

ESTUDO COMPARATIVO DOS MECANORRECEPTORES DOS DISCOS INTERVERTEBRAIS NORMAIS E DEGENERADOS DA COLUNA LOMBAR DE HUMANOS PELA RADIOGRAFIA, RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO

COMPARATIVE STUDY OF NORMAL AND DEGENERATED INTERVERTEBRAL DISCS' MECHANORECEPTORS OF HUMAN LUMBAR SPINE BY X-RAY, MAGNETIC RESONANCE AND ANATOMOPATHOLOGIC STUDY

VALDECI MANOEL DE OLIVEIRA¹, EDUARDO BARROS PUERTAS², MARIA TERESA DE SEIXAS ALVES³, HÉLIO KIITIRO YAMASHITA⁴

RESUMO

Os autores fizeram um estudo da coluna lombar de humanos, objetivando avaliar e determinar os diferentes tipos de fibras nervosas no disco intervertebral normal e no degenerado. Foram usadas dez colunas lombares de cadáveres com aproximadamente 48 a 72 horas de óbito. As peças foram submetidas a exames de radiografia simples e ressonância magnética. Após os exames, os discos foram classificados em normais e degenerados. Em seguida, foram dissecados, divididos em regiões anterior e posterior, incluídos em parafina e realizado estudo de imuno-histoquímica com a proteína S100. Com o auxílio de um programa de computador Image-Pro Plus (media cybernetics®), as fibras nervosas tiveram seu diâmetro medidos em micrômetros e classificadas em quatro tipos de fibras. Foram encontrados quatro tipos de fibras nervosas nas diferentes regiões discais. O número e o tipo de fibras variaram de acordo com a região e grau de degeneração do disco intervertebral. Concluíram que as fibras do tipo III são mais freqüentes na região anterior; as fibras dos tipos II e IV são mais freqüentes na região posterior, e as fibras do tipo I não apresentaram diferenças entre a região anterior e a posterior; além disso, o disco degenerado tem mais fibras nervosas que o disco normal.

Descritores: Mecanorreceptores; Coluna vertebral; Estudo comparativo; Espectroscopia de ressonância magnética.

SUMMARY

The authors conducted a study on human lumbar spine, aiming to assess and determine the different kinds of nervous fibers in normal and degenerated intervertebral discs. Ten cadaver's lumbar spines with approximately 48 – 72 of death have been used. The pieces were submitted to simple X-ray and magnetic resonance tests. Subsequently to the tests, discs were divided into normal and degenerated. Then, they were dissected, divided into anterior and posterior according to the region, included in paraffin and an immunohistochemical study with S100 protein was performed. With the aid of Image-Pro Plus computer software (media cybernetics)®, nervous fibers' diameters were measured as micrometers and classified into four kinds of fibers. Four types of nervous fibers were found on different disc regions. The number and kind of fibers varied according to the region and degree of intervertebral disc degeneration. It was concluded that type-III fibers are more common at the anterior region; type-II and type-IV fibers are more common at the posterior region, and type-I fibers do not show any differences regarding anterior and posterior regions; in addition, a degenerated disc has a higher number of nervous fibers than a normal one.

Keywords: Mechanoreceptors; Intervertebral disk; Spine; Comparative study; Magnetic resonance spectroscopy

Citação: Oliveira VM, Puertas EB, Alves MT, Yamashita HK. Estudo comparativo dos mecanorreceptores dos discos intervertebrais normais e degenerados da coluna lombar de humanos pela radiografia, ressonância magnética e estudo anatomopatológico. Acta Ortop Bras. [periódico na Internet]. 2007; 15(1):35-39. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/aob>.

Citation: Oliveira VM, Puertas EB, Alves MT, Yamashita HK. Comparative study of normal and degenerated intervertebral discs' mechanoreceptors of human lumbar spine by x-ray, magnetic resonance and anatomopathologic study. Acta Ortop Bras. [serial on the Internet]. 2007; 15(1):35-39. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

INTRODUÇÃO

A coluna vertebral se origina do mesoderma por volta da quarta semana de vida embrionária. Ela se desenvolve por influência do notocorda e do tubo neural. O disco inicialmente desenvolve-se neste ambiente com poucos vasos sanguíneos e rodeados de tecido pericondral⁽¹⁾.

O disco é estruturalmente caracterizado por três tecidos integrados: o núcleo pulposo, o ânulo fibroso e a cartilagem no planalto vertebral. As terminações nervosas encontradas no disco intervertebral tem sido relacionadas com a dor lombar, onde a via da dor começa com as terminações nervosas livres dos receptores de dor⁽²⁾ (nociceptores). Onde o potencial de ação gerado é continuado no axônio das pequenas

fibras C ou A-delta e entra no corno dorsal da medula espinhal, onde as primeiras sinapses são feitas. A mais importante via ascendente da dor, o segundo neurônio que transmite a mensagem através da medula espinhal, na substância branca do tracto espino-talâmico do tálamo, onde ocorre a segunda sinapse. O terceiro neurônio continua a transmissão no córtex somato sensitivo no cérebro.

