

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

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-Salpetriere 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. Pirogov Russian National Medical Research University, Clinical Research Institute of Pediatrics; Russian Federation, Moscow

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

Активность болезни

Более 2 десятилетий назад в исследованиях на моделях мышей с мышечной дистрофией было показано, что ткань скелетных мышц имеет повышенный сигнал T2 [1, 2]. Аналогичные результаты получены и на моделях более крупных животных — собаках породы золотистый ретривер с мышечной дистрофией [3–5]. Интересно, что сигнал T2 от мышц нормализовывался, когда генная терапия оказывалась успешной [6–8].

Исследования последних лет подтвердили и расширили наши знания об изменении мышечного сигнала T2 у животных моделей с мышечной дистрофией. Временные изменения сигнала T2 от мышц были точно определены у mdx-мышей (животная модель прогрессирующей мышечной дистрофии (ПМД) Дюшенна). Наибольшие изменения были выявлены в возрасте 4–8 мес, затем наблюдалось постепенное уменьшение изменений [9–11]. Аномалии сигнала T2 были описаны и на других моделях дистрофии [12, 13] с разным характером внутримышечного распределения жира при мутациях в гене *LARGE* и у mdx-мышей. Особая чувствительность дистрофичных мышц к эксцентрическим упражнениям была показана посредством более высокого сигнала T2 у mdx-мышей, которых заставляли много бегать [14].

При оценке ответа mdx-мышей на экспрессию гена микродистрофина картирование T2 продемонстрировало более высокую дискриминационную способность по сравнению с соотношением передача намаг-

ниченности/диффузионно-тензорное изображение [15]. Успешный скиппинг U7-экзонов у золотистых ретриверов с мышечной дистрофией ассоциировался со снижением сигнала T2 от леченых конечностей [16]. Терапия лозартаном нормализовала сигнал T2 от мышц у мышей, больных врожденной мышечной дистрофией с дефицитом ламинина альфа 2 [13].

Сигнал T2 или время релаксации спин-эхо воды в мышцах может использоваться как индикатор активности болезни в скелетных мышцах. Активность болезни — достаточно расплывчатое понятие, предполагающее, что изменение сигнала T2 — результат неспецифических процессов, в основе которых лежат такие механизмы, как воспаление, некроз, дистрофия мышц, острая денервация, а также любые обстоятельства, приводящие к внеклеточному или внутриклеточному отеку, или их комбинации. Этот факт неоднократно был продемонстрирован у животных и у человека [17–20]. Физические упражнения умеренной или высокой интенсивности приводят к увеличению сигнала T2 от мышц в результате накопления воды в миоцитах. Процесс является временным и проходит в течение нескольких часов в отличие от патологического увеличения сигнала T2. Это может исказить результаты, если обследовать пациентов непосредственно или через короткий промежуток времени после тренировки, в связи с чем мы рекомендуем выполнять визуализацию до проведения оценки моторной функции, особенно у пациентов со слабостью мышц.

* 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.

Часть I см.: Нервно-мышечные болезни 2016;6(4):10–20.

Как уже говорилось выше, в основном животные модели с миопатиями не развивают дегенеративных жировых изменений, которые инфильтрируют их мускулатуру, и глобальное увеличение сигнала T2 от мышцы, определяемого по моноэкспоненциальному приближению, допускаемому для затухания магнитно-резонансного (МР) сигнала, будет однозначно указывать на увеличение сигнала T2 от воды в миоцитах. Однако в организме человека жировая замена миоцитов является следствием хронических нервно-мышечных болезней. Так как жировая ткань имеет более длинный сигнал в T2 по сравнению с сигналом от миоцитов, несколько процентов содержания внутримышечного жира будут поднимать показатели моноэкспоненциального сигнала T2 до значений, сравнимых с теми, которые получаются при исследовании воспаленной или поврежденной мышечной ткани.

В многочисленных исследованиях по измерению моноэкспоненциального T2-сигнала от жировой ткани, инфильтрирующей мышцы, обнаружено, что показатели увеличиваются с возрастом в мышцах у мальчиков с ПМД Дюшенна [21–26]. Другие исследователи, напротив, отмечали снижение сигнала T2 от мышц у пациентов с ПМД Дюшенна с течением времени, так же, как это наблюдалось на животных моделях [22, 27]. Выявленные противоречия могут запутать читателя. В первом случае был определен общий сигнал T2, и увеличение его отражает прогрессирование жировых дегенеративных изменений. Эти данные совпадают с результатами, полученными в режиме Dixon, и сильно коррелируют друг с другом [28]. Во 2-м случае сигнал T2 от воды в мышцах был измерен специфическим образом, и прогрессирующее его снижение может быть связано с ростом, так как может наблюдаться у здоровых субъектов, по крайней мере у собак [3]. Снижение сигнала T2 может быть также связано с истощением мышцы при постоянных воспалении и регенерации.

