

Роль количественной магнитно-резонансной томографии и спектроскопии скелетных мышц в оценке результатов клинических исследований (часть I)*

Pierre G. Carlier¹⁻³, Benjamin Marty^{1,2}, Olivier Scheidegger^{1,4}, Paulo Loureiro de Sousa⁵,
Pierre-Yves Baudin⁶, Eduard Snezhko³, Dmitry Vlodavets⁷

¹Institute of Myology, Pitie-Salpêtrière University Hospital; France, Paris;

²CEA, DSV, I2BM, MIRCen, NMR Laboratory; France, Paris;

³National Academy of Sciences, United Institute for Informatics Problems; Belarus, Minsk;

⁴Support Center for Advanced Neuroimaging (SCAN), Institute of Diagnostic and Interventional Neuroradiology, Inselspital, Bern University Hospital, and University of Bern; Switzerland;

⁵Strasbourg University, CNRS, ICube; France, Strasbourg;

⁶Consultants for Research in Imaging and Spectroscopy; Belgium, Tournai;

⁷N.I. Prirogov Russian National Medical Research University, Clinical Research Institute of Pediatrics; Russian Federation, Moscow

Контакты: Pierre G. Carlier p.carlier@institut-myologie.org

В последние годы наблюдается прогресс в терапии многих ранее считавшихся неизлечимыми нервно-мышечных болезней. Это служит толчком для разработки новых неинвазивных методов оценки результатов лечения. Данные методы можно разделить на 3 основные категории: функциональные пробы, биологические маркеры различных жидкостей организма и методы формирования изображений. Среди последних ядерная магнитно-резонансная томография (МРТ) предлагает большой спектр возможностей для определения таких характеристик скелетных мышц, как состав, функция и метаболизм. Сегодня в протоколы клинического исследования обычно входят следующие 3 метода оценки МРТ: 1) анализ площади поперечного сечения или объема мышцы; 2) процент внутримышечного жира; 3) количество воды в режиме T2. Эти методы отражают соответственно количественную характеристику трофики мышцы, хронические жировые дегенеративные изменения и отек (или в более широком смысле «активность болезни»). Из первых двух следует 4-й биомаркер – объем сократительной ткани. Картирование жировой фракции, получаемое в режиме Dixon, доказало свою способность обнаруживать небольшие изменения в составе мышцы и неоднократно продемонстрировало высокую чувствительность по сравнению со стандартной функциональной оценкой. Данный способ оценки результатов, вероятнее всего, будет утвержден регулируемыми органами.

Универсальность контрастных агентов, применяемых при МРТ, предоставляет множество дополнительных возможностей для определения характеристик скелетных мышц, что приведет к увеличению количества предлагаемых биомаркеров. Ультракороткое время появления эхо-сигнала (*ultra-short echo time*, UTE), усиление гадолинием и МРТ-эластография изучаются в качестве кандидатов для оценки интерстициального фиброза скелетных мышц. Существует несколько способов измерения мышечной перфузии и оксигенации с помощью МРТ. Режим магнитно-резонансной (МР) диффузии, аналогично алгоритмам анализа структуры ткани, может давать дополнительную информацию о мышечной организации на микро- и мезоскопическом уровнях [1]. Спектроскопия по фосфору ³¹P является эталонным методом для неинвазивной оценки мышечной активности во время и после тренировки. Спектроскопия по фосфору ³¹P в дистрофичной мышце в состоянии покоя [1] проявляется значительными нарушениями, а отдельные резонансные пики могут давать информацию о целостности клеточных мембран.

Значительные усилия направлены в сторону уменьшения времени формирования изображений с помощью различных подходов, таких как выделение сигналов жира и воды на T2-картированных изображениях, сформированных либо по одному МР-сканированию, либо с использованием нескольких МР-сканирований. В ближайшем будущем ожидается эффективное уменьшение длительности обследования. Это увеличит привлекательность метода оценки результатов МРТ мышц и будет в дальнейшем содействовать его интеграции в клинические исследовательские испытания.

Основания для использования магнитно-резонансной томографии в качестве метода оценки терапии при нервно-мышечных болезнях

Медицинский подход к нервно-мышечным болезням (НМБ) существенно изменился за последние два

десятилетия. Большинство НМБ, в особенности мышечная патология, имеет генетическое происхождение, подразумевающее отсутствие специфической терапии. Еще вчера лечение НМБ состояло из поддерживающей терапии и паллиативной помощи. Редкая встречаемость

* Публикуется на основании статьи: Carlier P.G., Marty B., Scheidegger O. et al. Skeletal muscle quantitative nuclear magnetic resonance imaging and spectroscopy as an outcome measure for clinical trials. *J Neuromuscul Dis* 2016;3(1):1–28. DOI: 10.3233/JND-160145. PMID: 27854210. С разрешения редакции.

рассматриваемых состояний на долгое время оставило орфанные болезни в стороне от основных направлений исследования фармацевтической промышленности. В настоящее время отношение к редким болезням радикально изменилось, что привело к их включению в основные исследовательские программы, осуществляемые общественными организациями на международном уровне. Важно понимать, что именно прогресс генной терапии и фармакогенетики в ближайшем будущем приведет к существенным изменениям в течении многих НМБ [2–13].

Благодаря разработке инновационных методов лечения за короткий период времени возникла необходимость контроля за изменением состояния мышечной ткани в результате терапевтического вмешательства, что в конечном итоге привело к созданию новых инструментов исследования. В идеале новые методы должны быть неинвазивными, количественными, экономически эффективными и позволять получать воспроизводимые результаты, доступные для интерпретации. Предлагаемые в настоящее время методы условно можно разделить на 3 категории: методы функциональной оценки, методы с использованием биологических маркеров различных жидкостей организма и методы формирования изображений.

Основными являются методы функциональной оценки, для которых разработано большое число измерительных устройств и протоколов, причем многие из них оптимизированы для измерения отдельных движений, тогда как другие направлены на выявление глобальных изменений в активности пациента [14–25]. Методы функциональной оценки относятся к актиметрии, новой быстро развивающейся дисциплине, и часто становятся единственным способом оценки состояния пациента в привычной для него среде через определенные периоды времени.

Методы с использованием нового класса биологических маркеров различных жидкостей организма дают обнадеживающие результаты, особенно после последних данных о возможностях использования мРНК.

Методы формирования изображений все чаще используют для оценки результата проводимой терапии. Любые методы формирования изображений требуют дорогостоящего оборудования, даже ультразвуковые приборы высокого разрешения не являются исключением. К недостаткам таких методов, как компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ), относится отсутствие портативности. Тем не менее МРТ — единственный способ, позволяющий в процессе одного сеанса исследования оценить анатомические особенности, структуру и функцию мышц. Такие функциональные возможности становятся все более понятными и используются с максимальной эффективностью. Это подтверждается требованиями к методам формирования изображений, предъявляемыми такими авторитетными контролирующими органами, как EMA и FDA.

