

Espectroscopia de músculo esquelético (^{31}P -MRS) na doença de Machado-Joseph utilizando protocolo de exercício: resultados preliminares

SOMAZZ, Júlio C²; SCHMID, Bruno¹; COSTA, Thiago BS²; SILVA, Elvis L²; LOPES-CENDES, Iscia³; CENDES, Fernando¹; CASTELLANO, Gabriela²; FRANÇA, Marcondes¹



¹Departamento de Neurologia, Universidade de Campinas (UNICAMP)

²Instituto de Física Gleb Wataghin, Universidade de Campinas (UNICAMP)

³Departamento de Genética Médica, Universidade de Campinas (UNICAMP)



Introdução e objetivos

A doença de Machado-Joseph (MJD) é a forma mais frequente de ataxia espinocerebelar autossômica, principalmente em países de colonização portuguesa. A MJD é uma doença neurodegenerativa heterógena, caracterizada por diferentes níveis de ataxia, oftalmoplegia, neuropatia periférica, disfunção piramidal e distúrbios de movimento. Ela é causada por uma expansão repetida instável (CAG) no gene MJD1. Dados experimentais e clínicos sugerem que o metabolismo energético anormal tem grande influência sobre a patogênese da doença. Espectroscopia de músculo esquelético (^{31}P -MRS) é um método não invasivo que permite quantificar *in vivo* metabólitos energéticos como a fosfocreatina (PCr), fósforo inorgânico (Pi) e o ATP.

O objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade de se utilizar a ^{31}P -MRS, aliada a um protocolo de exercício, como um marcador biológico para a MJD.

Métodos

Oito pacientes com MJD confirmada molecularmente (idade média de 42 ± 11 anos, 6 mulheres) e 8 sujeitos saudáveis (idade média de 41 ± 10 anos, 3 mulheres) fizeram parte do estudo. A gravidade da doença foi avaliada utilizando a escala SARA. Os dados de ressonância magnética (MR) foram adquiridos com um scanner de 3T Philips Achieva. O protocolo experimental foi: aquisição das imagens T1W para localização do ROI, aquisição do espectro de repouso (5min), flexão planar para aquecimento (1min), flexão planar até exaustão (cerca de 3min), aquisição do espectro de recuperação (16min). O ROI foi posicionado à esquerda do músculo gastrocnêmio ($30 \times 40 \times 120 \text{mm}^3$). Os espectros foram adquiridos utilizando a sequência ISIS, TR=3s, NSA=8, bandwidth=5000Hz. A quantificação dos espectros foi realizada utilizando o método AMARES implementado no software jMRUI 5.0. Foram realizados ajustes para as curvas de recuperação do $\text{PCr}_i(-e^{-x/B})$ e $\text{Pi}_i(-e^{-x/D})$ pelo software Origin 8.0. Os parâmetros A, B, C e D foram comparados estatisticamente entre os grupos (pacientes VS. Controles) utilizando o teste de Mann-Whitney, com o nível de significância fixado em $\alpha=0.05$ (software SYSTAT).