A estrutura do disco intervertebral já esta bem definida onde sabemos a origem e composição do ânulo fibroso e núcleo pulposo, como também sua inervação, porém ainda existem muitos estudos em relação aos discos aparentemente normais e discos degenerados^(3,4) utilizando a técnica de imunohistoquímica afirmaram a presença de fibras nervosas nas camadas mais interna do ânulo

Trabalho realizado nos Departamento de Ortopedia e Traumatologia, Departamento de Patologia e Departamento de Diagnóstico por Imagem da Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina.

Endereço para correspondência: Rua Halfeld, 1240, Centro, Juiz de Fora, MG, CEP: 36016-000- Brasil – E-mail: val.ort.@terra.com.br

1 - Professor Adjunto da Disciplina de Anatomia da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora - MG e Professor Substituto da Disciplina de Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina da UFJF – MG. Mestre, Doutor em Ciências, pelo Departamento de Ortopedia e Traumatologia da UNIFESP-EPM,

2 - Professor Associado, Chefe da Disciplina de Traumatologia do Departamento de Ortopedia e Traumatologia da UNIFESP-EPM.

3 - Professora Adjunta, Chefe da Disciplina de Anatomia Patológica Geral, Sistêmica, Forense e Bioética do Departamento de Patologia da UNIFESP-EPM.

4 - Professor Adjunto do Departamento de Diagnóstico por Imagem da UNIFESP-EPM.

Trabalho recebido em 04/04/06 aprovado em 26/09/06

fibroso. Como também a presença de fibras nervosas no núcleo pulposo do disco degenerado.⁽³⁾

O objetivo de nosso estudo foi fazer uma comparação entre o número e o tipo de terminações nervosas nos discos normais e degenerados, nas regiões anteriores e posterior, identificando o tipo de terminações de acordo a composição morfológica e tamanho das células nervosas⁽⁵⁾ (Tabela 1).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados dez cadáveres adultos, com idade entre quarenta a oitenta e cinco anos, sendo cinco do sexo feminino e cinco do sexo masculino, com aproximadamente 24 horas após o óbito.

Foi retirada toda a coluna lombar, de L1 a L5 durante a necropsia realizada no Serviço de Verificação de Óbito da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, excluindo-se o cadáver com lesão visível do disco intervertebral ou cirurgia prévia na coluna vertebral (Figura 1).

MÉTODO RADIOGRÁFICO

Foram realizadas imagens ponderadas em T1 (tempo de repetição 452 e tempo de eco 14), e T2 (tempo de repetição 3367 e tempo de eco 140). Os cortes foram de 4mm com uma F.O.V. (field of view) de 27cm. Foram feitos 12 cortes de L1 L2 à L5S1 (Figuras 2 A e 2B). Como também radiografias em antero-posterior e perfil com KV 55/16 (Figura 3).

Os discos foram classificados, utilizando a classificação de Pfirmann e cols. em 2001 (Tabela 2).

As figuras 2B representam os cortes axiais dos discos L1L2 e L5S1 nas imagens ponderadas de T1 e T2 respectivamente da peça anatômica.

A Figura 3 representa as imagens de radiografias em antero-posterior e perfil com KV 55/16 referente a um dos espécimes.

Tipo	Morfologia	Diâmetro (µm)	Característica funcional	Eponimos
I	Globular ou ovóide	5-8 (mielinizada)	Mecanorreceptor; adaptação lenta, baixo limiar.	Terminações de Ruffini, Golgi-Mazzoni, corpúsculo de Meissner.
II	Cilíndrico ou cônico	8-12 (mielinizada)	Mecanorreceptor, baixo limiar, adaptação rápida.	Corpúsculo de krause, vater, Vater-Pacine
III	Fusiforme	13-17 (mielinizada)	Mecanorreceptor, alto limiar, adaptação muito lenta.	Terminações de Golgi, corpúsculo de Golgi- Mazzoni
IV	a)plexos não mielinizadas	2-5 (mielinizada)	Receptor de dor	-
	Terminações livres não mielinizadas	< 2 (não mielinizada)	Receptor de dor	-
	b) nervos terminais não mielinizadas	< 2 (não mielinizada)	Eferente vasomotora	-

Tabela 1 - Classificação dos nervos articulares, segundo Freeman e Wyke.

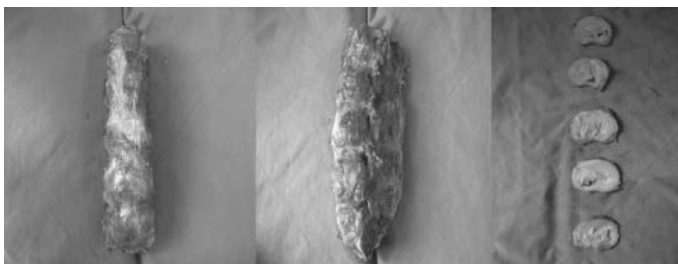


Figura 1 - Peça anatômica AP e P e discos L1L2 à L5S1.