В данной статье авторы попытались представить обзор опубликованных данных по использованию МРТ в качестве критерия оценки состояния мышц в современных условиях и потенциального инструмента для будущих исследований. Вместо обычного перечня основных исследований в обезличенном виде авторы постарались целенаправленно рассмотреть и прокомментировать наиболее информативные статьи, пытаясь создать предварительную базу для методического руководства и облегчить понимание принципов количественной оценки медицинских изображений в ежедневной практике. Авторы оставляют за собой право на субъективное суждение относительно разных частей данного обзора.

Количественные характеристики – необходимое условие использования магнитно-резонансной томографии мышц в качестве биомаркера

Для использования какого-либо показателя в качестве биомаркера необходимо придать ему количественную характеристику и доказать, что его наличие реально отражает специфические патологические изменения, которые могут быть точно измерены [26, 27]. Для того чтобы соответствовать этим требованиям, анализ медицинских изображений прошел длительный процесс эволюции, пока к стандартному качественному описанию патологических изменений не добавились количественные измерения. Это стало возможным благодаря технологическим инновациям, которые привели к созданию новейшего оборудования и разработке специализированных протоколов [28]. Процесс инноваций затронул методы анализа изображений всех систем и органов человека, а также и скелетные мышцы. Преимущества количественной обработки изображений для болезней, связанных с поражением мышц, как и для других заболеваний, многообразны: проще оценивать тяжесть болезни, появляется возможность следить за патологическими изменениями во времени, а также оценивать реакцию мышечной ткани на терапию.

МРТ мышц, так же как и для других органов, стала одним из основных способов количественного анализа изображений скелетных мышц [29]. Количественные переменные и индексы, полученные по данным МРТ и спектроскопии, оказались главными кандидатами на роль биомаркеров или методов измерения в клинических исследованиях, сфокусированных на патологии мышц.

Доступные сегодня методы оценки результатов терапии с помощью магнитно-резонансной томографии мышц

МРТ мышц и магнитно-резонансная (МР) спектроскопия позволяют получить информацию об анатомии, структуре, составе, а также физиологии и биохимии скелетных мышц (рис. 1). На сегодняшний день многие параметры и переменные МРТ, рассматриваемые

	Качественно	Количественно
• Трофика	Нормальная, гипо-, гипер-T1ВИ	→ ППС (см ²) Объем (см ³) (вне фазы в режиме Dixon)
• Хронические дегенеративные изменения		
# мышца с жировым замещением	Ранжирование на I–IV стадии (по T1ВИ)	→ Процент жировой инфильтрации (вода/жир в режиме Dixon)
# фиброз в мышце		→ Процент интерстициального коллагена (UTE режим DEMRI)
• «Активность заболевания»	Режим подавления жировой ткани на T2ВИ (STIR)	→ Измерение T2 (мс) (Множественные TE-изображения без жировой инфильтрации; V1-картирование)

Рис. 1. Характеристика скелетных мышц с помощью МРТ. Сравнение качественных и количественных методов. МРТ – магнитно-резонансная томография; T1ВИ, T2ВИ – взвешенные ядерно-магнитно-резонансные изображения T1, T2; ППС – площадь поперечного сечения; UTE – ультракороткое время появления эхо-сигнала; DEMRI – замедленное контрастное усиление МРТ; TE – время появления эхо-сигнала

мые в качестве потенциальных биомаркеров, продолжают исследовать в тестовом режиме. Только 3 способа оценки с помощью МРТ получили широкое признание в качестве адекватных методов длительного мониторинга состояния мышц. Даже несмотря на недостаточную доказательную базу, их систематически включают в программу новых клинических исследований. Целями МРТ-исследования являются:

- оценка трофики мышц путем измерения их поверхности и объема;
- оценка степени хронических дегенеративных изменений в мышцах посредством определения процентной выраженности сигнала от жировой ткани, инфильтрирующей мышцу;
- оценка активности течения болезни с помощью измерения времени релаксации сигнала от воды в мышечной ткани в режиме T2 в качестве индекса, характерного для прогрессирующих патологий.

Трофика скелетных мышц

Комбинация таких характеристик изображений МРТ, как высокое разрешение, высокий контраст, возможность трехмерного изображения и наличие эффективных алгоритмов коррекции искажений (главным образом, градиента нелинейности), делают МРТ эталоном измерения объема не только органов тела, но и скелетных мышц [30–33]. Точность измерения оценивается редко, поскольку это требует получения образцов аутопсии, однако в случаях, когда это было возможно, полученные результаты были весьма высоки [34]. Кроме того, воспроизводимость результатов и дискриминационную силу оценивали регулярно, и они также были признаны очень высокими

[35–38] и не уступающими данным, полученным при ультразвуковом исследовании [39] или КТ [40] (см. ниже). Следующие примеры иллюстрируют возможности МРТ для выявления едва различимых изменений трофики мышц. После введения ботулинического токсина в икроножную мышцу детям с церебральным параличом отмечено уменьшение объема массы мышцы на 4 % с компенсаторным увеличением объема камбаловидной мышцы на 4 % [41]. Определение объема мышц предплечья проводили повторно с учетом коэффициента вариации от 0,8 до 5,7 % для разных мышц [42]. Оценивали влияние отсутствия нагрузки на мышцы после нескольких недель физических упражнений с сокращением кровотока на фоне концентрических и эксцентрических движений малой интенсивности [43].

В большинстве случаев трофика мышц представляет больший интерес, чем изменение объема мышц. При определении объема мышцы для получения индекса трофики используют нормализацию по длине мышцы (чаще по длине соответствующей кости).

В пораженной мышце в качестве индекса трофики предпочтительно использовать истинную мышечную массу, а не общий мышечный объем. По этой причине индекс сократительной массы рассчитывают по объему мышцы или площади поперечного сечения (ППС) × (1 – жировая фракция), где значение жировой фракции берется из анализа изображений вода/жир (см. ниже) [44].

У пациентов с прогрессирующей мышечной дистрофией (ПМД) Дюшенна исследование индивидуальных объемов мышц, способных сокращаться, показало сложную связь с уменьшением мышечной силы. Выяснилось, что сила мышц пропорционально снижена в четырехглавой мышце

бедр в зависимости от потери мышечной ткани, тогда как предполагалось, что потеря сократительной мышечной ткани в задних мышцах бедра и передней большеберцовой мышце будет более значима [44].

В нормальной мышце или при наличии заболевания с равномерным поражением мышцы ППС измеряется на выбранных уровнях, например на среднем отрезке бедра. Полученные данные отражают соответствующие показатели трофики мышц [45–47], значительно сокращая длительность этапов получения и обработки информации. Подобный подход предполагает тщательный выбор места измерения относительно анатомических ориентиров. Эти ориентиры могут определяться поверхностно, например по верхней подвздошной кости или верхнему краю надколенника, или выбираются во время сканирования, предшествующего измерению [48]. Предпочтение обычно отдается внешним ориентирам из-за возможной путаницы при использовании таблиц сканера при переключении между конфигурациями катушки. Исправление неправильно установленного среза при проведении серии обследований намного проще, когда полностью отсканированы костные структуры. Это позволяет более точно воспроизвести результат при определении ППС по данным сканирования, нежели чем при использовании внешних анатомических ориентиров [48]. В случае, когда шаблон поражения мышцы в результате прогрессирования заболевания обладает определенной спецификой, например прогрессирует от проксимальных отделов к дистальным, или он просто неизвестен, предпочтительно получение изображений всей мышцы или по крайней мере срезов широких участков на наибольшей протяженности мышцы.

