

МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНЫЙ ПАТТЕРН ИЗМЕНЕНИЙ МЫШЦ ТАЗОВОГО ПОЯСА И НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ У ПАЦИЕНТОВ С ПОЯСНО-КОНЕЧНОСТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ДИСТРОФИЕЙ R1/2A

Царгуш В.А.¹, Бардаков С.Н.¹, Багненко С.С.¹, Железняк И.С.¹, Умаханова З.Р.²,
Емельянцев А.А.¹, Штенцель Р.Э.³, Деев Р.В.^{4,5}, Исаев А.А.⁵

1 – Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Министерства обороны РФ. г. Санкт-Петербург, Россия.

2 – Дагестанский государственный медицинский университет Минздрава России. г. Махачкала, Россия.

3 – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России. г. Санкт-Петербург, Россия.

4 – Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова. г. Санкт-Петербург, Россия.

5 – Институт стволовых клеток человека. г. Москва, Россия.

Цель исследования. Определить МРТ-паттерны жировой инфильтрации мышц тазового пояса и нижних конечностей у пациентов с поясно-конечностной мышечной дистрофией тип R1.

Материалы и методы. Обследовано 34 человека, включая 14 пациентов с фенотипом поясно-конечностной мышечной дистрофией тип R1 (ПКМДР1). Контрольную группу составили 20 здоровых добровольцев. Проведены: генеалогический анализ, неврологическое обследование и лабораторно-инструментальные методы диагностики. Молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК проведено с помощью полноэкзомного секвенирования (NGS) на платформе IlluminaHiSeq 2000 с последующим подтверждением результатов секвенированием по Сэнгеру. Сканирование пациентов осуществляли на высокопольном (1,5 Тл) томографе (PHILIPS INGENIA) с применением поверхностной катушки. Степень жировой инфильтрации мышц определяли количественно на основе сравнения показателя относительной интенсивности сигнала – D ($D = T1 \text{ мышцы} / T1 \text{ подкожно-жирового слоя}$) и полуколичественно, используя шкалу E. Mercuri (2008).

Результаты. Выявлено преобладание величин D, T1-ВИ у пациентов с ПКМДР1 в задней и медиальной группах мышц бедер, *caput mediale m. gastrocnemii* и *m. soleus* среди мышц голени. В ходе полуколичественного анализа выявлен МРТ-паттерн, сходный с результатами, полученными с помощью относительных характеристик D, T1.

Обсуждение. Выделение «раннего», «типичного» и «позднего» МРТ-паттернов кальпаинопатии позволяет характеризовать стадийную модификацию распределения жирового замещения мышц в ходе прогрессирования ПКМДР1. Количественный метод (D, T1) не может быть эффективно применен для оценки динамических изменений в мышцах на ранних и поздних стадиях ПКМДР1 ввиду отсутствия значимой дискриминации 0–1–2а стадий по E. Mercuri и корреляции с изменениями на поздних стадиях заболевания.

Заключение. Полуколичественный анализ МР-характеристик жировой инфильтрации и трофических изменений мышц при кальпаинопатии позволил выделить «типичный» усредненный МРТ-паттерн преимущественного вовлечения задней и медиальной групп мышц бедер, *caput mediale m. gastrocnemii* и *m. soleus* среди мышц голени, с минимальными проявлениями отеков в непораженных мышцах.

Ключевые слова: ПКМДР1/2A, кальпаинопатии, МРТ-паттерн, мышечные дистрофии, CAPN3.

Контактный автор: Царгуш В.А., E-mail: tsargushvmf@mail.ru

Для цитирования: Царгуш В.А., Бардаков С.Н., Багненко С.С., Железняк И.С., Умаханова З.Р., Емельянцев А.А., Штенцель Р.Э., Деев Р.В., Исаев А.А. Д. Магнитно-резонансный паттерн изменений мышц тазового пояса и нижних конечностей у пациентов с поясно-конечностной мышечной дистрофией R1/2A. REJR 2021; 11(4):60-74. DOI: 10.21569/2222-7415-2021-11-4-60-74.

MRI-PATTERN CHANGES IN PELVIC MUSCLE AND LOWER EXTREMITIES IN PATIENTS WITH LIMB-GIRDLE MUSCULAR DYSTROPHY R1/2A

Tsargush V.A.¹, Bardakov S.N.¹, Bagnenko S.S.¹, Zheleznyak I.S.¹, Umakhanova Z.R.², Emelyantsev A.A.¹, Shtencel R.E.³, Deev R.V.^{4,5}, Isaev A.A.⁵

1 – Military Medical Academy. Saint Petersburg, Russia.

2 – Dagestan State Medical University, of the Ministry of Health of Russia. Makhachkala, Russia.

3 – Almazov National Medical Research Centre. Saint Petersburg, Russia.

4 – North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov. Saint-Petersburg, Russia.

5 – Institute of Human Stem Cells (HSCI). Moscow, Russia.

Purpose. To determine the MRI patterns of fatty muscle infiltration of the pelvic girdle and lower limbs in patients with limb-girdle muscular dystrophy type R1.

Materials and methods. 34 people were examined, including 14 patients with clinical manifestations of limb-girdle muscular dystrophy type R1 (LGMDR1). The control group consisted of 20 healthy volunteers. Clinical and genealogical analysis, neurological examination and laboratory-instrumental diagnostic methods were conducted. Molecular genetic studies of DNA samples were performed by full-exomic sequencing (NGS) on the IlluminaHiSeq 2000 platform, followed by confirmation of the results by Sanger sequencing. The MRI exams were performed with a high-field (1.5 T) tomograph (PHILIPS INGENIA) and a surface coil. The degree of muscle fatty infiltration was determined quantitatively based on a comparison of the relative signal intensity indicator D ($D = T1 \text{ muscle} / T1 \text{ subcutaneous fat layer}$) and semi-quantitatively by the E. Mercuri scale (2008).

Results. A significant predominance of the D and T1 values were present in patients with LGMDR1 in the posterior and medial groups of the thigh muscles, in the medial head of the calf and soleus muscle of the legs. In a semi-quantitative analysis using a gradation of fatty infiltration, an MR pattern was revealed. It is similar to the results obtained using the relative characteristics of D, T1. The characteristics of the “early”, “typical”, “late” and atypical “collagen-like” MR patterns are formulated.

Discussion. Formation of “early”, “typical” and “late” MRI patterns of calpainopathy allows characterizing the staged modification of the distribution of fatty substitution of muscles during the progression of LGMDR1. The quantitative method (D, T1) cannot be effectively applied to assess dynamic changes in muscles in the early and late stages of LGMDR1 due to the absence of significant discrimination of stages 0–1–2a according to E. Mercuri and correlation with changes in the later stages of the disease.

Conclusion. A semi-quantitative analysis of the MR characteristics of fatty infiltration and trophic muscle changes during calpainopathies allowed us to identify a typical averaged pattern of predominant involvement of posterior and medial groups of thigh muscles, caput mediale m. gastrocnemii and solei with minimal manifestations of edema in the unaffected muscles.

Keywords: LGMDR1 / 2A, calpainopathy, MRI pattern, muscular dystrophy, CAPN3.

Corresponding author: Tsargush V.A., e-mail: tsargushvmf@mail.ru.

For citation: Tsargush V.A., Bardakov S.N., Bagnenko S.S., Zheleznyak I.S., Umakhanova Z.R., Emelyantsev A.A., Shtencel R.E., Deev R.V., Isaev A.A. MRI-pattern changes in pelvic muscle and lower extremities in patients with limb-girdle muscular dystrophy R1/2A. REJR 2021; 11(4):60-74. DOI: 10.21569/2222-7415-2021-11-4-60-74.

Received: 05.03.20

Accepted: 23.09.21

Поясно-конечностная мышечная дистрофия R1/2A (ПКМДR1/ПКМД2A; OMIM# 253600) – это наиболее распространенная форма прогрессирующих мышечных дистрофий (15-40% ПКМД), обусловленная мутациями в гене CAPN3 (15q15.1-q21.1), кодирующем кальций-зависимую цистеиновую протеазу – кальпаин-3 [1 - 3]. Белок кальпаин-3 экспрессируется преимущественно в скелетных мышцах, где он локализован в ядре и/или в цитоплазме [4]. Отсутствие кальпаина-3 или его недостаточная активность приводят к нарушению процессов селективного протеолиза (протеинкиназ А, С, родопсина, актина, миозина, тропомиозина т.д.), что обуславливает недостаточное обновление и ремоделирование цитоскелета и сигнальных белков [5]. Ключевым аспектом патогенеза кальпаинопатии является нарушение гомеостаза Ca²⁺, что приводит к недостаточности функционирования митохондрий, оксидативному стрессу, активации механизмов апоптоза мышечных волокон и снижению активности репаративных процессов [6].