Fonte: Serviço Verificação Óbito da capital SP.

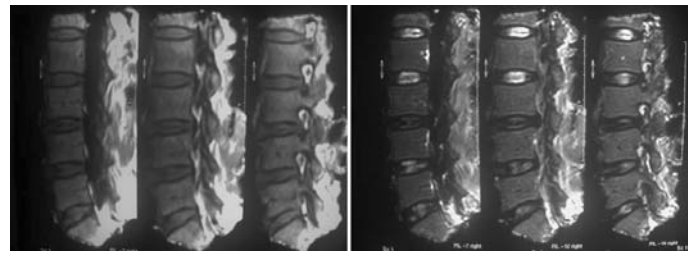


Figura 2A - RNM: sagital T1 e T2.

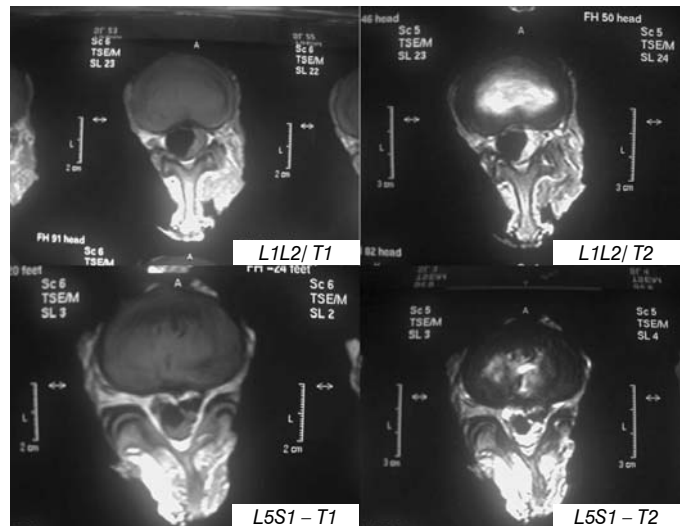


Figura 2B - cortes axiais dos discos L1L2 e L5S1 nas imagens ponderadas de T1 e T2 respectivamente da peça anatômica.

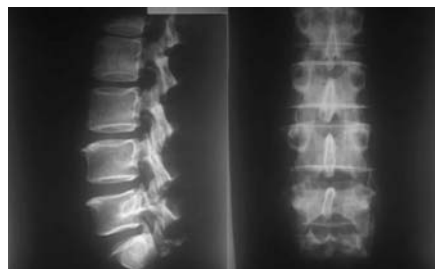


Figura 3 - Radiografia: Antero-posterior e perfil.

Tipo	Estrutura	Núcleo	Intensidade do sinal	Altura do disco
I	Homogênea	Claro	Hiperintenso	Normal
II	Heterogêneo com linha horizontal	Claro	Hiperintenso	Normal
III	Heterogêneo cinza	Não claro	Intermediário	Normal
IV-a	Heterogêneo cinza	Não claro	Intermediário	Reduzido
IV-b	Heterogêneo preto	Perdido	Hipointenso	Reduzido
V	Heterogêneo preto	Perdido	Hipointenso	colapsado

Tabela 2 - Classificação de Pfirmann e colaboradores.

MÉTODO HISTOLÓGICO

Os discos foram identificados, dissecados e divididos no plano transversal e subdivididos em duas partes no plano sagital, sendo identificadas cada parte como região anterior e posterior de acordo com as referências anatômicas.

Após a fixação, as peças foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina.

Os blocos de parafina, contendo o material processado histologicamente, foram resfriados em congelador e cortados em micrótomos rotativos, de onde foram obtidos cortes histológicos

de 3µm a 4µm de espessura, utilizando-se navalhas descartáveis próprias para este fim.

As fitas de parafina obtidas no processo de corte pela microtomia foram colocadas em banho-maria histológico e os cortes depositados em lâminas previamente tratadas com o 3-aminopropiltriétoxissilano (APTS). As lâminas com os cortes foram levadas à estufa a 60°C e lá deixadas por 24 horas para melhor adesão do tecido.