При обследовании детей возникают дополнительные методические сложности, связанные с процессом роста, что проявляется при повторных исследованиях. Это затрудняет выбор оптимального среза для анализа. Срез мышцы обычно выбирают с учетом увеличения длины мышцы. Для получения трехмерного изображения это можно сделать в процессе компьютерной обработки. При оценке двухмерных изображений срезов расстояние между срезами должно быть увеличено пропорционально измеренному росту, что часто не делают, так как это требует вмешательства в исследование.

До сих пор на практике тщательную оценку трофики мышцы проводят редко, за исключением отдельных исследований, так как это требует выполнения вручную сегментации изображений каждой отдельной мышцы. Это утомительный и времязатратный процесс. Продолжительные исследования мышечной трофики были проведены лишь для некоторых НМБ. Положительный эффект ферментзаместительной терапии, оцениваемый по изменению объема мышц ног, наблюдался у больных с болезнью Помпе уже через

6 мес лечения [49]. Через 1 год наблюдения ППС икроножной мышцы уменьшалась на 6,5 % у больных миозитом с включениями, в то время как этот показатель не менялся у пациентов с болезнью Шарко–Мари–Тута 1А типа [50]. В небольшой группе испытуемых со спинальной мышечной атрофией при использовании доказанной методики не обнаружено изменений мышечной трофики в нижних конечностях [51].

Предпринимаются попытки разработки программного обеспечения для автоматической сегментации изображений мышц. Немногие из предлагаемых решений позволяют получать надежные результаты. В частности, ни одно решение не увенчалось успехом при анализе пораженных мышц, инфильтрированных жировой тканью. Результаты, полученные с использованием одной из новейших программ автоматической сегментации, все равно приходится контролировать с помощью ручной сегментации [52]. Предложено определять общие параметры мышечной массы на основании интенсивности гистограмм цельных сегментов конечностей [53]. С определенными допущениями появляется преимущество по сравнению с простыми клиническими внешними измерениями, что позволяет игнорировать то, что не все мышцы, как правило, одинаково затронуты болезнью. В мышцах бедра у собак породы золотистый ретривер с мышечной дистрофией (Golden Retriever muscular dystrophy, GRMD) в зависимости от конкретной мышцы обнаружено увеличение трофики мышцы, нормальная трофика или ее уменьшение с возрастом. Трофика оценивалась в зависимости от объема мышц, который был нормализован по отношению к массе тела [54]. Если сосредотачивать внимание на тех мышцах, которые значительно пострадали, но не полностью разрушены, применение этого метода увеличивает возможность обнаружить изменения в течении болезни. В то же время общее измерение менее пораженных мышц с помощью эффекта разбавления уменьшает возможность регистрации происходящих изменений. Наиболее реалистичный подход представляет собой обращение к интерактивным решениям программного обеспечения. При этом участие врача в процессе исследования остается обязательным, например, в случаях необходимости просмотра сегментированных объемов для проверки ошибок. В настоящее время по крайней мере одна реализация такого программного обеспечения, основанного на алгоритме сегментации изображений методом случайного блуждания, находится на стадии разработки [55]. С помощью этого метода врач-рентгенолог должен найти каждую мышцу не на всех, а только на 5–10 снимках. Если границы мышцы в ходе автоматического алгоритма определяются неправильно, врач может сразу исправить в ошибочно выбранной области с помощью курсора. Исследования, проведенные на мышцах

бедр, показали сопоставимые результаты с ручной сегментацией, выраженные в показателях объема мышцы с учетом межоператорской вариабельности, с преимуществом в длительности обработки (не более 10 мин) ограниченного числа срезов. Этот процесс может быть дополнительно ускорен за счет оптимизации программного обеспечения, например улучшения его производительности, а также посредством введения некоторых предварительных параметров контуров мышц и их расположения.

Сложность сегментации изображений мышц и основная причина отказа от автоматического распознавания часто связаны с отсутствием видимых контуров на некоторых участках окружности мышц. Это особенно актуально при получении стандартных последовательностей Т1ВИ или Т2ВИ (взвешенные изображения). Один из способов улучшения данной ситуации заключается в выполнении сегментации изображений, которые обеспечивают больший контраст между мышечной тканью и фасцией. Это получается на изображениях многовекторного эха, сделанных в определенное время, когда сигналы от воды и жира находятся в противоположных фазах (см. ниже). В нашей лаборатории измерения трофики мышц систематически проводятся с использованием данного типа изображений. Попытки дополнительно усилить контрастность фасции и апоневроза до сих пор не увенчались успехом.

Еще одна причина для высококачественной оценки трофики мышц — отсутствие жировых дегенеративных изменений у детей на начальной стадии развития НМБ. Детские неврологи выдвинули гипотезу о том, что относительно незначительное изменение мышечной трофики может быть ранним признаком поражения мышц (Robert Carlier и Susana Quijano-Roy, личное общение). Это предположение нуждается в подтверждении с применением быстрых и удобных в использовании методов сегментации.

Хронические дегенеративные изменения

Хронические повреждения миоцитов, фиброзные продольные изменения волокон приводят к замещению сократительных тканей жировой и/или соединительной тканью. Визуализация фиброза на изображениях МРТ остается сложной проблемой, которая будет обсуждаться далее. Напротив, жировые дегенеративные изменения легко обнаружить и оценить количественно в режиме Т2ВИ или даже в Т1ВИ, чему способствуют различия в резонансных частотах (химический сдвиг) и скоростях релаксации между водой и липидами водородных компонентов (для углубленного ознакомления см. [56, 57]).

Визуальная классификация жировой инфильтрации по Т1ВИ, например по шкале Lamminen–Mercuri [58], приемлема для диагностических целей, но совершенно не подходит для наблюдения за медленно про-

грессирующими хроническими дегенеративными изменениями.