Для ПКМД R1 характерен аутосомно-рецессивный тип наследования, в тоже время описаны более редкие случаи аутосомно-доминантного типа наследования [7, 8].

Кальпаинопатии манифестируют в широком возрастном диапазоне от 2 до 50 лет и приводят к утрате амбулаторного статуса через 15-25 лет [9]. Для кальпаинопатии характерна фенотипическая гетерогенность, представленная наиболее частой и более тяжелой «тазобедренной формой» Лейдена-Мебиуса (первичное вовлечение разгибателей и аддукторов бедра), менее распространенной «лопаточно-плечевой» формой Эрба и бессимптомной гиперкреатинкиназемией [7, 10, 11]. Кроме того, выделяют идиопатический эозинофильный миозит, развивающийся в первой декаде жизни пациентов, который является начальным проявлением кальпаинопатии [12, 13].

Паттерн распределения жировой инфильтрации среди мышц бедер и голеней, оцениваемый посредством магнитно-резонансной томографии (МРТ), имеет ряд особенностей при ПКМД R1. Наблюдается преимущественное поражение *m. adductor longus*, *m. semimbranosus*, *m. adductor magnus*, *caput longum m. biceps femoris*, *caput medialis m. gastrocnemii*, *m. biceps brachii*; при относительной сохранности *m. extensor digitorum longus*, *m. sartorius*, *m. gracilis*. Для ПКМД R1 не характерно поражение мимических, экстраокулярных мышц,

мышц языка и шеи [14 - 16].

Манифестация в детском возрасте, фенотипическая гетерогенность, наличие рецессивных и доминантных форм наследования, постоянное дополнение имеющегося спектра новыми мутациями в гене CAPN3 определяет несомненную актуальность продолжения исследования МРТ-паттерна поражения мышц при кальпаинопатии в различных популяциях. В данной статье представлены МРТ-особенности жировой инфильтрации мышц таза и нижних конечностей у пациентов в российской популяции, включающей ранее не описанные мутации.

Цель исследования.

Определить МРТ-паттерны жировой инфильтрации мышц тазового пояса и нижних конечностей у пациентов с ПКМДR1 в российской популяции.

Материалы и методы.

Обследовано 34 человека, включая 14 пациентов с клиническими проявлениями ПКМДR1, среди которых 2 мужчин – 14,3% (11; 42) и 12 женщин – 85,7% (57; 98). Возраст пациентов на момент обследования составлял (Me) 39,5 (31; 42) лет. Контрольную группу составили 20 здоровых добровольцев: 11 мужчин – 55% (31; 76) и 9 женщин – 45% (23; 68), средний возраст которых составил (Me) 31 (21; 40) год.

Обследование пациентов включало клиничко-генеалогический анализ, неврологическое обследование и лабораторно-инструментальные методы диагностики (уровень активности сывороточной КФК, АДГ, ЭНМГ/ЭМГ, ЭКГ). Молекулярно-генетическое исследование образцов ДНК проведено с помощью полноэкзомного секвенирования (NGS) на платформе IlluminaHiSeq 2000 с последующим подтверждением результатов секвенированием по Сэнгеру.

Магнитно-резонансную томографию мышц тазового пояса и нижних конечностей осуществляли на высокопольном (1,5 Тл) томографе (PHILIPS INGENIA) с применением поверхностной катушки. В протокол вошли T1, T2, STIR импульсные последовательности в трех стандартных взаимно перпендикулярных плоскостях, толщина среза – 10 мм, количество срезов – 30/50 (в зависимости от роста пациента). Сканирование выполнялось от передней, верхней ости подвздошной кости до нижней трети голеней. T1-взвешенные изображения в аксиальной и корональной плоскостях: TR – 600 мс, TE – 10 мс. T2-взвешенные изображения в аксиальной плоскости: TR – 500 мс, TE – 80 мс. STIR – взвешенные изображения в аксиальной и

сагиттальной плоскостях: TR – 4000 мс, TE – 70 мс. Степень жировой инфильтрации мышц определяли количественно на основе сравнения показателя относительной интенсивности сигнала – D ($D = T1 \text{ мышцы} / T1 \text{ подкожно-жирового слоя}$) и полуколичественно, используя шкалу E. Mercuri [17]. Сегментация мышц бедер и голеней выполнялась с помощью программного обеспечения ITK-SNAP 3.8.0 [18] в ручном режиме с двух сторон. Для каждой сегментируемой мышцы определялось среднее значение интенсивности МР-сигнала на T1-ВИ и STIR, а также отдельно от подкожной жировой клетчатки. С каждой стороны сегментировали по 10 мышц на уровне голеней и по 19 мышц на уровне таза и бедер. В область выделения входила только исследуемая мышца без фасций, костей и подкожного жира. Таким образом, в общей сложности было проанализировано 1972 мышцы на уровне таза бедер и голеней.

Все исследования проводились после подписания пациентами добровольного информированного согласия.

Количественные результаты исследования представлены в виде среднего значения (M) или медианы (Me) с 95% доверительным интервалом (рассчитанный метод бутстрэпа или Клоппера-Пирсона) в соответствии с нормальностью распределения. Статистическая значимость различий оценивалась с помощью знаково-рангового критерия Манна-Уитни. Характер поражения мышц справа и слева статистически значимо не отличался, поэтому сравнение с контрольной группой проводилось при объединении показателей от мышц обеих сторон.

Результаты.

Особенностью выборки является преобладание женщин – 12/14 пациентов 85,7% (57; 98). Возраст дебюта ПКМДР1 приходился на подростковый период и составил 14,8 (13; 16) лет. В период, предшествующий развитию клинически очевидной мышечной слабости, для большинства пациентов были характерны затруднения при беге, прыжках и не возможность подтягиваться на перекладине. Для большинства пациентов заболевание манифестировало с первичного вовлечения мышц тазового пояса и бедер в виде слабости при подъеме по лестнице и вставании из положения сидя, что характерно для «тазобедренного фенотипа» Лейдена-Мебиуса. В 6/14 случаев 43% (18; 71) параллельно или с незначительным опережением развивались симметричные контрактуры ахилловых сухожилий, за исключением одного случая с асимметричным вовлечением.

Наличие гипертрофии m. gastrocnemii, преимущественно за счет caput laterale m. gastrocnemii, было выявлено в 10/14 случаев – 71% (41; 92), при этом следует отметить, что грубые контрактуры (до 12-15°) с невозможностью полной постановки стопы на пятку не сопровождались гипертрофией m. gastrocnemii. В 6/14 случаев (43%) в течение 2-5 лет у пациентов отмечалось вовлечение пояса верхних конечностей, сопровождающееся формированием «крыловидных лопаток». «Лопаточно-плечевой фенотип» среди обследуемых пациентов не выявлен. На момент обследования пациентов длительность заболевания составила (Me) 22 (19; 25) года. Функциональный статус пациентов соответствовал при этом 3 классу по шкале Виньоса (от 1 до 8 класса). Четверо пациентов – 28,6% (8; 54) – использовали с 35-40 лет инвалидные кресла. Для большинства больных характерен проксимальный периферический парез, более выраженный в мышцах тазового пояса и нижних конечностей.

Молекулярно-генетическое исследование.

У всех исследуемых пациентов выявлены мутации в гене CAPN3 в гомозиготном и компаунд-гетерозиготном состоянии (табл. №1). Большинство из пациентов были спорадическими. У исследуемых пациентов преобладали аллели, содержащие null-мутации – 57,1% (37,2; 75,5). Наиболее часто выявляемой мутацией в гене CAPN3 была с.550del; (p.Th184ArgfsTer36) в 4 экзоне в гомозиготном состоянии, являющаяся мажорной для РФ.

Количественная оценка жировой инфильтрации мышц таза и нижних конечностей. В ходе сравнения выраженности жировой инфильтрации мышц пациентов с ПКМДР1 и контрольной группой выявлено статистически значимое преобладание величин D, T1-ВИ у пациентов с ПКМДР1 в большинстве мышц таза и бедер за исключением m. vastus medialis, m. vastus lateralis, m. vastus intermedius, m. rectus femoris, caput breve musculi bicipitis femoris и m. sartorius. Наибольшая степень жировой инфильтрации выявлена в caput longum m. bicipitis femoris, m. semimembranosus, m. semitendinosus и m. adductor longus.