Procedimento técnico

- Desparafinização com xilol a quente (60°C) 15 minutos por temperatura ambiente, por 15 minutos.
 - Hidratação com álcool em várias concentrações indo do absoluto para cubas diluídas em água destilada (respectivamente 100%, 95%, 80%, e 70%), trocas a cada 30 segundos.
 - Lavagem em água corrente.
 - Bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio a 6% diluído a 20 volumes, em três banhos de 5 minutos cada, seguidos no fim por lavagem em água corrente e em tampão PBS (Solução salina de 10mM, pH 7.4 tamponada com fosfatos).
 - Incubação do anticorpo primário (diluído em albumina bovina Fração V Inlab Brasil código 1870 em câmara úmida 4°C overnight na geladeira. Utilizei o anticorpo: Proteína S100 –Rxs100 –Dako/Z311/lotte129 (072) título 1/3000c).
 - Lavagem em solução de PBS.
 - Incubação DAKO LSAB+KIT, peroxidase código KO690, que possui dos frascos:
 - 1º frasco: Solução DAKO LSAB+ SYSTEM, LINK nºKo690: (“Biotinylated antimouse, rabbit e goat”) por 30 minutos em temperatura ambiente.
 - Lavagem em solução de PBS.
 - 2º frasco: Solução DAKO LSAB+HRP, LINK (“Streptavidin conjugated to horseradish peroxidase”) por 30 minutos em temperatura ambiente.
 - Lavagem em solução de PBS.
 - Revelação da reação utilizando-se solução substrato: 60mg de Diaminobenzidina (3,3- Diaminobenzidine Tetrahydrochloride Sigma Chemical CO USA código D5637), 600 µl de água oxigenada a 30 volumes, 100ml de PBS e 1ml de dimetilsulfóxido, deixar as lâminas nesta solução por 5 minutos a 37°C, ao abrigo da luz, observando-se o tecido uma coloração castanha escuro, produto final da reação.
 - Lavagem em água corrente.
 - Contra coloração utilizando-se hematoxilina de Harris por 1 minuto.
 - Imersão das lâminas em água amoniacal (solução de hidróxido de amônio a 0,2%).
 - Lavagem em água corrente.
 - Desidratação dos cortes em álcool absoluto. Imersão das lâminas em Xilol.
 - Montagem da lâmina com lamínula e Entellan® (Merck-Germany código 1.07961.0100).
- Procedemos à contagem das fibras nervosas em toda extensão do disco, corados pelo método imunohistoquímico, de maneira interativa, com aumento de 400 vezes, com auxílio do sistema de análise digital de imagem Pro-Image, que consiste de uma videocâmara JVC modelo TK 1180V, que transmite a imagem capturada do microscópio Olympus (modelo BX40 com objetivas plan-acromáticas) a um computador Pentium MMX 233 MHz com 64 Megabytes de memória RAM, equipado com uma placa digitalizadora e o software

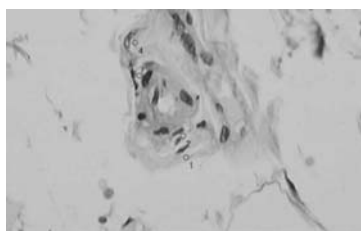


Figura 4 - (Fibras da região anterior de L5) fibras tipo IV.
Fonte: Departamento de patologia UNIFESP.

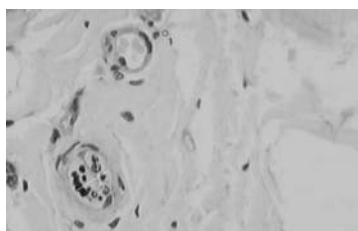


Figura 5 - (Fibras da região anterior de L5) fibras tipo IV e III.
Fonte: Departamento de patologia UNIFESP.



Figura 6 - (Fibras da região posterior de L2) fibras tipo I e II.
Fonte: Departamento de patologia UNIFESP.

Pro-Image, trabalhando em ambiente Windows.

Todas as fibras nervosas foram medidas em comprimento e largura utilizando o programa Image-Pro R plus, com calibração específica em micromilímetros. Após as medidas das fibras eram feitas as médias e classificadas de acordo com o tamanho e forma segundo a classificação de Freeman e Wyke(5). Cada medida foi conferida por uma patologista experiente especialista em doença osteomuscular da UNIFESP. Após não haver dúvidas entre os pesquisadores, os números encontrados foram encaminhados para análise estatística. Durante a contagem das fibras nenhum dos pesquisadores tinham conhecimento a respeito do grau de degeneração discal e da região envolvida.

A Figura 4 mostra um campo do disco intervertebral capturada através do computador, conforme descrito acima. Visibilizamos diferentes tipos de fibras nervosas coradas pelo método da imunohistoquímica.

A Figura 5 mostra o método de medição das fibras nervosas para a utilização da classificação de Freeman e Wyke. As menores fibras, terminações nervosas livres, foram contadas diretamente.

A Figura 6 mostra uma fotomicrografia do disco intervertebral corado pelo método imuno-histoquímico para proteína S100. Aumento de 400 x.

MÉTODO ESTATÍSTICO

Utilizando o programa SPSS for Windows (v. 8.0) Statistical Package for Social Sciences, analisamos as diferenças entre as regiões anterior e posterior, em relação ao tipo de mecanorreceptor e nociceptor nos diferentes tipos de disco normal e degenerados. Como se trata de uma amostra heterogênea utilizamos o teste de Chi-Square e as amostras significantes foram as com $Z_0,01 = 1,64$.

RESULTADOS

Nas dez colunas estudadas, encontramos fibras nervosas de diferentes tamanhos e formas. Essas fibras foram encontradas em toda região discal estudada e nos diferentes graus de degeneração. Encontramos diferenças significativas em relação ao tipo de fibra nervosa nos diferentes graus de degeneração discal e no disco normal.