Если предположить, что человеческий глаз позволяет классифицировать нарушения по шкале от 1 до 4, ошибка определения в сторону содержания жировой фракции может составить в среднем около 17,6 %. Даже при самых тяжелых формах дистрофии разрушение мышц не достигает таких темпов в течение года. При поясно-конечностной форме мышечной дистрофии 2I типа было предложено отказаться от классификации Lamminen–Mercuri для оценки прогрессирования процесса [59]. Иногда в качестве решения предлагается выполнить на одном экране сравнение серии всех Т1ВИ, которые были получены в различных точках за период наблюдения. Просмотр изображений таким способом при проведении повторной серии, безусловно, помогает обнаружить изменения, однако результат зависит от наблюдателя. При использовании этого метода невозможно определить порог чувствительности, а также выполнить количественную оценку, необходимую для сравнения клинических случаев или результатов вмешательств. Попытки извлечь пользу из кажущегося простым метода при разделении воды и жировой ткани по порогу, применяемому к обычным Т1ВИ, предпринимались неоднократно [53, 60, 61]. В некоторых исследованиях принимали в расчет возможность совместить жировую ткань и воду в одном и том же вокселе (объемном элементе изображения) и вычислить жировую фракцию с использованием линейного разделения чисто жирового и чисто мышечного сигналов [60]. Последние исследования позволили провести двойное разделение между вокселями жировой и мышечной ткани, что недостаточно для оценки жировой ткани, инфильтрирующей мышцы в случае хронического мышечного заболевания [53, 61]. Все эти подходы, основанные на анализе стандартных Т1ВИ, предполагают наличие идеальных по гомогенности передатчика и приемника, что в реальных условиях не происходит. Это, возможно, является актуальным при использовании систем с напряженностью магнитного поля 0,5 Тл и не распространяется на аппараты с высокой напряженностью магнитного поля (> 3 Тл), а также если прием информации производится с помощью поверхностных катушек. До тех пор, пока технические решения для обеспечения высокой гомогенности полей передатчика и приемника не будут найдены и реализованы и/или не будет проводиться полного исправления недостатков во время постобработки, следует избегать разделения мышц и жировой ткани на основании напряженности магнитного поля. Такой метод разделения кажущейся простотой может вводить в заблуждение, особенно неспециалистов.

Для наблюдения за хроническими мышечными дегенеративными изменениями сегодня отдается предпоч-

тение изучению особенностей последовательностей изображений воды/жира, основанное на методе Dixon [62]. В этом случае используется сдвиг фазы, который постепенно развивается во время появления эхо-векторов для разделения сигналов от воды и жира. Главное преимущество этого метода заключается в том, что разделение между водой и жиром не зависит от гомогенности основного магнитного поля, и, как следствие, могут быть исследованы большие объемы тканей.

В стандартной версии режима Dixon рассматривается только метиленовый ответ от липидов и последовательно получают 2, а лучше 3 изображения с жиром и водой в фазу или противофазу, разделяющие воду и жировые компоненты. Двухточечный (расширенный) режим Dixon позволяет получать удовлетворительные результаты при исследовании ткани печени. Тем не менее для мышц различия компонентов воды и жира могут обнаруживаться между конечностями или внутри сегментов конечностей, причем последний вариант является большей проблемой [29]. При использовании трехточечного метода Dixon этой проблемы почти всегда можно избежать.

Игнорирование других липидных ответов приводит к некоторым неточностям [63]. Этот процесс можно усовершенствовать за счет лучшего моделирования липидного спектра. Как правило, применяется комбинирование 3 или 4 главных откликов, что требует получения 6 эхо-сигналов и последующего тщательного расчета [64]. Этот способ оценки, известный как режим IDEAL (Iterative Decomposition of water and fat with Echo Asymmetry and Least-square estimation, интерактивная декомпозиция сигналов от воды и жира с асимметрией эхо-сигналов и методом оценки наименьших квадратов) и T2*-IDEAL, сегодня является самым прогрессивным способом визуализации воды/жира. Получение многократных откликов подразумевает относительно длительный сбор информации и продолжительное время повторения с необходимостью коррекции T2*. Режим IDEAL более точно измеряет гидратированную фракцию жира и имеет потенциал для выявления различий в липидном спектре, вызванных питанием или болезнью. В скелетных мышцах для этого мало оснований, а если они есть, то обнаружить изменения в стандартных условиях будет крайне сложно.

Если рассматривать относительную интенсивность липидного спектра инфильтрации мышцы как не зависящего от состояния пациента показателя, кажется разумным предположение, что нет необходимости тратить время на получение 6 эхо-сигналов. Для того чтобы получить точную жировую фракцию из стандартного трехточечного измерения, к жировому сигналу должен быть применен линейный поправочный коэффициент. Поправочный коэффициент, определенный для нашей лаборатории, составляет 1,82 [65].

Как и содержание мышечной ткани, количество отображенного жира может варьировать. Содержание

жировой ткани можно определить простым способом: по проценту от фактического МР-сигнала в вокселе или по мышце, изменения в которой можно отнести на счет жира. Поправки к режимам T1 и T2* могут быть применены в зависимости от времени повторений (repetition times, TR) и выбранных TE (echo time, время появления эхо-сигнала). Можно попытаться выразить содержание жира в граммах на единицу мышечной массы или объема. Такие методы разработаны для оценки состояния печени и требуют дополнительных допущений или измерений отложения липидов в тканях [66].

Как уже говорилось выше, соблюдение последовательности — ключевой момент в клинических испытаниях. Простота исполнения также является важным фактором для обеспечения корректного формирования последовательности. Учитывая этот факт, мы, на момент написания данной статьи, рекомендуем применение трехточечного (если возможно, трехмерного) режима Dixon с измерением удельного веса и плотности протонов (например, TR = 10 мс и магнитный угол переворота = 3°) для визуализации вода/жир в пораженных мышцах [29]. Стандартизированный поправочный коэффициент для липидного спектра может применяться или не применяться, и генерируется прямой процент параметрических карт жирового сигнала. Точность измерения может быть потеряна, но в контексте продолжительных исследований (с вмешательством или без него) аккуратность и дискриминационная способность не меняются.

При низком содержании внутримышечного жира нет необходимости применять сложные, рискованные методы [67, 68]. Чувствительность обнаружения липидов можно повысить за счет уменьшения TR в двухмерном режиме Dixon или увеличения магнитного угла переворота в трехмерном режиме Dixon, при этом точность относительной фракции будет сохранена путем применения поправочных коэффициентов для сатурации воды.

Несмотря на то, что разделение вода/жир, основанное на различиях химического сдвига, является передовым методом для оценки жировой инфильтрации в тканях, многие клинические специалисты по-прежнему измеряют моноэкспоненциальный T2-распад мышц [69–73]. При отсутствии мобильных липидов в тканях увеличение сигнала на T2ВИ указывает на наличие воспаления, отека и изменений. Увеличение T2 из-за воспаления или отека редко превышает 5–10 мс. Однако, когда имеются жировые дегенеративные изменения, из-за более длинного T2 липидов по сравнению с водой моноэкспоненциальное приближение T2-распада выражено в основном за счет степени жировой инфильтрации, и общий мышечный сигнал T2ВИ становится в значительной степени мерой содержания жира в тканях [74], что проявляется высокой корреляцией между общим

сигналом T2 и жировой фракцией, рассчитанной по изображениям, полученным в режиме Dixon [65], или липидной фракцией, измеренной с помощью ^1H (протонной) локальной спектроскопии [72].