Величины D, T1-ВИ статистически значимо не различались между контрольной группой и пациентами с ПКМДР1 среди мышц задней глубокой группы голени (m. flexor digitorum longus, m. flexor hallucis longus, m. popliteus, m. tibialis posterior). Наиболее выраженное жировое замещение было характерно для медиальных отделов

Таблица №1. Выявленные мутации в гене кальпаина (CAPN3).		
Количество пациентов, n = 14	Выявленные мутации в гене CAPN3	
	6	c.550del; (p.Th184ArgfsTer36)
1	c.550del; (p.Th184ArgfsTer36)	c.717dupT; (p/Glu240fs)
1	c.2134C>T; (p.Leu712Phe)	c.2134C>T; (p.Leu712Phe)
2	c.550del; (p.Th184ArgfsTer36)	c.801+1G>A
1	c.550delA; (p.T184RfsX36)	c.1250C>T; (p.Tr417Met)
1	c.649G>A; (p.Glu217Lys)	c.1746-20C>G
2	c.632+1G>A	c.2177C>T; (p.Ala726Val)

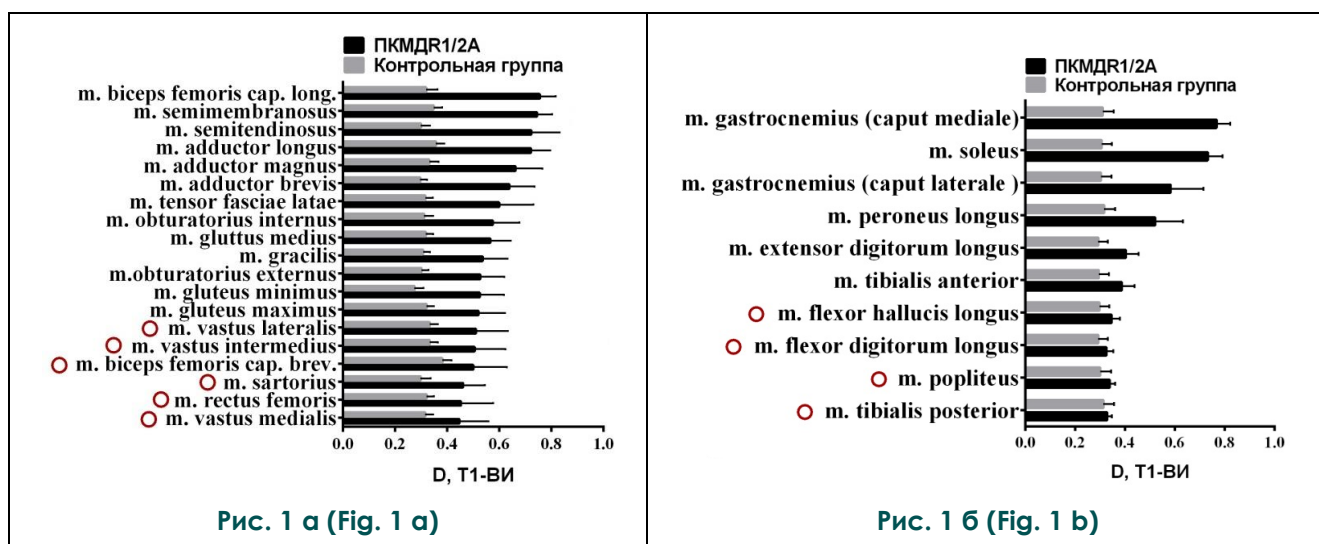


Рис. 1. Диаграммы.
 Паттерн распределения жировой инфильтрации мышц тазового пояса, бедер (а) и голени (б) у пациентов с ПКМДР1/2А. Черным цветом отмечены D, T1-ВИ мышц пациентов с ПКМДР1/2А; серым – контрольной группы; полая окружность – статистически не значимые различия.

Fig. 1. Diagrams.
 The pattern of distribution of fatty infiltration of the muscles of the pelvic girdle hips (a) and lower legs (b) in patients with LGMDR1 / 2A. D, T1-VI of muscles of patients with LGMDR1 / 2A are marked in black; gray – control group; a hollow circle is a statistically non-significant difference.

поверхностной задней группы мышц голени (caput mediale m. gastrocnemii и m. soleus), чуть в меньшей степени для caput laterale m. gastrocnemii и m. peroneus longus (рис. 1. а, б).

Полуколичественная оценка выраженности жировой инфильтрации мышц. В ходе полуколичественного анализа с использованием градации жировой инфильтрации по E. Mercuri (2008) выявлен МРТ-паттерн поражения мышц бедер, сходный с результатами, полученными с помощью относительных ха-

рактеристик D, T1. По степени выраженности жировой инфильтрации выделены мышцы с «выраженным поражением» (Ме 3–4 ст., на рис. 2 а), включающие m. glutei за исключением m. gluteus maximus, медиальную и заднюю группу мышц бедра за исключением caput breve musculi bicipitis femoris. «Умеренное поражение» (Ме 2а – 2б ст.), характерное для всех оставшихся мышц бедра, также включая m. gluteus maximus, при этом «легкому поражению» соответствовал только m. rectus femoris (Ме 1 ст.). Минимальной

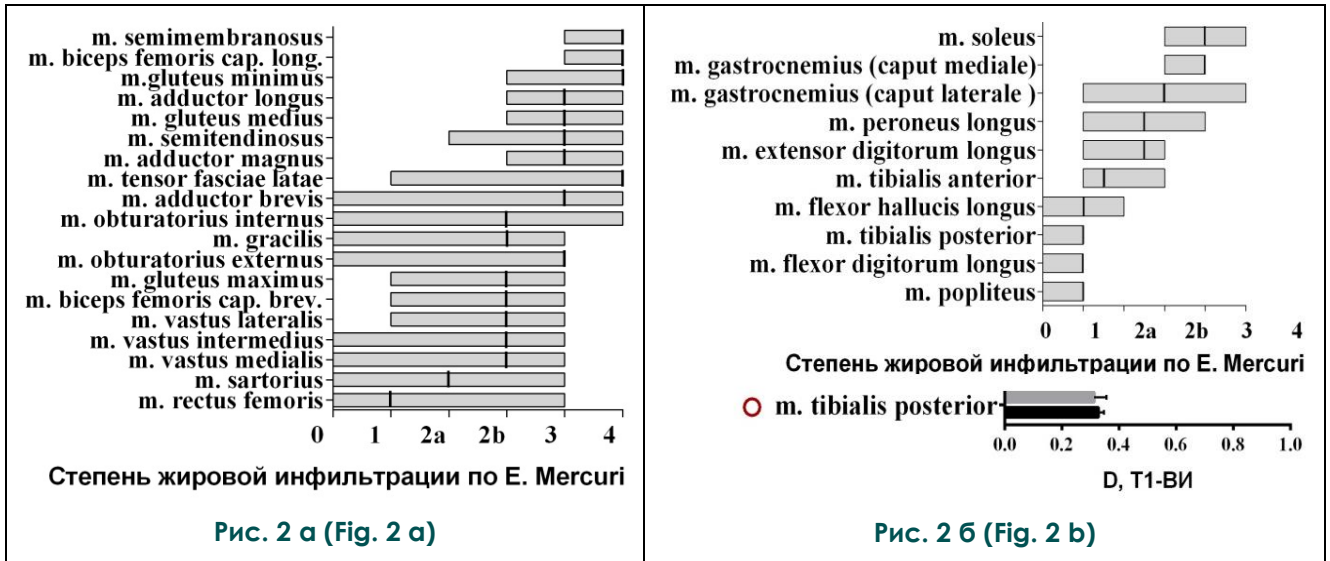


Рис. 2. Диаграммы.

Степень жировой инфильтрации в мышцах бедер и голени у пациентов с ПКМДР1/2А (а – мышцы бедра; б – мышцы голени). Выраженность жировой инфильтрации характеризуется с помощью модифицированной шкалы Е. Меркури, представленной в виде диаграммы «бокс плот», где центральная линия – Ме, а границы полос соответствуют максимальных и минимальных значениям стадий жировой инфильтрации.

Fig. 2. Diagrams.

The degree of fatty infiltration in the muscles of the thighs and lower leg in patients with LGMDR1 / 2A (a – thigh muscles; b – lower leg muscles). The severity of fatty infiltration is characterized by a modified E. Mercuri scale, presented in the form of a “box-plot” diagram (the center line – Me, the strip borders correspond to the maximum and minimum values of the stages of fatty infiltration).

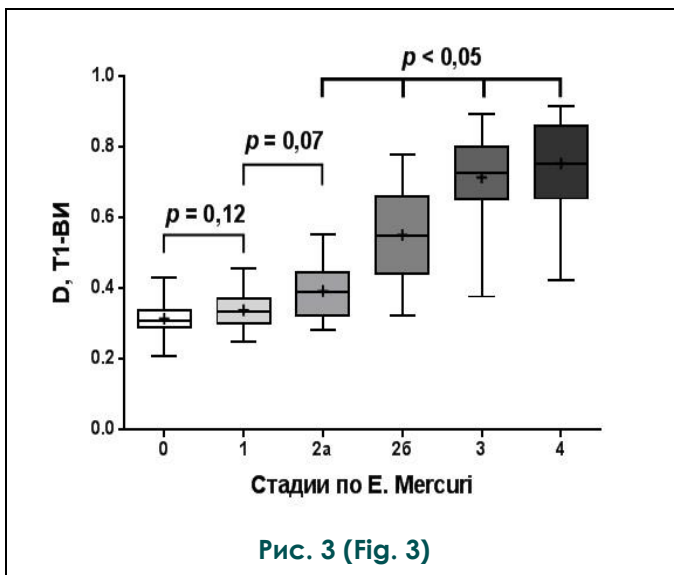


Рис. 3. Диаграмма.