Для внесения ясности постараемся четко обозначить следующее: изменения общего сигнала T2 от мышц отражают главным образом жировые дегенеративные изменения, сигнал T2 от воды в мышцах оценивает вовлечение самой мышечной ткани в патологические процессы [29]. По мнению авторов, стоит отказаться от измерения общего сигнала T2 от мышц с жировой инфильтрацией, но более детально анализировать сигнал T2 от мышечной ткани (о новых возможностях см. ниже).

Сигнал T2 от воды в мышцах в качестве индикатора активности болезни используется не только в исследованиях людей, но является актуальным и при изучении моделей животных. Сигнал T2 от воды ненормально повышен в мышцах мальчиков с ПМД Дюшенна [21, 22, 27], но имеет нормальные показатели у больных с ПМД Беккера [30]. У пациентов с поздним началом болезни Помпе было выявлено умеренное повышение сигнала T2 от воды приблизительно в 1/3 исследован-

ных мышц [31]. При воспалительных миопатиях, как правило, сигнал T2 от мышц увеличивается [32–34]. При диагностической визуализации это обычно обнаруживают с использованием T2-ВИ-последовательностей подавления жировой ткани (STIR) [35, 36]. У пациентов с лице-плече-лопаточной мышечной дистрофией в некоторых мышцах определяются STIR-положительные изменения, а в биоптатах мышц имеются признаки воспаления [37]. Тем не менее при подобном качественном подходе идет поиск визуальных различий между измененными и здоровыми мышцами в целом или их областями. Если все мышцы в области исследования воспалены, такие результаты, скорее всего, следует считать ложноотрицательными. Данная ситуация происходит у пациентов с ювенильным дерматомиозитом [38]. По этой причине, даже если это до сих пор не принято широко медицинским сообществом, мы систематически используем количественное картирование сигнала T2 от воды для оценки воспалительных миопатий, особенно для оценки ответа на терапию (см. таблицу, рис. 2).

Основные особенности общего T2 и T2-сигнала от воды

Характеристика	Сигнал T2 от мышц	
	общий	от воды
Химическое происхождение	Вода и жир	Только вода
Чувствительность	К медленным, долгосрочным изменениям	К быстрым, кратковременным изменениям
Свидетельствует	В основном о хронических дегенеративных жировых изменениях	Об активности болезни
Методы и режимы	Предпочтительнее использование режима Dixon	Требуется оптимизированных последовательностей или постпроцессинговой обработки

Примечание. Представленные данные объясняют противоречия между выявлением воспаления и мониторингом жировой инфильтрации посредством измерений сигнала T2.

Помимо отсутствия специфических изменений сигнала T2 от воды в мышцах, остаются неопределенности в отношении точной временной связи между патологическими изменениями и изменениями сигнала T2. Неясно, есть ли временная задержка и как долго она может быть. Существуют расхождения между сигналом T2 от мышц и клиническим состоянием некоторых пациентов с воспалительными миопатиями. Не обнаружено нормального колебания сигнала T2 при динамическом обследовании пациентов с мышечной дистрофией.

Интересно, что повышение сигнала T2 от воды в мышцах можно обнаружить при некоторых врожденных