Основываясь на истинном разделении вода/жир либо предполагая их по общим изменениям в последовательности T2, большое число наблюдений указывает на то, что хронические мышечные дегенеративные изменения можно не только оценить с высокой точностью, но и контролировать течение болезни и ответ на терапию. Это было продемонстрировано на примере отдельных НМБ.

Показано, что у пациентов с ПМД Дюшенна отложение жира в бедре составило 5 % в год, тогда как наличие 50 % жира от общей массы тела является предиктором потери способности к передвижению в следующем году [36]. В небольшой группе из 3 взрослых пациентов с ПМД Беккера скорость жировой инфильтрации на бедре составила 3,7 % в год [75]. У пациентов с ПМД Дюшенна в режиме ручной сегментации мышц и ППС сократительных тканей определяется похожий процент жирового распределения [44]. Сопоставление процентного содержания жировых карт со шкалой Lamminen—Mercuri продемонстрировало систематическое завышение показателей жировых дегенеративных изменений по сравнению с качественными методами [63].

Исследование мышц предплечья у пациентов с ПМД Дюшенна показало большее вовлечение мышц-сгибателей по сравнению с разгибателями и намного более выраженное прогрессирование жировой инфильтрации у пациентов, лишенных возможности передвигаться, по сравнению с теми, кто может ходить [76, 77].

Применение кортикостероидов юношами с ПМД Дюшенна в течение 1 года остановило процесс жировой инфильтрации в мышцах бедра и голени, тогда как без терапии скорость нарастания жировой инфильтрации составила 7 и 3 % соответственно [78]. Тяжесть болезни определялась по степени жировых дегенеративных изменений в течение 18 мес на основании только параметров интенсивности сигнала T1ВИ с демонстрацией различий как между пациентами, так и отдельными мышцами [79]. В соответствии с современными стандартами количественных методов анализа подобный подход получения изображений считается устаревшим и не рекомендован для дальнейших исследований. Тот же самый метод был использован ранее в сочетании с измерениями общего сигнала T2 для описания особенностей вовлечения мышц у 5 пациентов с ПМД Дюшенна [70].

В мультицентровом исследовании пациентов с поясно-конечностной мышечной дистрофией 2I типа в течение 1 года было однозначно установлено превосходство количественной визуализации воды/жира. Выявлены статистические различия содержания жира

от 1 до 4 % в мышцах ног, в то время как оценка по шкале Lamminen—Mercuri не показала никаких отклонений и стандартный функциональный анализ не достиг статистической значимости, за исключением тестов оценки дыхательной функции [59].

Количественная визуализация вода/жир выявила бимодальное распределение жировых дегенеративных изменений в мышцах у пациентов с лице-плече-лопаточной формой дистрофии, а также прогрессирование поражения мышц по восходящему типу (в направлении от дистальных к проксимальным отделам) [80].

У больных окулофарингеальной мышечной дистрофией содержание жира в нижних конечностях увеличилось на 1,5 % за 13 мес, в то время как оно оставалось неизменным в группе контроля с соответствующим возрастным распределением [81]. Стандартная обширная функциональная оценка по шкале MFM (Motor Function Measure) и визуальная классификация не выявили никаких изменений за тот же период наблюдений.

Высокая чувствительность режима Dixon была продемонстрирована у взрослых пациентов с болезнью Помпе, большинство из которых имели более медленное течение болезни по сравнению с больными, страдающими дистрофинопатиями. В мышцах ног у больных с гликогенозом 2-го типа скорость средней годовой жировой инфильтрации достоверно составила менее 1 % [82].

У пациентов с болезнью Шарко—Мари—Тута 1A типа общая жировая фракция в мышцах значительно увеличилась в течение 12 мес наблюдения на уровне икроножной мышцы (1,2 %), но не на уровне бедра (0,2 %), у пациентов с миозитом с включения — на уровне икроножной мышцы (2,6 %) и бедра (3,3 %) [50].

У пациентов с поражениями ротаторных мышц количественная оценка жировых дегенеративных изменений была выше и больше коррелировала со степенью мышечных разрывов, чем с атрофией в пораженных мышцах [83, 84].

У больных боковым амиотрофическим склерозом показатели общих измерений сигнала T2 в ногах значительно увеличились за 4 мес, зарегистрированное прогрессирование жировых дегенеративных изменений коррелировало со снижением максимального произвольного изометрического сокращения при тыльном сгибании стопы [85].

У больных сахарным диабетом 2-го типа отображалось преимущественное распределение жировой ткани внутримышечно, однако общее содержание жира в ногах не изменялось [86].

При исследовании всего тела в режиме Dixon было отмечено повышенное содержание жира в миоцитах у пациентов с гиперкалиемическим периодическим параличом [87].

Изменения в составе скелетных мышц на МРТ-изображениях систематически и последовательно выявлены у пациентов самого преклонного возраста.

Процентное содержание сигнала от жира обычно удваивается (с 2 до 4 %) в период между 2-м и 7-м десятилетиями жизни [88–92]. В большей степени это является истинным увеличением содержания жира в мышцах и мало отражает потерю сократительной ткани с возрастом [90].

Внутримышечное содержание жира в пораженной мышце можно рассматривать как показатель устойчивых повреждений мышц за время жизни пациента, что делает его надежным биомаркером. Хотелось бы использовать увеличение или стабилизацию степени жировой инфильтрации на протяжении определенного периода в качестве количественного показателя прогрессирования болезни или ответа на лечение. При мышечной дистрофии, особенно миопатии Дюшенна у мальчиков, тяжесть болезни может сильно варьировать, что выражается в годовых показателях жирового перерождения в диапазоне от +3 до +15 % [36, 76, 93]. Это серьезно осложняет интерпретацию любого терапевтического вмешательства.

Сложность оценки возникает при рассмотрении пациентов с различной степенью тяжести болезни: если через 1 год после лечения содержание жира увеличивается на 5 %, то следует ли это расценивать как положительный результат у пациента с тяжелым течением болезни, а в случаях более легкого течения болезни насколько этот результат свидетельствует об ухудшении состояния? Ответ на вопрос можно получить только при проведении стандартного плацебо-контролируемого исследования на достаточно большой группе пациентов, однако подобный классический подход не решает проблемы индивидуального уровня наблюдаемых изменений и ставит вопрос перед этическим комитетом в отношении задержки лечения больных со смертельным заболеванием потенциально эффективным препаратом. Можно было бы предложить использовать каждого пациента в качестве контроля и после периода наблюдения определить, имеется ли тенденция в снижении прогрессирования жировой дегенерации после начала терапии. Это позволило бы оценить ответ каждого больного на лечение, но при этом по-прежнему не ре-

шает этической проблемы. Поскольку внутримышечное содержание жира — общее отражение всех повреждений мышц, полученных на протяжении жизни, то само по себе оно является точным индикатором тяжести болезни с учетом возраста испытуемых. В определенном возрасте чем выше будет содержание жира, тем предполагаемая скорость жировой трансформации будет больше.