Сопоставление стадий жировой инфильтрации (по Е. Меркури) и величин D, T1.

Fig. 3. Diagram.

Comparison of the stages of fatty infiltration (according to E. Mercuri) and the values of D, T1.

жировой инфильтрацией характеризовалась m. sartorius, но данная мышца имела достаточно выраженную вариабельность вовлечения в зависимости от продолжительности заболевания (от 0–4 ст.).

Мышцы голени, характеризующиеся «выраженным поражением», включали (Ме 3–4 ст., на рис. 2 б) m. soleus и caput mediale m. gasctrocnemii; «умеренное поражение» (Ме 2а–2б ст.) – caput laterale m. gasctrocnemii, m. peroneus longus, m. extensor digitorum longus; «легкое поражение» (Ме 1 ст.) – оставшиеся мышцы задней группы голени и m. tibialis anterior.

При сопоставлении величин D, T1 и степени жировой инфильтрации по Е. Меркури выявлена статистически значимая дискриминация между стадиями 2а–2б, 2б–3 и 3–4 ст. (критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони, $p < 0,05$). Тогда как между ранними стадиями жировой инфильтрации (0–1–2а) не выявлено статистически значимых различий (рис. 3). Таким образом, «выраженному поражению» (Ме 3–4 ст.) соответствуют величины D, T1 – 0,73 (0,72; 0,75), «умеренному поражению» (Ме 2а–2б ст.) соответствуют – 0,49 (0,46; 0,54), «легкому по-

ражению» (Me 1 ст.) – 0,34 (0,32; 0,35).

При сопоставлении значений D, T1 и характеристик жировой инфильтрации по E. Mercuri выявлена корреляционная взаимосвязь высокой силы для большинства мышц передней и медиальной групп бедра (0,9–0,7), тогда как для мышц задней группы не выявлено статистически значимых корреляций. Среди мышц голени корреляционная связь высокой силы между D, T1-ВИ и стадией по E. Mercuri выявлена для большинства мышц передней группы голени, а также для caput laterale m. gastrocnemii. Для мышц задней группы голени статистически значимых корреляционных взаимосвязей не выявлено.

Симметричность вовлечения мышц у

пациентов с ПКМДР1.

Значимой асимметрии при сравнении мышц тазового пояса и нижних конечностей при оценке по величине D, T1 не выявлено (парный критерий Манна-Уитни, $p > 0,05$). Незначимая асимметрия с разницей в одну степень (по E. Mercuri) была выявлена в правых конечностях в m. tibialis anterior, m. extensor digitorum longus, m. peroneus longus, m. gastrocnemius (caput laterale) у 1/14 пациента (7%), у 2/14 пациентов (14,3%) также была выявлена сходная асимметрия в m. gastrocnemius (caput laterale).

Несмотря на то, что ПКМДР1 морфологически зачастую ошибочно трактуется как воспалительная миопатия при сравнении ве-



Рис. 4 а (Fig. 4 а)

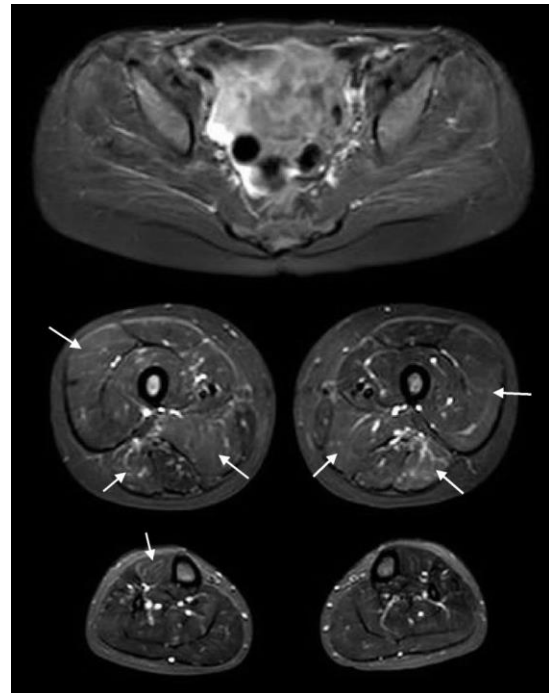


Рис. 4 б (Fig. 4 б)

Рис. 4 а. «Ранний» МРТ-паттерн ПКМДР1, T1-ВИ.

Пациент Б., 11 лет, на субклинической стадии. Участки жировой инфильтрации в m. semimembranosus, caput longum m. bicipitis femoris, m. semitendinosus и m. vastus lateralis – 1 ст. (стрелками указаны участки жировой инфильтрации).

Fig. 4 а. The “Early” MRI pattern of LGMDR1, T1-WI.

Patient B., 11 years old, at the subclinical stage. Fatty infiltration sites in m. semimembranosus, caput longum m. bicipitis femoris, m. semitendinosus and m. vastus lateralis – 1 stage (arrows indicate areas of fatty infiltration).

Рис. 4 б. «Ранний» МРТ-паттерн ПКМДР1, STIR.

Пациент Б., 11 лет, на субклинической стадии. Умеренные отечные изменения в caput longum m. bicipitis femoris, m. semimembranosus, m. semitendinosus (слева), m. adductor magnus и m. vastus lateralis, m. extensor digitorum longus (справа; стрелками указаны участки отека).

Fig. 4 б. The “Early” MRI pattern of LGMDR1, STIR.

Patient B., 11 years old, at the subclinical stage. Moderate edematous changes in caput longum m. bicipitis femoris, m. semimembranosus, m. semitendinosus (left), m. adductor magnus and m. vastus lateralis, m. extensor digitorum longus (right) (arrows indicate areas of edema).

личин D, STIR мышц тазового пояса и бедер у пациентов с ПКМДР1 с контрольной группой выявлены статистически значимые различия только в *m. semitendinosus* и *m. rectus femoris*. В тоже время величины D, STIR от всех мышц голени у пациентов с ПКМДР1 были статистически значимо ниже контрольных мышечных групп. Асимметрии по интенсивности относительного STIR сигнала между правой и левой конечностями не выявлено.

Для пациентов с ПКМДР1 характерны трофические изменения мышц тазового пояса и бедер при сравнении с контрольной группой, в частности выявлена статистически значимая гипотрофия *m. semitendinosus*, *caput longum m. bicipitis femoris*, *m. adductor magnus*, *m. vastus intermedius*, *m. rectus femoris*, при этом наиболее выраженные атрофии характерны для *m. semimembranosus*, *m. adductor magnus*. В тоже время отмечается компенсаторная гипертрофия отдельных мышц: *m. sartorius* и *m. obturatorius externus*.

МРТ-паттерны поражения тазового пояса и нижних конечностей на различных стадиях мышечно-дистрофического процесса у пациентов с ПКМДР1. В ходе исследования с целью повышения эффективности диагностики ПКМДР1 с использованием МРТ нами выделены «ранний», «типичный» (завершённый) и «поздний» МРТ-паттерны поражения мышц. «Ранний» МРТ-паттерн характеризуется первоначально вовлекающимися мышцами в миодистрофический процесс (рис. 4 а, б). При этом не наблюдается вовлечения полного комплекса ключевых мышц, характерного для клинически развернутых стадий кальпаинопатии. На раннем этапе МР-диагностика ПКМДР1 наиболее затруднительна. Ранний МР-паттерн выявлен в 10% случаев, при этом средний возраст пациентов составил 23 [11; 23] лет. «Типичный» МРТ-паттерн рационально выделять на основе определения наиболее часто вовлекаемых мышц, жировая инфильтрация в которых присутствует большую часть клинически манифестировавшего заболевания (рис. 5 а, б). Данный МР-паттерн является наиболее распознаваемым. «Завершённый/типичный» МР-паттерн выявлен в 60% случаев, при этом средний возраст пациентов составлял 37 [31; 42] лет. «Поздний» МРТ-паттерн следует характеризовать по наиболее длительно сохраняющимся мышцам в условиях практический полного жирового замещения большинства ключевых мышц для кальпаинопатии (рис. 6 а, б). Необходимость выделения «позднего» МР-паттерна обоснована

сложностью дифференциальной диагностики ПКМД ввиду конвергенции большинства клинических и МР-признаков. «Поздний» МР-паттерн выявлен у 30% пациентов, средний возраст которых составлял 28 [27; 33] лет. Также следует выделить атипичный МРТ-паттерн – «коллагеноподобный», который имеет существенное сходство с МРТ-характеристиками мышц у пациентов с врожденными миопатиями, ассоциированными с мутациями в генах коллагена VI типа (рис. 7 а, б, в). «Коллагеноподобный» МР-паттерн или так называемый «tiger-like» феномен был отчётливо выявлен в 3/14 случаях 21,4% [4,7; 50,1].