Em nossa amostragem encontramos discos degenerados do grau II a IVa. Tivemos dois casos em que o disco ficava entre dois graus de degeneração, um entre o grau II para III e outro do grau III para IV. Consideramos então o grau de maior degeneração. Não encontramos disco degenerado grau IVb e V em nossa amostragem. A Tabela 3 mostra os diferentes graus.

Estudamos as diferenças existentes entre a região posterior e anterior com o tipo de fibra nervosa. (Tabela 4).

H0: tipo de terminação é independente da região

H1: tipo de terminação não é independente da região

Na Tabela 4 há seis resíduos significativos. Combinando este resultado com as porcentagens observadas, a conclusão geral é a de que a fibra nervosa do tipo II é mais freqüente na região posterior (51,7%) e menos comum na região anterior (48,3%). Para a fibra nervosa do tipo III, a ocorrência é mais freqüente na região anterior (54,5%) e menos comum na região posterior (45,5%). Para a fibra nervosa do tipo IV, a ocorrência é mais freqüente na região posterior (55,2%) e menos comum na região anterior (44,8%). Para fibra nervosa do tipo I, a porcentagem de ocorrências não difere

Paciente	Sexo	L1/L2	L2/L3	L3/L4	L4/L5	L5/ SI
1	F	III	III	III	II	III
2	F	II	II	II	III	II
3	F	III	II	III	II	II
4	M	IVA	IVA	IVA	IVA	IVA
5	F	I	I	II	II	III/IVA
6	M	II	II	III	II	IVA
7	M		III	II	II	III
8	M	III	III	III	II	IVA
9	M	II	II	II/III	III	IVA
10	F	I	I	I	I	I

Fonte: Departamento de Radiologia da UNIFESP- 2004.

Tabela 3 - representa as iniciais dos nomes, sexo e grau de degeneração de cada disco intervertebral.

REGIÃO	anterior	Count	TN				Total
			um	dois	tres	quatro	
		1547	921	911	5514	8893	
		Expected Count	1515,1	885,5	775,9	5716,5	8893,0
		% within REGIÃO	17,4%	10,4%	10,2%	62,0%	100,0%
		% within TN	47,4%	48,3%	54,5%	44,8%	46,4%
		% of Total	8,1%	4,8%	4,8%	28,8%	46,4%
		Adjusted Residual	1,2	1,7	6,9	-6,1	
	posterior	Count	1716	986	760	6797	10259
		Expected Count	1747,9	1021,5	895,1	6594,5	10259,0
		% within REGIÃO	16,7%	9,6%	7,4%	66,3%	100,0%
		% within TN	52,6%	51,7%	45,5%	55,2%	53,6%
		% of Total	9,0%	5,1%	4,0%	35,5%	53,6%
		Adjusted Residual	-1,2	-1,7	-6,9	6,1	
Total		Count	3263	1907	1671	12311	19152
		Expected Count	3263,0	1907,0	1671,0	12311,0	19152,0
		% within REGIÃO	17,0%	10,0%	8,7%	64,3%	100,0%
		% within TN	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	17,0%	10,0%	8,7%	64,3%	100,0%

Tabela 4 - Mostra a existência ou não de diferença entre a região anterior e posterior com o tipo de fibra nervosa.

significativamente para as diferentes regiões anterior ou posterior) daquela observada para o total da amostra.

Analisando a Tabela 5, a hipótese nula **H0** foi rejeitada ($p < < < 0,1$), logo há evidências no intervalo de 90% de confiança, pelo teste de Pearson Chi-Square, que o tipo de terminação esteja associado com a região A existência de associação entre o grau de degeneração e o tipo de fibra nervosa, referente à região anterior e posterior também foi determinada. (Tabela 6).

H0: grau de degeneração é independente do tipo de fibra nervosa.

H1: grau de degeneração não é independente do tipo de fibra nervosa.

Na Tabela 6 há oito resíduos significativos. Combinando este resultado com as porcentagens observadas, a conclusão geral é a de que a fibra nervosa do tipo I é mais freqüente para o disco degenerado do tipo IVa (20,8%) e menos comum no disco degenerado do tipo I (6,3%). Para a fibra nervosa do tipo II é mais freqüente para o disco degenerado do tipo IVa (19,9%) e menos comum no disco degenerado do tipo I (9,3%). Para a fibra nervosa do tipo III é mais freqüente para o disco degenerado do tipo III (33,2%) e menos comum no disco degenerado do tipo I (10,2%). Para fibra nervosa do tipo IV é mais freqüente para o disco degenerado do tipo III (37,4%) e menos comum no disco degenerado do tipo IVa (18,3%). Para as demais caselas, a porcentagem de ocorrências quanto ao tipo de fibra nervosa não difere significativamente para os diferentes graus de degeneração (um ou quatro) daquela observada para o total da amostra.