Несмотря на ограниченное количество данных об изменениях в мышцах предплечья, исследование Genethon DMD по изучению естественного течения ПМД Дюшенна подтверждает сказанное выше [94]. Референсные таблицы могут быть составлены путем объединения всех данных, полученных в разных исследованиях по изучению естественного течения болезни.

В то же время наблюдалась сильная корреляция подлинного содержания жира в мышце с годовым увеличением внутримышечного жира у взрослых пациентов с болезнью Помпе с относительно мягким и одинаковым течением болезни, а также с диффузным распределением жировых дегенеративных изменений в мышцах ног [82].

При значительном жировом замещении соотношение между фракцией жира и скоростью его накопления графически представляет собой плато. Нельзя ожидать действительного увеличения фракции жира на 15 %, когда его содержание достигает 80 %, однако это возможно, если исходное содержание жира составляет 40 %. Для того чтобы избежать сигмоидального соотношения содержания жира к прогрессированию его накопления, необходима нормализация прогрессирования жирового замещения к сохраняющейся фракции сократительной ткани мышцы, т.е. анализ истинной скорости замещения мышечных волокон жиром. В приведенном выше примере увеличение содержания жира на 15 % будет наблюдаться, если объем сократительной ткани составляет 60 % и тяжесть поражения остается постоянной, что будет соответствовать увеличению содержания жира на 5 % при снижении представленности сократительной ткани на 20 %.

Продолжение читайте в следующем номере.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bryant N.D., Li K., Does M.D. et al. Multi-parametric MRI characterization of inflammation in murine skeletal muscle. *NMR Biomed* 2014;27:716–25.
2. Arechavala-Gomez V., Anthony K., Morgan J., Muntoni F. Antisense oligonucleotide-mediated exon skipping for Duchenne muscular dystrophy: Progress and challenges. *Curr Gene Ther* 2012;12:152–60.
3. Blat Y., Blat S. Drug discovery of therapies for duchenne muscular dystrophy. *J Biomol Screen* 2015;10:1189–203. Epub 2015 May 14.
4. Bushby K., Finkel R., Wong B. et al. Ataluren treatment of patients with nonsense mutation dystrophinopathy. *Muscle Nerve* 2014;50:477–87.
5. Buysse G.M., Voit T., Schara U. et al. Efficacy of idebenone on respiratory function in patients with Duchenne muscular dystrophy not using glucocorticoids (DELOS): A double-blind randomised placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 2015;385:1748–57.

6. Cirak S., Arechavala-Gomez V., Guglieri M. et al. Exon skipping and dystrophin restoration in patients with Duchenne muscular dystrophy after systemic phosphorodiamidate morpholino oligomer treatment: An open-label, phase 2, dose-escalation study. *Lancet* 2011;378:595–605.
7. Douglas A.G.L., Wood M.J.A. Splicing therapy for neuromuscular disease. *Mol Cell Neurosci* 2013;56:169–85.
8. Erriquez D., Perini G., Ferlini A. Non-coding RNAs in muscle dystrophies. *Int J Mol Sci* 2013;14:19681–704.
9. Mercuri E., Muntoni F. Muscular dystrophy: New challenges and review of the current clinical trials. *Curr Opin Pediatr* 2013;25:701–7.
10. Muntoni F., Wood M.J.A. Targeting RNA to treat neuromuscular disease. *Nat Rev Drug Discov* 2011;10:621–37.
11. Scotter E.L., Shaw C.E. Neuromuscular disease: New insights and avenues for therapy. *Lancet Neurol* 2013;12:13–5.
12. Touznik A., Lee J.J.A., Yokota T. New developments in exon skipping and splice modulation therapies for neuromuscular diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2014;14:809–19.
13. Voit T., Topaloglu H., Straub V. et al. Safety and efficacy of drisapersen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy (DEMAND II): An exploratory, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet Neurol* 2014;13:987–96.
14. Decostre V., Canal A., Ollivier G. et al. Wrist flexion and extension torques measured by highly sensitive dynamometer in healthy subjects from 5 to 80 years. *BMC Musculoskelet Disord* 2015;16:4. Epub 2015 Jan 31.
15. Hogrel J.-Y., Allenbach Y., Canal A. et al. Four-year longitudinal study of clinical and functional endpoints in sporadic inclusion body myositis: Implications for therapeutic trials. *Neuromuscul Disord* 2014;24:604–10.
16. Lynn S., Aartsma-Rus A., Bushby K. et al. Measuring clinical effectiveness of medicinal products for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2015;25:96–105.
17. Mayhew A., Mazzone E.S., Eagle M. et al. Development of the performance of the upper limb module for Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol* 2013;55:1038–45.
18. Mazzone E., De Sanctis R., Fanelli L. et al. Hammersmith functional motor scale and motor function measure-20 in non ambulant SMA patients. *Neuromuscul Disord* 2014;24:347–52.
19. Mazzone E.S., Vasco G., Palermo C. et al. A critical review of functional assessment tools for upper limbs in Duchenne muscular dystrophy. *Dev Med Child Neurol* 2012;54:879–85.
20. McDonald C.M., Henricson E.K., Abresch R.T. et al. The 6-minute walk test and other clinical endpoints in duchenne muscular dystrophy: Reliability, concurrent validity, and minimal clinically important differences from a multicenter study. *Muscle Nerve* 2013;48:357–68.
21. Pane M., Mazzone E.S., Sormani M.P. et al. 6 Minute walk test in Duchenne MD patients with different mutations: 12 month changes. *PLoS One* 2014;9:e83400.
22. Scott E., Eagle M., Mayhew A. et al. Development of a functional assessment scale for ambulatory boys with Duchenne muscular dystrophy. *Physiother Res Int* 2012;17:101–9.
23. Seferian A.M., Moraux A., Anoussamy M. et al. Upper limb strength and function changes during a one-year follow-up in non-ambulant patients with Duchenne Muscular Dystrophy: An observational multicenter trial. *PLoS One* 2015a;10:e0113999.
24. Seferian A.M., Moraux A., Canal A. et al. Upper limb evaluation and one-year follow up of non-ambulant patients with spinal muscular atrophy: An observational multicenter trial. *PLoS One* 2015b;10:e0121799.
25. Servais L., Deconinck N., Moraux A. et al. Innovative methods to assess upper limb strength and function in non-ambulant Duchenne patients. *Neuromuscul Disord* 2013;23:139–48.
26. Strimbu K., Tavel J.A. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS* 2010;5:463–6.
27. Vasan R.S. Biomarkers of cardiovascular disease: Molecular basis and practical considerations. *Circulation* 2006;113:2335–62.
28. Tofts P.S. Quantitative MRI of the brain: Measuring changes caused by disease. *John Wiley*, 2003.
29. Hollingsworth K.G., de Sousa P.L., Straub V., Carlier P.G. Towards harmonization of protocols for MRI outcome measures in skeletal muscle studies: Consensus recommendations from two TREAT-NMD NMR workshops, 2 May 2010, Stockholm, Sweden, 1–2 October 2009, Paris, France. *Neuromuscul Disord* 2012;22(Suppl 2):S54–67.
30. Hunter D.J., Zhang W., Conaghan P.G. et al. Systematic review of the concurrent and predictive validity of MRI biomarkers in OA. *Osteoarthr Cartil* 2011;19:557–88.
31. Jovicich J., Marizzoni M., Sala-Llonch R. et al. Brain morphometry reproducibility in multi-center 3T MRI studies: A comparison of cross-sectional and longitudinal segmentations. *Neuroimage* 2013;83:472–84.
32. Mills K.L., Tamnes C.K. Methods and considerations for longitudinal structural brain imaging analysis across development. *Dev Cogn Neurosci* 2014;9:172–90.
33. Xi W., Perdanasari A.T., Ong Y. et al. Objective breast volume, shape and surface area assessment: a systematic review of breast measurement methods. *Aesthetic Plast Surg* 2014;38:1116–30.
34. Mitsiopoulos N., Baumgartner R.N., Heymsfield S.B. et al. Cadaver validation of skeletal muscle measurement by magnetic resonance imaging and computerized tomography. *J Appl Physiol* 1998;85:115–22.
35. Barnouin Y., Butler-Browne G., Voit T. et al. Manual segmentation of individual muscles of the quadriceps femoris using MRI: A reappraisal. *J Magn Reson Imaging* 2014;40:239–47.
36. Fischmann A., Hafner P., Gloor M. et al. Quantitative MRI and loss of free ambulation in Duchenne muscular dystrophy. *J Neurol* 2013;260:969–74.
37. Thomas M.S., Newman D., Leinhard O.D. et al. Test-retest reliability of automated whole body and compartmental muscle volume measurements on a wide bore 3T MR system. *Eur Radiol* 2014;24:2279–91.
38. Wagner K.R., Fleckenstein J.L., Amato A.A. et al. A phase I/II trial of MYO-029 in adult subjects with muscular dystrophy. *Ann Neurol* 2008;63:561–71.
39. e Lima K.M.M., da Matta T.T., de Oliveira L.F. Reliability of the rectus femoris muscle cross-sectional area measurements by ultrasonography. *Clin Physiol Funct Imaging* 2012;32:221–6.
40. Strandberg S., Wretling M.-L., Wredmark T., Shalabi A. Reliability of computed tomography measurements in assessment of thigh muscle cross-sectional area and attenuation. *BMC Med Imaging* 2010;10:18.
41. Williams S.A., Reid S., Elliott C. et al. Muscle volume alterations in spastic muscles immediately following botulinum toxin type-A treatment in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 2013;55:813–20.
42. Smeulders M.J.C., van den Berg S., Oudeman J. et al. Reliability of *in vivo* determination of forearm muscle volume using 3.0 T magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging* 2010;31:1252–5.
43. Yasuda T., Loenneke J.P., Thiebaud R.S., Abe T. Effects of detraining after blood flow-restricted low-intensity concentric or eccentric training on muscle size and strength. *J Physiol Sci* 2015;65:139–44.
44. Wokke B.H., van den Bergen J.C., Versluis M.J. et al. Quantitative MRI and strength measurements in the assessment of muscle quality in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2014b;24:409–16.
45. Hogrel J.-Y., Barnouin Y., Azzabou N. et al. NMR imaging estimates of muscle volume and intramuscular fat infiltration in the thigh: Variations with muscle, gender, and age. *Age* 2015;37(3):9798.
46. Morse C.I., Degens H., Jones D.A. The validity of estimating quadriceps volume from single MRI cross-sections in young men. *Eur J Appl Physiol* 2007;100:267–74.
47. Tanaka N.I., Kanehisa H. Applicability of single muscle CSA for predicting segmental muscle volume in young men. *Int J Sports Med* 2014;35:608–14.