«Ранний» паттерн ПКМДР1 характеризовался незначительным повышением интенсивности МР-сигнала на T1-ВИ в *m. semimembranosus*, *caput longum m. bicipitis femoris*, *m. semitendinosus* и *m. vastus lateralis* – 1 ст. (за счет участков жировой инфильтрации). Повышение интенсивности МР-сигнала на STIR от *caput longum m. bicipitis femoris*, *m. semimembranosus*, *m. semitendinosus*, *m. adductor magnus* и *m. vastus lateralis* за счет умеренных отечных изменений.

«Типичный или завершённый» МРТ-паттерн характеризовался более выраженной жировой инфильтрацией с вовлечением 30-60% различных мышечных групп. Для развернутого фенотипа ПКМДР1 характерно выраженное поражение ягодичных мышц, а также *m. obturatorius externus et internus* (3-4 ст.). Среди мышц бедер наблюдается практически полная жировая инфильтрация задней и медиальной групп мышц (*caput longum m. bicipitis femoris*, *m. semimembranosus*, *m. semitendinosus*, *m. adductor magnus et longus* (3-4 ст.) с менее выраженным поражением *caput breve m. bicipitis femoris* и *m. gracilis* (2b ст.) и минимальным вовлечением передних групп мышц бедер (1-2a ст.). На уровне голени наблюдается полное жировое замещение *m. soleus*, *caput mediale m. gastrocnemii*, частичное или полное поражение *caput laterale m. gastrocnemii* и *m. peroneus longus* (3 ст.).

Отечные изменения выявляются в менее пораженных мышцах голени.

В структуре особенностей поражения мышц при кальпаинопатии следует отдельно выделить МРТ-паттерн, характеризующийся периферическим и центробежным поражением мышц бедер и голени, являющийся специфичным для врожденных мышечных дистрофий, ассоциированных с мутациями в генах коллагена VI типа [19].

«Коллагеноподобный» МРТ-паттерн или

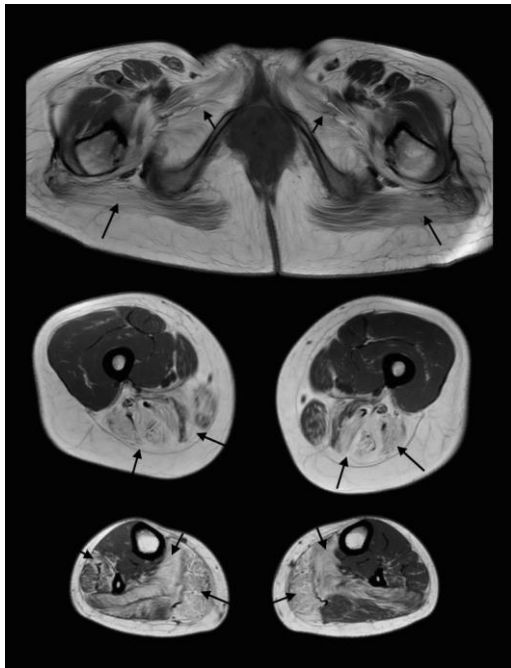


Рис. 5 а (Fig. 5 a)

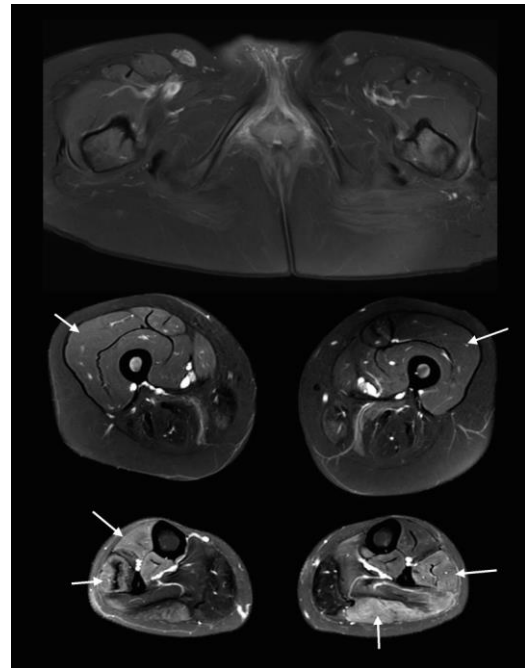


Рис. 5 б (Fig. 5 b)

Рис. 5 а. «Типичный» МРТ-паттерн поражения мышц при ПКМДР1, T1-ВИ.

Пациент М., 37 лет, с длительностью заболевания 24 года. Жировая инфильтрация в m. gluteus maximus, m. obturatorius externus и m. obturatorius internus – 3, 4 ст. (отмечено стрелками). Преимущественное поражение задних и медиальных групп мышц бедер (m. semimembranosus, m. semitendinosus, caput longum m. bicipitis femoris, mm. adductores) – 3-4 ст. (отмечено стрелками). Преимущественное поражение задней и медиальной групп мышц голени (caput mediale et laterale m. gastrocnemii, m. soleus, m. peroneus longus) – 3 ст. (отмечено стрелками).

Fig. 5 a. "Typical" MRI pattern of muscle damage in LGMDR1, T1-WI.

Patient M., 37 years old with disease duration of 24 years. Fatty infiltration in the m. gluteus maximus, m. obturatorius externus and m. obturatorius internus – 3, 4 stage (marked with arrows). The predominant lesion of the posterior and medial groups of the thigh muscles (m. semimembranosus, m. semitendinosus m. biceps femoris cap. longum, mm. adductores) – 3-4 stage (marked with arrows). The predominant lesion of the posterior and medial groups of the leg muscles (m. gastrocnemii cap. mediale et laterale, m. soleus, m. peroneus longus) – 3 stage (marked with arrows).

Рис. 5 б. «Типичный» МРТ-паттерн поражения мышц при ПКМДР1, STIR.

Пациент М., 37 лет, с длительностью заболевания 24 года. Незначительный отек передних мышц бедер. Умеренные отечные изменения в передней и латеральной группах мышц голени и caput laterale m. gastrocnemii слева (отмечено стрелками).

Fig. 5 b. "Typical" MRI pattern of muscle lesions in LGMDR1, STIR.

Patients M., 37-year-old with a disease duration of 24 years. Slight edema of the anterior muscles of the thighs. Moderate edematous changes in the anterior and lateral muscle groups of the legs and caput laterale m. gastrocnemii on the left (indicated by arrows).

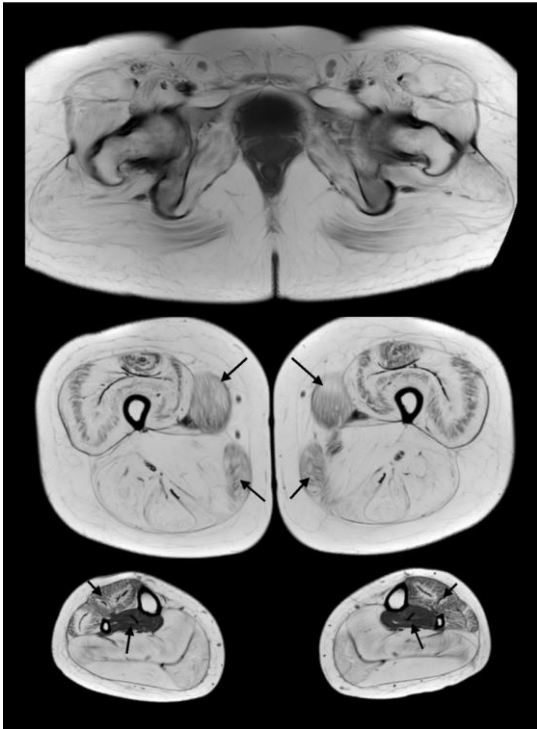


Рис. 6 а (Fig. 6 a)

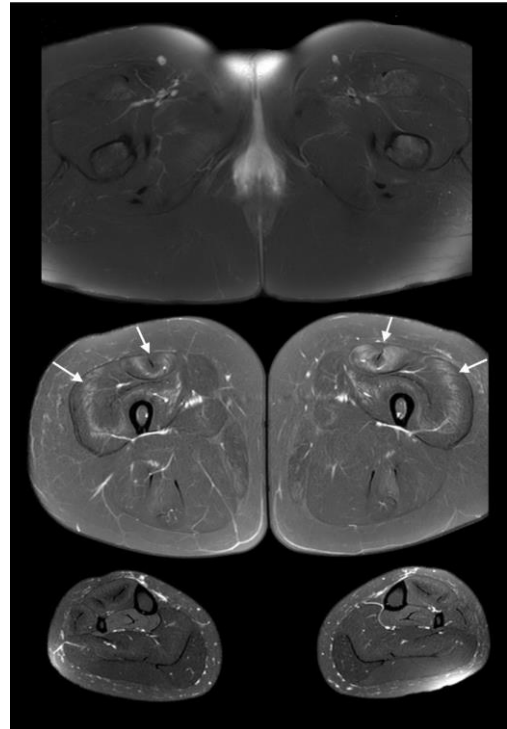


Рис. 6 б (Fig. 6 b)

Рис. 6 а. Конечный этап дистрофических изменений («поздний» МРТ-паттерн), T1-ВИ.