Analisando a Tabela 7 a hipótese nula **H0** foi rejeitada ($p < < < 0,1$), logo há evidências no intervalo de 90% de confiança, pelo teste de Pearson Chi-Square, que o grau de degeneração esteja associado com o tipo de terminação.

DISCUSSÃO

Nosso trabalho mostra uma diferença significativa entre o tipo e o número de fibras nervosas nos discos normais e degenerados. Utilizamos a ressonância magnética para diferenciar os diferentes graus de degeneração discal, avaliando de forma qualitativa e quantitativa os tipos e número de fibras nervosas existentes.

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	61,205 ^a	3	,000
Likelihood Ratio	61,077	3	,000
Linear-by-Linear			
Association	13,817	1	,000
N of Valid Cases	19152		

Tabela 5 - Mostra a associação do tipo de terminação com a região pelo teste de Pearson.

GD	um	Count	TN				Total
			um	dois	tres	quatro	
		206	178	170	922	1476	
		Expected Count	251,5	147,0	128,8	948,8	1476,0
		% within GD	14,0%	12,1%	11,5%	62,5%	100,0%
		% within TN	6,3%	9,3%	10,2%	7,5%	7,7%
		% of Total	1,1%	,9%	,9%	4,8%	7,7%
		Adjusted Residual	-3,3	2,8	4,0	-1,5	
	dois	Count	1186	678	588	4529	6981
		Expected Count	1189,4	695,1	609,1	4487,4	6981,0
		% within GD	17,0%	9,7%	8,4%	64,9%	100,0%
		% within TN	36,3%	35,6%	35,2%	36,8%	36,5%
		% of Total	6,2%	3,5%	3,1%	23,6%	36,5%
		Adjusted Residual	-1	-.9	-1,1	1,3	
	tres	Count	1191	671	555	4608	7025
		Expected Count	1196,9	699,5	612,9	4515,7	7025,0
		% within GD	17,0%	9,6%	7,9%	65,6%	100,0%
		% within TN	36,5%	35,2%	33,2%	37,4%	36,7%
		% of Total	6,2%	3,5%	2,9%	24,1%	36,7%
		Adjusted Residual	-2	-1,4	-3,1	2,9	
	quatro	Count	680	380	358	2252	3670
		Expected Count	625,3	365,4	320,2	2359,1	3670,0
		% within GD	18,5%	10,4%	9,8%	61,4%	100,0%
		% within TN	20,8%	19,9%	21,4%	18,3%	19,2%
		% of Total	3,6%	2,0%	1,9%	11,8%	19,2%
		Adjusted Residual	2,7	,9	2,5	-4,1	
Total		Count	3263	1907	1671	12311	19152
		Expected Count	3263,0	1907,0	1671,0	12311,0	19152,0
		% within GD	17,0%	10,0%	8,7%	64,3%	100,0%
		% within TN	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
		% of Total	17,0%	10,0%	8,7%	64,3%	100,0%

Tabela 6 - Mostra a existência ou não de associação entre o grau de degeneração e o tipo de fibra nervosa, referente à região anterior e posterior.

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	53,515 ^a	9	,000
Likelihood Ratio	52,395	9	,000
Linear-by-Linear			
Association	6,562	1	,010
N of Valid Cases	19152		

Tabela 7 - Mostra que o grau de degeneração esteja associado com o tipo de terminação.

Alguns autores fizeram a diferenciação apenas com o aspecto macroscópico⁽⁶⁾.

A imagem de ressonância magnética demonstra que é um método muito eficiente para diferenciar a alteração discal, podendo detectar degeneração em sua fase inicial. A ressonância magnética mostra evidência de degeneração discal mesmo com radiografia normal, porém ainda não se sabe o significado dessas alterações precoces⁽⁷⁾. A alteração de intensidade de sinal na ressonância corresponde a alterações bioquímicas⁽⁷⁾.

Autores avaliaram cadáveres e pacientes e correlacionaram a discografia, a anatomia macroscópica e ressonância magnética, onde essa se mostrou eficaz na detecção das alterações precoces do disco intervertebral⁽⁸⁾.

De acordo com alguns autores a ressonância magnética é um método eficiente na detecção da degeneração discal, mas para avaliar se o disco é doloroso ou não, o uso da discografia está indicado^(3,9).

A visibilidade das fibras nervosas teve uma grande melhora com a coloração da imunohistoquímica. Vários tipos de corantes foram usados com este objetivo. O nitrato de prata foi utilizado por alguns autores^(2,11-13), porém apenas três dos autores encontram terminações nervosas no ânulo fibroso^(2,12). O método de Gross-Schulte

também não encontrou terminações nervosas no ânulo fibroso. O autor atribuiu a ausência da visibilidade das fibras à descalcificação, onde esta destrói as fibras nervosas⁽¹⁴⁾.

A colinesterase também foi utilizada com sucesso por muitos autores, onde eles visibilizaram fibras nervosas na camada externa do disco intervertebral^(10-12, 15).