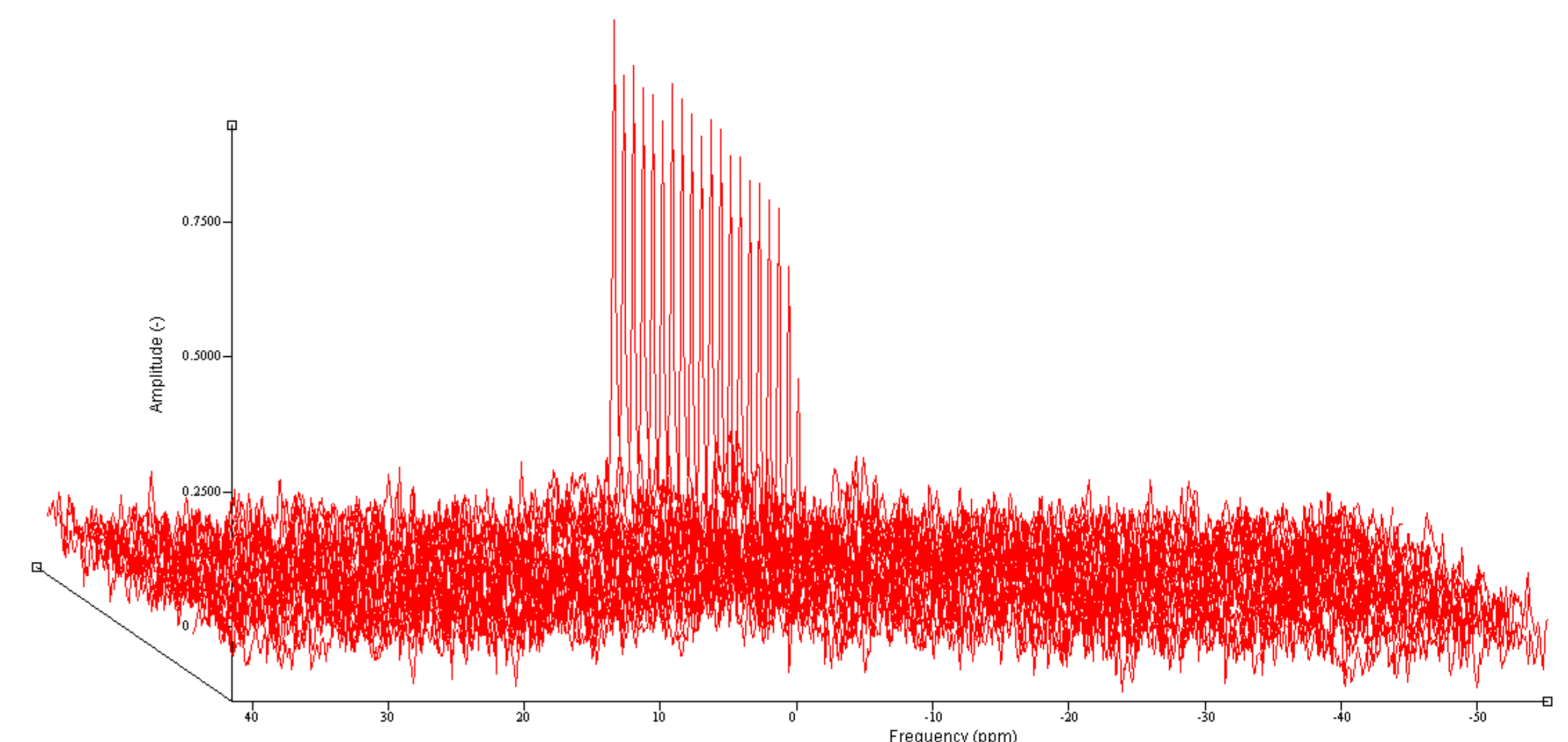


Figura 1: Espectros para ^{31}P de um paciente com MJD mostrando a recuperação do PCr.

Resultados

Não houve diferenças significantes entre as idades nos dois grupos. Pelos dados obtidos foi possível verificar que a evolução temporal esperada não foi observada na maioria dos casos. Para explorar melhor os dados obtidos foi realizado um teste de Mann-Whitney (pelo software SYSTAT) com nível de significância fixado em $\alpha=0,05$ para comparar os grupos de pacientes e controles e verificar se aparecia alguma tendência de diferenciação entre ambos.