Пациента С., 28 лет, с длительностью заболевания 14 лет. Жировая инфильтрация всех мышц таза 4 ст. Жировая инфильтрация мышц бедер – 4 ст. (немногочисленные мышечные волокна в m. gracilis, m. sartorius и m. quadriceps femoris) (отмечено стрелками). Жировая инфильтрация мышц голени – 3-4 ст., m. popliteus и m. tibialis posterior, m. flexor hallucis longus и m. flexor digitorum longus относительно сохранены (отмечено стрелками).

Fig. 6 a. The final stage of dystrophic changes («late» MRI pattern), T1-WI.

Patient C. with calpainopathy, 28 years old, with a duration of the disease in amount of 14 years. Fatty infiltration of all muscles of the pelvis 4 stage. Fatty hip muscle infiltration – 4 stage (few muscle fibers in m. gracilis, m. sartorius and m. quadriceps femoris) (marked with arrows). Fatty infiltration of the muscles of the legs – 3–4 stage, m. popliteus and m. tibialis posterior, m. flexor hallucis longus and m. flexor digitorum long are relatively preserved (marked with arrows).

Рис. 6 б. Конечный этап дистрофических изменений («поздний» МРТ-паттерн), STIR.

Пациент С., 28 лет, с длительностью заболевания 14 лет. Незначительные отечные изменения в передней группе мышц бедер (отмечено стрелками).

Fig. 6 b. The final stage of dystrophic changes («late» MRI pattern), STIR.

Patient C. 28 years old, with disease duration of 14 years. Minor edematous changes in the anterior thigh muscle group (marked with arrows).

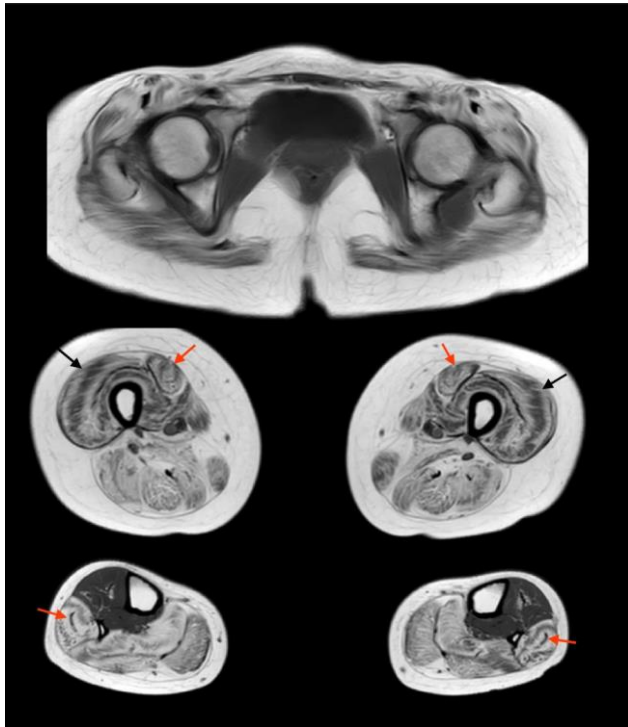


Рис. 7 а (Fig. 7 а)

Рис. 7 а. «Коллагеноподобный или тигровый («tiger-like»)» МРТ-паттерн ПКМДР1, T1-ВИ.

Пациентка М., 29 лет, с длительностью заболевания 13 лет. Диффузный характер поражения ягодичных мышц; периферическое поражение м. vastus lateralis (отмечено черными стрелками); центробежное поражение м. rectus femoris (отмечено красными стрелками); центробежное поражение м. peroneus longus и м. tibialis anterior (отмечено красными стрелками).

Fig. 7 a. “Collagen-like” or “tiger-like” MRI pattern with LGMDR1, T1-WI.

Patient M. with disease duration of 13 years. The diffuse nature of the defeat of the gluteal muscles; peripheral lesion m. vastus lateralis (marked with black arrows); centrifugal lesion m. rectus femoris (marked with red arrows); centrifugal lesion m. peroneus longus and m. tibialis anterior (marked with red arrows).

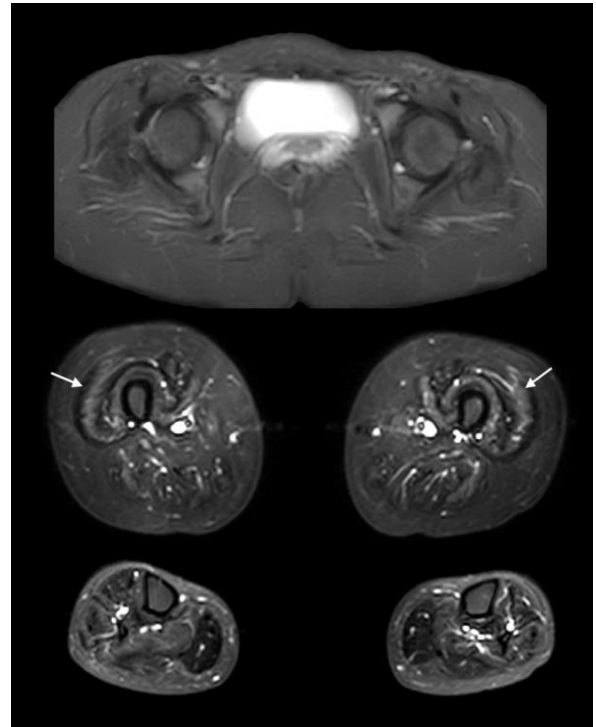


Рис. 7 б (Fig. 7 б)

Рис. 7 б. «Коллагеноподобный или тигровый («tiger-like»)» МРТ-паттерн ПКМДР1, STIR.

Пациентка М., 29 лет, с длительностью заболевания 13 лет. Отечные изменения соответствуют участкам сохраненной мышечной ткани в передних группах мышц бедер (отмечено стрелками).

Fig. 7 b. “Collagen-like” or “tiger-like” MRI pattern in LGMDR1, STIR.

Patient M., 29 y.o., with disease duration of 13 years. Edematous changes correspond to areas of preserved muscle tissue in the anterior thigh muscle groups (marked with arrows).

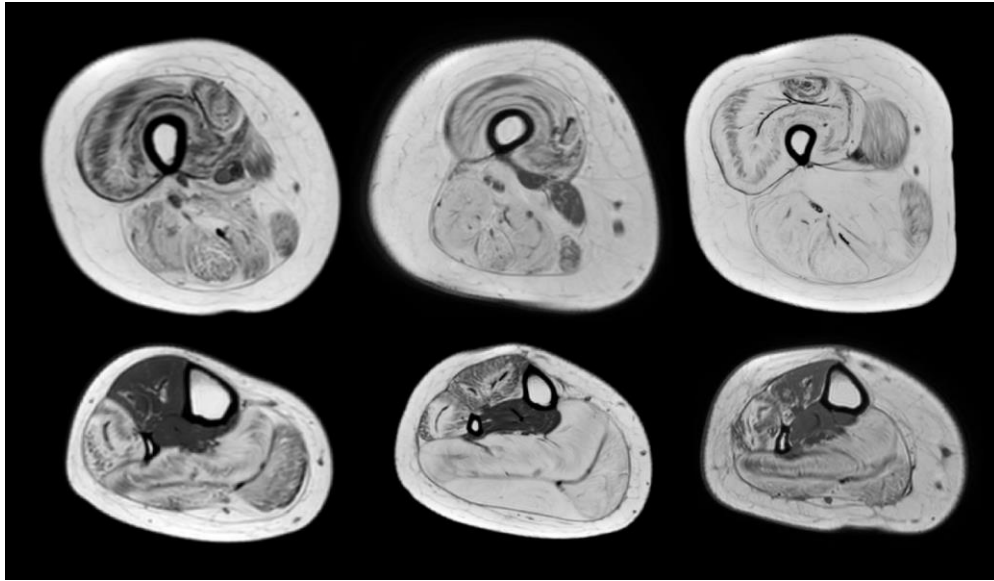


Рис. 7 в (Fig. 7 с)

Рис. 7 в. Варианты «коллагеноподобного» паттерна с длительностью заболевания 13; 15, 14 лет.