Em nosso meio utilizamos a imunohistoquímica, onde esta metodologia cora as fibras nervosas com uma cor marrom, permitindo boa visibilidade⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Na literatura esta metodologia também tem sido utilizada por muitos autores^(3, 4, 7, 9, 19-22).

No disco intervertebral foram encontradas fibras não mielinizadas^(15, 23), fibras mielinizadas^(24, 25), onde Pedersen determinou que as fibras menores eram relacionadas com a dor e as maiores com a propriocepção.

De acordo com a classificação de Freeman e Wyke as fibras de dois a dezessete micrometros de diâmetro são mielinizadas e as menores de dois micrometros são não mielinizadas. Em nosso estudo encontramos fibras de diferentes diâmetros, não diferindo dos demais autores.

Groen et al.⁽¹⁵⁾ afirmaram que o ligamento longitudinal anterior era inervado pelo plexo ventral e o tronco simpático. O plexo dorsal, formado por fibras do nervo sinuvertebral, inerva o ligamento longitudinal posterior.

Kojima et al.⁽²⁷⁾ sugeriu que as fibras poderiam estar relacionadas com a regulação de postura e movimentos, de acordo com Roberts et al.⁽²⁸⁾ as fibras relacionadas com a postura são iguais ao corpúsculo de Pacini e terminações de Ruffini, e os tendões de Golgi, relacionadas com a dor.

Encontramos fibras semelhantes às referidas por Roberts et al.⁽²⁸⁾ e concluímos que essas fibras são encontradas em todo o tipo de disco independentemente do seu grau de degeneração, porém observamos que as fibras relacionadas com a dor são mais freqüentes na região posterior do disco e nas fases iniciais da degeneração discal, grau III de Pfirmann et al.⁽⁶⁾, e as fibras relacionadas ao equilíbrio foram encontradas com maior freqüência nos discos mais degenerados, grau IVa de Pfirmann.

A substância P tem sido estudada por diversos autores, sendo encontrado no ligamento longitudinal posterior⁽²⁴⁾, na região su-

perficial do ânulo fibroso^(7, 21, 23, 26), e na camada externa e interna do ânulo pulposo⁽⁹⁾. À medida que melhora a qualidade e o tipo de coloração, novos descobrimentos em relação à inervação do disco são feitos. No passado autores afirmaram que no ânulo fibroso e núcleo pulposo não havia terminações nervosas e sim nos ligamentos longitudinais anteriores e posteriores⁽¹³⁾. Outros afirmaram que o disco era escassamente inervado⁽²⁶⁾. Porém a maioria dos autores encontrou terminações nervosas na superfície externa do ânulo fibroso^(4-12, 18, 19, 24, 25, 27, 28).

Alguns autores demonstraram um aumento do número de fibras no interior do disco degenerado em relação ao normal^(4, 7, 9). Freemont et al.⁽⁹⁾ não só demonstrou a presença dessas fibras nas camadas externa e interna como também no núcleo pulposo. William et al.⁽²⁹⁾ concluiu que na degeneração discal existe um aumento de vasos sanguíneos contribuindo com o aumento de terminações nervosas no interior dos discos.

Oliveira et al.⁽¹⁸⁾ fez um estudo quantitativo em relação às regiões anterior e posterior do disco intervertebral de humanos, encontrando uma diferença estatisticamente significativa entre as regiões anterior e posterior. Fagan et al.⁽³⁰⁾ também fez um estudo quantitativo, utilizando ovelhas e comparando a região do ânulo fibroso e cartilagem do planalto vertebral não encontrando diferença nessas regiões. Ambos concordam que o disco é muito bem inervado e que essas fibras têm alguma relação com a dor discogênica.

Observamos que as mecanorreceptores e nociceptores encontrados exercem uma importante função em diferentes etapas da degeneração discal, sendo um alerta para dor ou instabilidade.