48. Fischmann A., Morrow J.M., Sinclair C.D.J. et al. Improved anatomical reproducibility in quantitative lower-limb muscle MRI. *J Magn Reson Imaging* 2014;39:1033–8.
49. Ravaglia S., Pichiecchio A., Ponzio M. et al. Changes in skeletal muscle qualities during enzyme replacement therapy in late-onset type II glycogenosis: Temporal and spatial pattern of mass vs. strength response. *J Inherit Metab Dis* 2010;33:737–45.
50. Morrow J.M., Sinclair C.D.J., Fischmann A. et al. MRI biomarker assessment of neuromuscular disease progression: A prospective observational cohort study. *Lancet Neurol* 2015;44:22:1–13.
51. Sproule D.M., Montgomery M.J., Punyanitya M. et al. Thigh muscle volume measured by magnetic resonance imaging is stable over a 6-month interval in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol* 2011;26:1252–9.
52. Karlsson A., Rosander J., Romu T. et al. Automatic and quantitative assessment of regional muscle volume by multi-atlas segmentation using whole-body water-fat MRI. *J Magn Reson Imaging* 2015;41:1558–69.
53. Mattei J.P., Le Fur Y., Cuge N. et al. Segmentation of fascias, fat and muscle from magnetic resonance images in humans: The DISPIMAG software. *Magn Reson Mater Phys Biol Med* 2006;19:275–9.
54. Kornegay J.N., Bogan J.R., Bogan D.J. et al. Canine models of Duchenne muscular dystrophy and their use in therapeutic strategies. *Mamm Genome* 2012;23:85–108.
55. Carlier P.G., Shukelovich A., Baudin P.Y. et al. Fast, precise, interactive segmentation of skeletal muscle NMR images. *Neuromuscul Disord* 2014;24:836–37.
56. Bley T.A., Wieben O., Francois C.J. et al. Fat and water magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging* 2010;31:4–18.
57. Hu H.H., Kan H.E. Quantitative proton MR techniques for measuring fat. *NMR Biomed* 2013;26:1609–29.
58. Lamminen A.E. Magnetic resonance imaging of primary skeletal muscle diseases: Patterns of distribution and severity of involvement. *Br J Radiol* 1990;63:946–50.
59. Willis T.A., Hollingsworth K.G., Coombs A. et al. Quantitative muscle MRI as an assessment tool for monitoring disease progression in LGMD2I: a multicentre longitudinal study. *PLoS One* 2013;8:e70993.
60. Leroy-Willig A., Willig T.N., Henry-Feugas M.C. et al. Body composition determined with MR in patients with Duchenne muscular dystrophy, spinal muscular atrophy, and normal subjects. *Magn Reson Imaging* 1997;15:737–44.
61. Pichiecchio A., Uggetti C., Egitto M.G. et al. Quantitative MR evaluation of body composition in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Eur Radiol* 2002;12:2704–9.
62. Ma J. Dixon techniques for water and fat imaging. *J Magn Reson Imaging* 2008;28:543–58.
63. Wokke B.H., Bos C., Reijnierse M. et al. Comparison of dixon and T1-weighted MR methods to assess the degree of fat infiltration in duchenne muscular dystrophy patients. *J Magn Reson Imaging* 2013;38:619–24.
64. Hu H.H., Börner P., Hernando D. et al. ISMRM workshop on fat-water separation: Insights, applications and progress in MRI. *Magn Reson Med*. 2012;68:378–88.
65. Azzabou N., Loureiro de Sousa P., Caldas E., Carlier P.G. Validation of a generic approach to muscle water T2 determination at 3T in fat-infiltrated skeletal muscle. *J Magn Reson Imaging* 2015b;41:645–53.
66. Longo R., Pollesello P., Ricci C. et al. Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis. *J Magn Reson Imaging* 1995;5:281–5.
67. Azzabou N., Carlier P.G. Fat quantification and T2 measurement. *Pediatr Radiol* 2014;44:1620–1.
68. Kim H.K., Serai S., Merrow A.C. et al. Objective measurement of minimal fat in normal skeletal muscles of healthy children using T2 relaxation time mapping (T2 maps) and MR spectroscopy. *Pediatr Radiol* 2014;44:149–57.
69. Forbes S.C., Willcocks R.J., Triplett W.T. et al. Magnetic resonance imaging and spectroscopy assessment of lower extremity skeletal muscles in boys with Duchenne muscular dystrophy: a multicenter cross sectional study. *PLoS One* 2014;9:e106435.
70. Garrood P., Hollingsworth K.G., Eagle M. et al. MR imaging in Duchenne muscular dystrophy: quantification of T1-weighted signal, contrast uptake, and the effects of exercise. *J Magn Reson Imaging* 2009;30:1130–8.
71. Kim H.K., Laor T., Horn P.S. et al. T2 mapping in Duchenne muscular dystrophy: Distribution of disease activity and correlation with clinical assessments. *Radiology* 2010;255:899–908.
72. Kim H.K., Serai S., Lindquist D. et al. Quantitative Skeletal Muscle MRI: Part 2, MR Spectroscopy and T2 Relaxation Time Mapping—Comparison Between Boys With Duchenne Muscular Dystrophy and Healthy Boys. *Amer J Roentgenol* 2015;205:216–23.
73. Willcocks R.J., Arpan I.A., Forbes S.C. et al. Longitudinal measurements of MRI-T2 in boys with Duchenne muscular dystrophy: effects of age and disease progression. *Neuromuscul Disord* 2014;24:393–401.
74. Carlier P.G. Global T2 versus water T2 in NMR imaging of fatty infiltrated muscles: different methodology, different information and different implications. *Neuromuscul Disord* 2014;24:390–2.
75. Bonati U., Schmid M., Hafner P. et al. Longitudinal 2-point dixon muscle magnetic resonance imaging in becker muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2015b;51:918–21.
76. Hogrel J.Y., Wary C., Moraux A. et al. Longitudinal functional and NMR assessment of upper limbs in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 2016: epub ahead of print.
77. Wary C., Azzabou N., Giraudeau C. et al. Quantitative NMRI and NMRS identify augmented disease progression after loss of ambulation in forearms of boys with Duchenne muscular dystrophy. *NMR Biomed* 2015b;28:1150–62.
78. Arpan I., Willcocks R.J., Forbes S.C. et al. Examination of effects of corticosteroids on skeletal muscles of boys with DMD using MRI and MRS. *Neurology* 2014;83:974–80.
79. Hollingsworth K.G., Garrood P., Eagle M. et al. Magnetic resonance imaging in Duchenne muscular dystrophy: Longitudinal assessment of natural history over 18 months. *Muscle Nerve* 2013a;48:586–8.
80. Janssen B.H., Voet N.B.M., Nabuurs C.I. et al. Distinct disease phases in muscles of facioscapulohumera dystrophy patients identified by MR detected fat Infiltration. *PLoS One* 2014;9:e85416.
81. Fischmann A., Hafner P., Fasler S. et al. Quantitative MRI can detect subclinical disease progression in muscular dystrophy. *J Neurol* 2012;259:1648–54.
82. Carlier P.G., Azzabou N., de Sousa P.L. et al. Skeletal muscle quantitative nuclear magnetic resonance imaging follow-up of adult Pompe patients. *J Inherit Metab Dis* 2015;38:565–72.
83. Nardo L., Karampinos D.C., Lansdown D.A. et al. Quantitative assessment of fat infiltration in the rotator cuff muscles using water-fat MRI. *J Magn Reson Imaging* 2014;39:1178–85.
84. Nozaki T., Tasaki A., Horiuchi S. et al. Quantification of fatty degeneration within the supraspinatus muscle by using a 2-point dixon method on 3-T MRI. *Amer J Roentgenol* 2015;205:116–22.
85. Bryan W.W., Reisch J.S., McDonald G. et al. Magnetic resonance imaging of muscle in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology* 1998;51:110–3.
86. Karampinos D.C., Baum T., Nardo L. et al. Characterization of the regional distribution of skeletal muscle adipose tissue in type 2 diabetes using chemical shift-based water/fat separation. *J Magn Reson Imaging* 2012;35:899–907.
87. Lee Y.H., Lee H.S., Lee H.E. et al. Whole-body muscle MRI in patients with hyperkalemic periodic paralysis carrying the SCN4A mutation T704M: evidence for chronic progressive myopathy with selective muscle involvement. *J Clin Neurol* 2015;11:331–8.
88. Alizai H., Nardo L., Karampinos D.C. et al. Comparison of clinical semi-quantitative assessment of muscle fat infiltration with quantitative assessment using chemical shift-based water/fat separation in MR studies of the calf of post-menopausal women. *Eur Radiol* 2012;22:1592–600.