Сформировавшийся МР-паттерн распределения жировой инфильтрации в мышцах бедер и голени является устойчивым и сохраняется до поздних стадий заболевания.

Fig. 7 с. Variants of a “collagen-like pattern” with disease duration of 13, 15, 14 years.

The formed MR-pattern of the distribution of fatty infiltration in the muscles of the thighs and lower legs is stable and persists until the late stages of the disease.

так называемый «tiger-like» феномен был отчетливо выявлен в 3/14 случаев (21,4% [4,7; 50,1]). Периферический тип поражения наиболее выражен в m. vastus lateralis и m. vastus intermedius. Центробежный характер поражения наблюдался в m. rectus femoris, m. peroneus longus и m. tibialis anterior. Диффузный характер поражения выявлен в mm. glutei, m. vastus lateralis, m. sartorius, m. gracilis, m. adductor magnus, а также в задних группах мышц бедер (m. biceps femoris caput brevis et longus, m. semimembranosus, m. semitendinosus). Наиболее выраженные дистрофические изменения представлены в задних группах мышц голени: m. soleus, m. gastrocnemius caput laterale et mediale (4 ст.). Наименее пораженными являются m. popliteus и m. tibialis posterior (1 ст.)

Кроме «коллагеноподобного» МРТ-паттерна, являющегося не столь редким, выделяют более неспецифические варианты вовлечения мышц при ПКМДР1, в частности наблюдаются случаи выраженной компенсаторной гипертрофии и изменения характера жировой инфильтрации отдельных мышц,

существенно затрудняющих первичную диагностику по данным МРТ.

Несмотря на наличие атипичных вариантов МРТ-паттерна кальпаинопатии и существенных различий выраженности поражения мышц на раннем и позднем этапе заболевания нами сформирован схематически усредненный наиболее типичный МРТ-паттерн на основе оценок по шкале E. Mercuri (рис. 8).

Обсуждение.

Исследуемая российская когорта имела ряд особенностей, в частности существенное преобладание женщин – 85,7%. Принадлежность к женскому полу может оказывать влияние на экспрессию белка кальпаина и определяет выраженность проявлений фенотипа [20]. В тоже время выборка имеет ряд преимуществ в отношении поставленной задачи исследования, в частности однородность по фенотипу (тазобедренному) и возрастной категории, соответствующей развернутой клинической картине кальпаинопатии (39,5 лет). Одним из недостатков исследуемой когорты является ее небольшой объем.

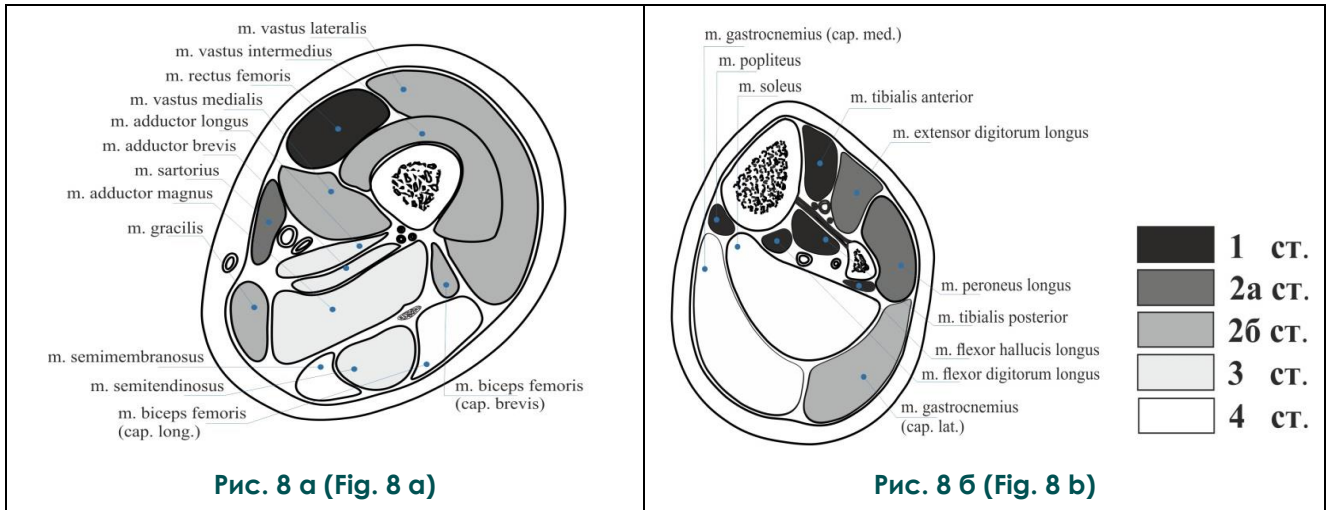


Рис. 8. Схема усредненного МРТ-паттерна распределения различной степени жировой инфильтрации мышц при кальпаинопатии.

а – Мышцы средней трети бедра, б – мышцы средней трети голени.

Fig. 8. Scheme of the averaged MRI pattern of the distribution of varying stages of the fatty muscle infiltration in calpainopathies.

a – muscles of the middle third of the thigh, b – muscles of the middle third of the leg.

При количественной оценке (D, T1) различий степени жировой инфильтрации у пациентов с ПКМДР1 и контрольной группой выявлено отсутствие различий в мышцах передней группы бедер, а также в m. gracilis, m. sartorius, caput breve m. bicipitis femoris. Тогда как среди мышц голени от нормы не отличались мышцы задней глубокой группы. Полученные сведения соответствовали результатам полуколичественного анализа (стадии по E. Mercuri) с помощью которого, были выделены мышцы с «выраженным» (3-4 ст.), «умеренным» (2а-2б ст.) и «легким» (1 ст.) поражением. При сопоставлении методов выявлено, что «выраженному» поражению (Me 3-4 ст.) соответствуют величины D, T1 – 0,73 [0,72; 0,75], «умеренному» поражению (Me 2а-2б ст.) соответствуют – 0,49 [0,46; 0,54], а «легкому» поражению (Me 1 ст.) – 0,34 [0,32; 0,35]. При этом, между ранними стадиями жировой инфильтрации, соответствующими 0-1-2а ст. (по E. Mercuri) не выявлено различий по соответствующим им величинам D (T1). Кроме того, не выявлено корреляционных взаимосвязей между показателями D, T1 и стадиями жировой инфильтрации по E. Mercuri в задней группе мышц бедра и голени, наиболее вовлекаемых в патологический процесс. Таким образом, недостатки данного количественного метода не позволяют анализировать динамику жировой инфильтрации на самых ранних и поздних стадиях ПКМДР1.

Существенных отличий от нормы величин D, STIR в большинстве мышц бедер не выявлено, при наличии существенных различий во всех мышцах голени. Подобные изменения свидетельствуют об отсутствии выраженных отечных изменений даже в наименее пораженных мышцах бедер при ПКМДР1, тогда как изменения D, STIR в мышцах голени, вероятно, носят неспецифический характер ввиду вазогенного отека дистальных отделов конечностей.

В ходе анализа трофических изменений мышц при ПКМДР1 впервые выделены дополнительные признаки, повышающие эффективность диагностики данной нозологии. В частности, показана гипертрофия m. sartorius и m. obturatorius externus среди мышц бедер, а также m. externus digitorum longus среди мышц голени. Следует отметить, что ранее была описана компенсаторная гипертрофия икроножных мышц на ранних стадиях заболевания.

Для практических целей повышения эффективности диагностики кальпаинопатии представлен усредненный «типичный» МРТ-паттерн, характеризующийся преимущественным поражением мышц бедра: приводящие (m. adductor magnus), задняя группа мышц бедра (m. semimembranosus, m. semitendinosus, caput longum m. bicipitis femoris). Как было показано ранее, к наименее пораженным мышцами относятся: m. rectus femoris, m. sartorius, caput breve m.

bicipitis femoris [9, 15, 16, 21]. В большинстве исследований было показано, что *m. gracilis* при ПКМДР1 характеризуется минимальным поражением, тогда как в нашей исследуемой группе данная мышца подвергалась жировой инфильтрации практически в равной степени с *m. vastus lateralis et medialis*. Среди мышц голени наиболее раннему вовлечению подвержены *caput mediale m. gastrocnemii* при длительном сохранении интактной *caput laterale m. gastrocnemii*, которая в большинстве представленных нами случаев имела признаки компенсаторной гипертрофии [16, 22]. Ранее было показано, что наименее вовлеченной мышцей голени является *m. extensor digitorum longus*, тогда как в нашем исследовании токовыми являются *m. tibialis anterior et posterior* и *m. popliteus* [23].

В связи с существенным снижением специфичности и чувствительности критериев типичного паттерна для пациентов с начальными признаками заболевания в данной работе представлен также «ранний» и «поздний» паттерны, описание которых позволяет увеличить эффективность МРТ в диагностике кальпаинопатии [23].