CONCLUSÕES

- 1) Os mecanorreceptores de adaptação rápida e de baixo limiar de excitabilidade, bem como os nociceptores são significativamente mais freqüentes na região posterior. Os mecanorreceptores de adaptação muito lenta e de alto limiar de excitabilidade são estatisticamente mais freqüentes na região anterior.
- 2) Nos discos L1-L2 são mais freqüentes os nociceptores comparativamente aos demais discos.
- 3) Nos discos degenerados existem mais mecanorreceptores e nociceptores do que discos normais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Humzah MD, Soames RW. Human intervertebral disc: structure and function. *Anat Rec.* 1988; 220:337-56.
2. Cavanaugh JM, Kallakuri S, Ozaktay AC. Innervation of the rabbit lumbar intervertebral disc and posterior longitudinal ligament. *Spine.* 1995; 20:2080-5.
3. Freemont AJ, Peacock TE, Goupille P, Hoyland JA, O'Brien J, Jayson, MIV. Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain. *Lancet.* 1997; 350:178-81.
4. Grönblad M, Weinstein JN, Santavirta S. Immunohistochemical observations on spinal tissue innervation. A review of hypothetical mechanisms of back pain. *Acta Orthop Scand.* 1991; 62:614-22.
5. Freeman MAR, Wyke B. The innervation of the knee joint. An anatomical and histological study in cat. *J Anat.* 1967; 101:505-32.
6. Pfirmann C, Metzendorf A, Zanetti M. Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration. *Spine.* 2001; 26:1873-8.
7. Palmgren T, Grönblad M, Virri J, Kääpä E, Karaharju E. An immunohistochemical study of nerve structures in the annulus fibrosus of human normal lumbar intervertebral discs. *Spine.* 1999; 24:2075-9.
8. Ehrenhaft JL. Development of the vertebral column as related to certain congenital and pathological changes. *Surg Gynecol Obstet.* 1943; 76:282-92.
9. Eijnisman B. Estudo imunohistoquímico dos mecanorreceptores do ligamento glenoumeral inferior em cadáveres humanos [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 2002.
10. Bogduk N, Tynan W, Wilsom AS. The nerve supply to the human lumbar intervertebral disc. *J Anat.* 1981; 132:39-56.
11. Bogduk N, Windsor M, Inglis A. The innervation of the cervical intervertebral discs. *Spine.* 1988; 13:2-7.
12. Jackson HC, Winkelmann RK, Bickel WM. Nerve endings in the human lumbar spinal column and related structures. *J Bone Joint Surg Am.* 1966; 48:1272-81.
13. Jung A, Brunschwig A. Recherches histologiques sur l'innervation des articulations des corps vertebraux. *Presse Med.* 1932; 40:316-7.
14. Wiberg G. Back pain in relation to nerve supply of intervertebral disc. *Acta Orthop Scand.* 1949; 19:211-21.
15. Groen GJ, Baljet B, Drukker J. Nerves and plexuses of the human vertebral column. *Am J Anat.* 1990; 188:282-96.
16. Coppes MH, Marani E, Thomeer RT, Groen GT. Innervation of "painful" lumbar discs. *Spine.* 1997; 22:2342-9.
17. Hovelacque A. Le nerf sinuvertebral. *Anat Pathol Med Chir.* 1925; 2:435-43.
18. Oliveira VM. Estudo das terminações nervosas dos discos intervertebrais da coluna lombar de humanos [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 2001.
19. Ahmed M, Bjurholm A, Kreicbergs A, Schultzberg M. Neuropeptide Y, Tyrosine Hydroxylase and Vasoactive Intestinal Polypeptide-Immunoreactive Nerve Fibers in the Vertebral Bodies, Discs, Dura Mater, and Spinal Ligaments of the Rat Lumbar Spine. *Spine.* 1993; 18:268-73.
20. Kojima Y, Maeda T, Arai R, Shichikawa K. Nerve supply to the posterior longitudinal ligament and the intervertebral disc of the rat vertebral column as studied by acetylcholinesterase histochemistry. II. Regional differences in the distribution of the nerve fibres and their origins. *J Anat.* 1990; 169:247-55.
21. Malinsky J. The ontogenetic development of nerve terminations in the intervertebral disc of man. *Acta anat.* 1959; 38: 96-113
22. Jessel TM, Kelly DD. Pain and analgesia. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM eds. *Principles of neural science.* 3rd ed. Norwalk, CT: Appleton and Lange; 1966. p.385-99.
23. McCarthy PW. Sparse substance P-like immunoreactivity in intervertebral discs. *Acta Orthop Scand.* 1993; 64:664-8.
24. Korkala O, Grönblad M, Liesi P, Karaharju E. Immunohistochemical demonstration of nociceptors in the ligamentous structures of the lumbar spine. *Spine.* 1985; 64:156-7.
25. Pedersen HS, Blunck CF, Gardner E. The anatomy of lumbosacral posterior rami and meningeal branches of spinal nerves (sinus-vertebral nerves). *J Bone Joint Surg Am.* 1956; 38:377- 91.
26. Ashton IK, Walsh DA, Polak JM, Eisenstein SM. Substance P in intervertebral discs. *Acta Orthop Scand.* 1994; 65:635-9.
27. Kojima Y, Maeda T, Arai R, Shichikawa K. Nerve supply to the posterior longitudinal ligament and the intervertebral disc of the rat vertebral column as studied by acetylcholinesterase histochemistry. I. Distribution in the lumbar region. *J Anat.* 1990; 169:237-46.
28. Roberts, S, Eisenstein S M, Menage J, Evans EH, Ashton IK. Mechanoreceptors in intervertebral disc. Morphology, distribution and neuropeptides. *Spine.* 1995; 20:2645-51.
29. Willam, EBJ, Helena E, Janis, M, Stephen, ME, Alicia, EH and Sally R (2001) Immunohistochemical Detection of Schwann Cells in Innervated and Vascularized Human Intervertebral Discs. *Spine.* 26(23): 2550-2557
30. Fagan A, Moore R, Roberts BV, Blumbergs P, Fraser R. The innervation of the intervertebral disc: a quantitative analysis. *Spine.* 2003; 28:2570-8.