89. Azzabou N., Hogrel J.-Y., Carlier P.G. NMR based biomarkers to study age-related changes in the human quadriceps. *Exp Gerontol* 2015a;70:54–60.
90. Csapo R., Malis V., Sinha U. et al. Age-associated differences in triceps surae muscle composition and strength – an MRI-based cross-sectional comparison of contractile, adipose and connective tissue. *BMC Musculoskelet Disord* 2014;15:209. Epub 2014 Jun 17.
91. Morrow J.M., Sinclair C.D.J., Fischmann A. et al. Reproducibility, and age, body-weight and gender dependency of candidate skeletal muscle MRI outcome measures in healthy volunteers. *Eur Radiol* 2014;24:1610–20.
92. Schwenzer N.F., Martirosian P., Machann J. et al. Aging effects on human calf muscle properties assessed by MRI at 3 Tesla. *J Magn Reson Imaging* 2009a;29:1346–54.
93. Bonati U., Hafner P., Schädelin S. et al. Quantitative muscle MRI: A powerful surrogate outcome measure in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2015a;25:679–85.
94. Wary C., Azzabou N., Giraudeau C. et al. Quantitative NMRI and NMRS identify augmented disease progression after loss of ambulation in forearms of boys with Duchenne muscular dystrophy. *NMR Biomed* 2015a;28:1150–62.