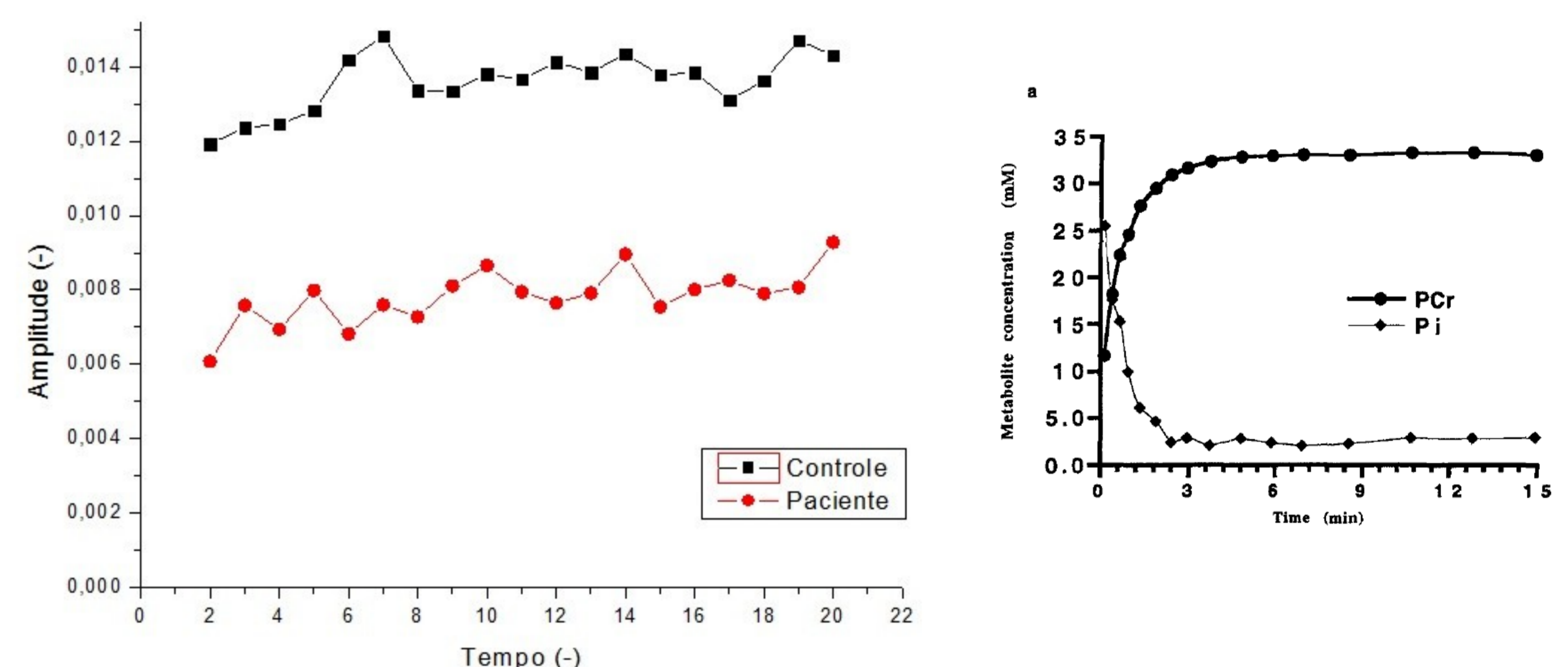


Figura 2: (Esq.) Evolução temporal do PCr para um paciente com MJD (vermelho) e um sujeito saudável (preto). (Dir.) Evolução temporal esperada do PCr e Pi (figura extraída de [Argov et al. 1996]).

Conclusões

Os resultados encontrados na primeira parte do projeto, que consistiu das medidas dos sujeitos em repouso, se mostraram promissoras para as razões PCR/Pi e PCR/ATP, e dão indício de que talvez a ^{31}P -MRS possa ser usada como um biomarcador para MJD. Já na segunda parte do projeto, os resultados obtidos com o protocolo de exercício não deram nenhum indício de que a evolução temporal dos metabólitos pode servir de marcador (Figura 2). No entanto, acreditamos que esses resultados não são ainda conclusivos, devido principalmente ao fato do sinal adquirido ter uma relação sinal-ruído baixa. No futuro, pretendemos utilizar uma sequência de pulsos não-localizada para adquirir os sinais, de forma a obter uma relação sinal-ruído melhor. Um teste realizado recentemente mostrou que de fato, uma sequência desse tipo aumenta a relação sinal-ruído por um fator da ordem de 3 (isso, comparando espectros obtidos durante 1,5 s com a sequência não-localizada, com espectros obtidos durante 48 s com a sequência localizada). Além disso, deveremos aumentar o número de pacientes e controles participantes do estudo, de forma a ter uma maior significância estatística para os resultados obtidos.

Grupo	A (u.a.)	erro a	B (48s)	erro b
Controle 1	1,38E-02	2,32E-04	1,02E-02	--
Controle 2	1,02E-02	2,17E-04	2,49E-02	--
Controle 3	8,36E-03	1,67E-04	7,07E-12	--
Controle 4	1,11E-02	1,49E-04	6,20E-05	--
Controle 5	7,21E-03	1,27E-04	1,91E-04	--
Controle 6	1,05E-02	7,87E-05	3,43E-03	--
Controle 7	1,12E-02	2,50E-04	1,45E-02	--
Controle 8	8,30E-03	1,36E-04	1,57E-04	--
Paciente 1	7,31E-03	1,68E-04	1,94E-02	--
Paciente 2	-8,19E+01	4,63E+05	-8,91E+04	5,04E+08
Paciente 3	-5,97E+01	3,40E+05	-8,95E+04	5,09E+08
Paciente 4	1,04E-02	1,09E-04	1,19E-11	--
Paciente 5	8,04E-03	1,47E-04	1,47E+00	1,91E-01
Paciente 6	1,17E-02	1,52E-04	1,97E-03	--
Paciente 7	1,40E-02	1,81E-04	8,48E-03	--
Paciente 8	8,09E-03	1,00E-04	3,26E-01	1,26E-01

Tabela 1: Parâmetros para a evolução temporal da PCr.

