group #9. *Med Phys*. 2002;29(9):2177-97.
20. Puertas EB, Yamashita H, Oliveira VM, Souza PS. Classificação por ressonância magnética do disco intervertebral [Classification of intervertebral disc degeneration by magnetic resonance]. *Acta Ortop Bras*. 2009;17(1):46-9. Portuguese
21. Pritzker KP. Aging and degeneration in the lumbar intervertebral disc. *Orthop Clin N Am*. 1977;8(1):66-77.
22. Jarvik JG, Ollingworth W, Martin B, Emerson SS, Gray DT, Overman S, et al. Rapid magnetic resonance imaging vs radiographs for patients with low back pain: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;289(21):2810-8.
23. Miller JA, Schmatz C, Schultz AB. Lumbar disc degeneration: correlation with age, sex, e spine level in 600 autopsy specimens. *Spine*. 1988;13(2):173-8.
24. Trout JJ, Buckwalter JA, Moore KC. Ultrastructure of the human intervertebral disc: II. Cells of the nucleus pulposus. *Anat Rec*. 1982;204(4):307-14.
25. Freemont AJ. The cellular pathobiology of the degenerate intervertebral disc and discogenic back pain. *Rheumatology*. 2009;48(1):5-10.
26. Gruber HE, Norton HJ, Ingram JA, Hanley EN Jr. The SOX9 transcription factor in the human disc: decreased immunolocalization with age and disc degeneration. *Spine*. 2005;30(6):625-30.
27. Hastreiter D, Ozuna RM, Spector M. Regional variations in certain cellular characteristics in human lumbar intervertebral discs, including the presence of alpha-smooth muscle actin. *J Orthop Res*. 2001;19(4):597-604.
28. Johnson WE, Eisenstein SM, Roberts S. Cell cluster formation in degenerated lumbar intervertebral discs is associated with increased disc cell proliferation. *Connect Tissue Res*. 2001;42(3):197-207.
29. Peng B, Wu W, Hou S, Li P, Zhang C, Yang Y. The pathogenesis of discogenic low back pain. *J Bone Joint Surg Br*. 2005;87(1):62-7.
30. Resnick D, editor. *Diagnosis of bone and joint disorders*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia, Pa: Saunders; 1995. ISBN 9780721650661
31. Raj PP. Intervertebral disc: anatomy, physiology, pathophysiology, treatment. *Pain Pract*. 2008;8(1):18-44.
32. Sharman A, Pilgram T, Wippold II FG. Association between annular tears and disc degeneration: a longitudinal study. *AJR Am J Roentgenol*. 2009;30:500-6.

33. Lotz JC, Haughton V, Boden SD, An HS, Kang JD, Massuda K, et al. New treatments and imaging, strategies in degenerative disease of the intervertebral discs. *Radiology*. 2012;264(1):6-19.
34. Majumdar S, Link TM, Steinbach LS, Hu S, Kurhanewicz J. Diagnostic tools and imaging methods in intervertebral disc degeneration. *Orthop Clin N Am*. 2011;42(4):501-11.
35. Zuo J, Saadat E, Romero A, Loo K, Li X, Link TM, et al. Assessment of intervertebral disc degeneration with magnetic resonance single-voxel spectroscopy. *Magn Reson Med*. 2009;62(5):1140-6.
36. Uschold TD, Fusco D, Germain R, Tumialan LM, Chang SW. Cervical and lumbar spinal arthroplasty: clinical review. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2012;33(9):1631-41.
37. Williams AL, Gornet MF, Burkus JK. CT evaluation of lumbar interbody fusion: current concepts. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2005;26(8):2057-66.
38. Franklin L, Hull EW. Lipid content of the intervertebral disc. *Clin Chem*. 1966;12(5):253-7.

Artigo recebido em 30.04.2014 e aprovado em 26.06.2014