Среди атипичных вариантов ПКМДР1 наиболее часто встречающимся является «коллагеноподобный» МРТ-паттерн, выявленный в исследуемой выборке в 3/14 случаях 21,4% [4,7; 50,1], имеющих длительность заболевания более 10 лет и высокий класс по шкале Виньос, и, соответственно, менее благоприятный прогноз. Наличие подобных клинико-визуализационных корреляций для мышц бедра, а также более выраженное поражение разгибателей спины было описано ранее в европейской когорте в 50,1% [37;64] случаев [16, 20]. Высокая встречаемость данного паттерна наиболее вероятно связана с большей распространенностью в европейской популяции null-мутации *c.550del*; (*p.Th184ArgfsTer36*) в гомозиготном состоя-

нии по сравнению с отечественной выборкой [24]. В представленном нами исследовании «коллагеноподобный» МРТ-паттерн дополнен специфическими изменениями мышц голени (периферическое поражение *m. soleus*; центральное поражение мышц передне-латеральной групп голени или поражение по типу «центральной тени»). Кроме того, расширено представление об атипичном МРТ-паттерне кальпаинопатии за счет ранее не описанных случаев компенсаторных гипертрофий отдельных мышц в частности *m. rectus femoris* и *m. sartorius*.

Заключение.

Полуколичественный анализ МРТ-характеристик жировой инфильтрации и трофических изменений мышц при кальпаинопатии позволил выделить типичный усредненный паттерн преимущественного вовлечения задней и медиальной групп мышц бедер, *caput mediale m. gastrocnemii* и *m. soleus* среди мышц голени, с минимальными проявлениями отеков в не пораженных мышцах. Выделение «раннего», «типичного» и «позднего» МРТ-паттернов позволяет повысить информированность рентгенологов о вариантах поражения мышц на различных стадиях заболевания и, возможно, увеличит распознаваемость поясно-конечностной мышечной дистрофии тип R1. Применение количественного метода оценки относительной интенсивности сигнала D, T1 не эффективно для динамической оценки изменений мышечно-дистрофического процесса на ранних и поздних стадиях кальпаинопатии.

Источник финансирования и конфликт интересов.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования и конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

References:

1. Beckmann J.S., Richard I., Hillaire D., Broux O., Antignac C., Bois E., et al. A gene for limb-girdle muscular dystrophy maps to chromosome 15 by linkage. *C R Acad Sci III*. 1991; 312 (4): 141-148.
2. Allamand V., Broux O., Bourq N., Richard I., Tischfield J.A., Hodes M.E., et al. Genetic heterogeneity of autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy in a genetic isolate (Amish) and evidence for a new locus. *Hum Mol Genet*. 1995; 4 (3): 459-63. DOI: 10.1093/hmg/4.3.459
3. Peric S., Stevanovic J., Johnson K., Kosac A., Peric M., Brankovic M, et al. Phenotypic and genetic spectrum of patients with limb-girdle muscular dystrophy type 2A from Serbia. *Acta Myol*. 2019; 38 (3): 163-171.
4. Keira Y., Noguchi S., Minami N., Hayashi Y.K., Nishino I. Localization of calpain 3 in human skeletal muscle and its alteration in limb-girdle muscular dystrophy 2A muscle. *J Biochem*. 2003; 133 (5): 659-64. DOI: 10.1093/jb/mvg084
5. Kramerova, I., J.S. Beckmann, and M.J. Spencer. Molecular and cellular basis of calpainopathy (limb girdle muscular dystrophy type 2A). *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1772 (2): 128-44.
6. Lasa-Elgarresta J., Mosqueira-Martín L., Naldaiz-Gastesi N., Sáenz A., López de Munain A., Vallejo-Illarramendi A. Calcium Mechanisms in Limb-Girdle Muscular Dystrophy with CAPN3 Mutations. *Int J Mol Sci*. 2019; 20 (18). DOI: 10.3390/ijms20184548

7. Angelini C, Fanin M. Calpainopathy. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington. 2005.
8. Vissing J, Barresi R., Witting N., Van Ghelue M., Gammelgaard L., Bindoff L.A., et al. A heterozygous 21-bp deletion in CAPN3 causes dominantly inherited limb girdle muscular dystrophy. *Brain*. 2016; 139 (8): 2154-63. DOI: 10.1093/brain/aww133
9. Gallardo, E., A. Saenz, and I. Illa. Limb-girdle muscular dystrophy 2A. *Handb Clin Neurol*. 2011; 101: 97-110.
10. Fardeau M., Hillaire D., Mignard C., Feingold N., Feingold J., Mignard D., et al. Juvenile limb-girdle muscular dystrophy. Clinical, histopathological and genetic data from a small community living in the Reunion Island. *Brain*. 1996; 119 (1): 295-308. DOI: 10.1093/brain/119.1.295
11. Finsterer, J., F.A. Scorza, and C.A. Scorza. Significance of Asymptomatic Hyper Creatine-Kinase Emia. *J Clin Neuromuscul Dis*. 2019; 21 (2): 90-102. DOI: 10.1097/CND.0000000000000269
12. Krahn M., Lopez de Munain A., Streichenberger N., Bernard R., Pêcheux C., Testard H., et al. CAPN3 mutations in patients with idiopathic eosinophilic myositis. *Ann Neurol*. 2006; 59 (6): 905-11.
13. Y.B. Luo, Q.X. Li, H.Q. Duan, F.F. Bi, H. Yang. Limb-girdle Muscular Dystrophy Type 2A with Muscular Eosinophilic Infiltration in a Chinese Patient. *Chin Med J (Engl)*. 2018; 131 (17): 2133-2134. DOI: 10.4103/0366-6999.239307
14. Mercuri E., Bushby K., Ricci E., Birchall D., Pane M., Kinali M., et al. Muscle MRI findings in patients with limb girdle muscular dystrophy with calpain 3 deficiency (LGMD2A) and early contractures. *Neuromuscul Disord*. 2005; 15 (2): 164-71. DOI: 10.1016/j.nmd.2004.10.008
15. L. Wang, V. W. Zhang, Sh. Li, H. Li, Y. Sun, Jing L, et al. The clinical spectrum and genetic variability of limb-girdle muscular dystrophy in a cohort of Chinese patients. *Orphanet J Rare Dis*. 2018; 13 (1): 133. DOI: 10.1186/s13023-018-0859-6
16. Barp A., Laforet P., Bello L., Tasca G., Vissing J., Monforte M., et al. European muscle MRI study in limb girdle muscular dystrophy type R1/2A (LGMDR1/LGMD2A). *J Neurol*. 2020; 267 (1): 45-56. DOI: 10.1007/s00415-019-09539-y
17. Mercuri E., Pichiecchio A., Counsell S., Allsop J., Cini C., Jungbluth H., et al. A short protocol for muscle MRI in children with muscular dystrophies. *Eur J Paediatr Neurol*. 2002; 6 (6): 305-7. DOI: 10.1016/s1090-3798(02)90617-3
18. Yushkevich P.A., Piven J., Hazlett H.C., Smith R.G., Ho S., Gee J.C., et al. User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *Neuroimage*. 2006; 31 (3): 1116-28. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2006.01.015
19. Quijano-Roy, S., D. Avila-Smirnow, and R.Y. Cartier. Whole body muscle MRI protocol: pattern recognition in early onset NM disorders. *Neuromuscul Disord*. 2012; 22 (2): S68-84. DOI: 10.1016/j.nmd.2012.08.003
20. Fanin, M., A.C. Nascimbeni, and C. Angelini. Gender difference in limb-girdle muscular dystrophy: a muscle fiber morphometric study in 101 patients. *Clin Neuropathol*. 2014; 33 (3): 179-85. DOI: 10.5414/NP300728
21. Arrigoni F., De Luca A., Velardo D., Magri F., Gandossini S., Russo A., et al. Multiparametric quantitative MRI assessment of thigh muscles in limb-girdle muscular dystrophy 2A and 2B. *Muscle Nerve*. 2018; 58 (4): 550-558. DOI: 10.1002/mus.26189
22. Diaz-Manera J., Llauger J., Gallardo E., Illa I. Muscle MRI in muscular dystrophies. *Acta Myol*. 2015; 34 (2-3): 95-108.
23. Feng X., Luo S., Li J., Yue D., Xi J., Zhu W, et al. Fatty infiltration evaluation and selective pattern characterization of lower limbs in limb-girdle muscular dystrophy type 2A by muscle magnetic resonance imaging. *Muscle Nerve*. 2018; 58 (4): 536-541. DOI: 10.1002/mus.26169
24. Richard I., Hogrel J.Y., Stockholm D., Payan C.A., Fougereousse F.; Calpainopathy Study Group, et al. Natural history of LGMD2A for delineating outcome measures in clinical trials. *Ann Clin Transl Neurol*. 2016; 3 (4): 248-65. DOI: 10.1002/acn3.287.