Grupo	yo (u.a.)	erro yo	C (u.a.)	erro C	D (48s)	erro D
Controle 1	4,23E-03	5,84E-04	2,59E-02	2,72E-02	8,17E-01	6,33E-01
Controle 2	2,04E-03	3,58E-04	1,89E+02	1,07E+06	9,82E-02	5,46E+01
Controle 3	1,87E-03	7,25E-04	1,40E-02	6,16E-03	2,06E+00	1,13E+00
Controle 4	3,05E-03	4,24E-04	1,18E-01	9,62E-02	5,04E-01	2,02E-01
Controle 5	7,84E-04	1,81E-04	3,21E-02	4,24E-02	6,31E-01	5,25E-01
Controle 6	2,99E-03	4,54E-04	6,02E-02	3,85E-02	6,66E-01	2,68E-01
Controle 7	3,53E-03	3,41E-04	1,43E-01	8,04E-02	4,99E-01	1,38E-01
Controle 8	3,51E-03	4,58E-04	2,03E-01	5,70E-01	3,53E-01	3,51E-01
Paciente 1	-1,00E+03	1,51E+05	1,00E+03	1,51E+05	9,17E+06	1,38E+09
Paciente 2	5,78E-03	4,50E-04	1,59E-02	1,16E-02	1,07E+00	6,87E-01
Paciente 3	5,04E+02	--	-5,04E+02	--	-1,86E+06	--
Paciente 4	2,45E-03	3,11E-04	1,11E+02	3,56E+05	1,03E-01	3,41E+01
Paciente 5	2,90E-03	4,10E-04	8,89E-02	6,84E-02	5,45E-01	2,23E-01
Paciente 6	2,76E-03	2,18E-04	1,33E+02	4,82E+05	9,98E-02	3,61E+01
Paciente 7	2,38E-03	3,38E-04	1,15E-01	4,55E-02	5,79E-01	1,28E-01
Paciente 8	5,91E+01	2,86E+04	-5,91E+01	2,86E+04	-1,15E+07	5,57E+09

Tabela 2: Parâmetros obtidos para a evolução temporal do Pi.

Agradecimentos

Agradecemos ao PIBIC-CNPq e à FAPESP pelo suporte financeiro.

Referências

- [Argov et al. 1996] Argov Z, De Stefano N, Arnold DL. ADP recovery after a brief ischemic exercise in normal and diseased human muscle – a ^{31}P MRS study. *NMR Biomed* 9: 165-172, 1996.
- [França et al. 2009] França MC Jr, D'Abreu A, Nucci A, Cendes F, Lopes-Cendes I. Prospective study of peripheral neuropathy in Machado-Joseph disease. *Muscle Nerve* 40:1012-1018, 2009.
- [Gadian 1995] Gadian DG. *Nuclear magnetic resonance and its applications to living systems*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 1995.
- [Graaf 2007] Graaf RA. *In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques*. 2nd ed. John Wiley & Sons, West Sussex, 2007.
- [Naressi et al. 2001] Naressi A, Couturier C, Castang I, Beer R, Graveron-Demilly D. Java-based graphical user interface for MRUI, a software package for quantitation of in vivo/medical magnetic resonance spectroscopy signals. *Computers Biol Med* 31: 269-86, 2001.
- [Salibi e Brown 1998] Salibi N, Brown M. *Clinical MR Spectroscopy, First Principles*. Wiley-Liss, New York, 1998.
- [Vanhamme et al. 1997] Vanhamme L, van den Boogaart A, Van Huffel S. Improved Method for Accurate and Efficient Quantification of MRS Data with Use of Prior Knowledge. *J Magn Reson* 129: 35-43, 1997.
- [Yabe et al. 2011] Yabe I, Tha KK, Yokota T, Sato K, Soma H, Takei A, Terae S, Okita K, Sasaki H. Estimation of skeletal muscle energy metabolism in Machado-Joseph disease using (^{31}P) -MR spectroscopy. *Mov Disord* 26(1): 165-168, 2011.
- [Zandt et al. 2001] Zandt HJA, Graaf M, Heerschap A. Common Processing of in vivo MR spectra. *NMR Biomed* 14: 224-232, 2001.