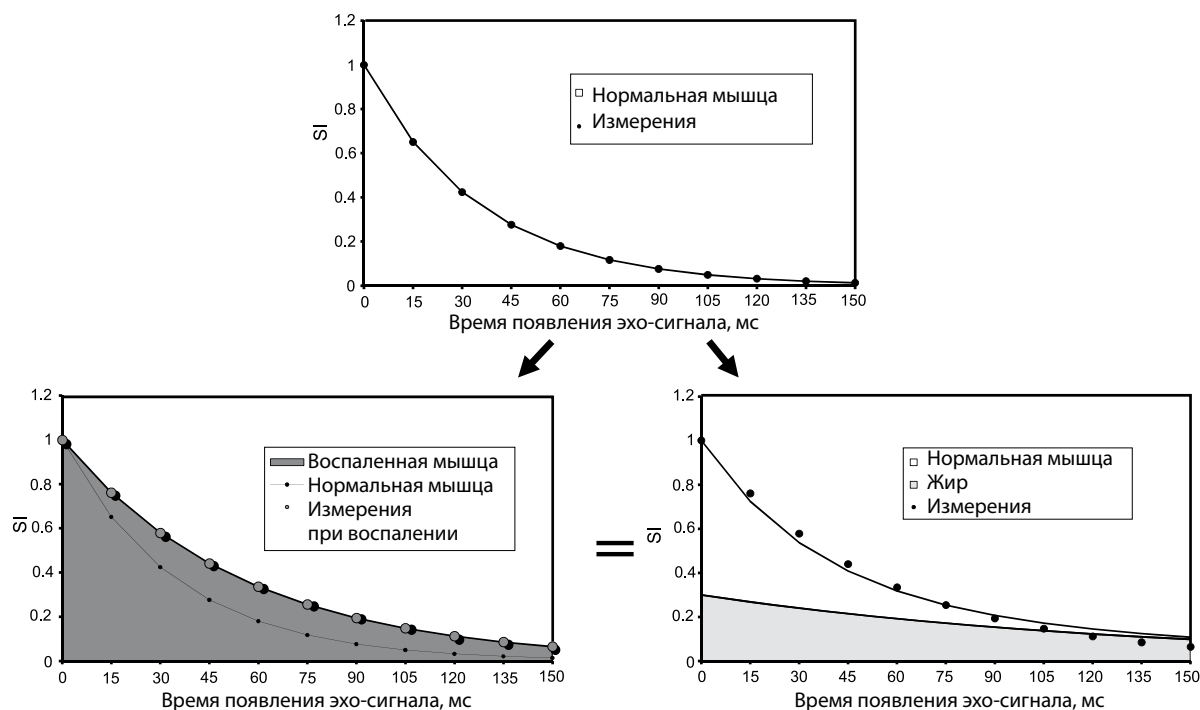


Рис. 2. Неспособность моноэкспоненциального приближения разделения сигнала T2 от мышц для выявления различий между воспалительными и жировыми дегенеративными изменениями. Оба процесса приведут к увеличению общего сигнала T2 от скелетных мышц. Чтобы отделить воспалительные изменения от жировой инфильтрации, необходимо применять специфические последовательности (с подавлением жира) или процессы трехэкспоненциального приближения

структурных миопатиях, по крайней мере на моделях животных с генетическими мутациями небулина, *АС-TA1* или динамина [39–42]. Это говорит о том, что определенная степень клеточной дезорганизации может достаточно повлиять на внутриклеточную мобильность, чтобы изменить сигнал T2. Возможность получения аномального сигнала T2 от мышц при стабильном течении миопатии вводит ограничение на то, чтобы использовать как общее правило сигнал T2 от воды в мышцах в качестве абсолютного показателя активности болезни. Кроме того, изменения сигнала T2 от воды в мышцах при денервации связаны с относительным увеличением внеклеточного пространства вследствие атрофии мышечных волокон [43–45] и в большей степени отражают структурную перестройку мышцы, чем активность болезни.

Хотя определение сигнала T2 от воды в мышцах представляется значимым биомаркером прогрессирования болезни или ответа на любое вмешательство, необходимо проявлять осторожность и ограничивать использование для мониторинга активности дегенеративного (некротического) патологического процесса сигнала T2 от воды в мышцах. Результаты, продемонстрированные на моделях животных, нашли подтверждение в нескольких исследованиях у людей. Обнаружено, что уровень сигнала T2 является предиктором скорости прогрессирования хронических дегенеративных изменений. У юношей с ПМД Дюшенна после начала лечения стероидами сигнал T2 от мышц ног

быстро уменьшался на несколько миллисекунд и наблюдаемое понижение поддерживалось в течение некоторого времени и было связано с приостановкой жирового инфильтративного процесса [46]. У взрослых пациентов с болезнью Помпе в 1/3 всех исследованных мышц ног было получено от легкой до умеренной степени повышение сигнала T2 от воды, по меньшей мере на 1 из 2 сканирований в течение года. В этих мышцах прогрессирование дегенеративных изменений было примерно на 35 % быстрее, чем в мышцах с нормальным сигналом T2 [31]. Для разных мышц существует достоверная корреляция между средним значением сигнала T2 и средней скоростью жировой инфильтрации. У пациентов с лице-плече-лопаточной мышечной дистрофией было показано, что в мышцах с гиперинтенсивностью на T2-ВИ в дальнейшем отображаются существенные жировые дегенеративные изменения [47, 48]. Такие наблюдения являются основными в суждении о пользе применения T2-сигнала воды в мышцах в качестве биомаркера активности процесса при нервно-мышечных болезнях.

Многие вопросы остаются нерешенными. Один из них — отклик сигнала T2 от воды в мышцах на экспрессию дистрофина у пациентов с ПМД Дюшенна, принимающих кортикостероиды. Терапия стероидами возвращает показатели сигнала T2 от воды почти к нормальным значениям, и неясно, будет ли увеличение экспрессии дистрофина, которая связана с пропуском экзона, приводить к дальнейшему снижению

сигнала T2. Предварительные наблюдения говорят, что, скорее всего, обнаружить это будет весьма сложно (личные наблюдения авторов).

Методологические вопросы делают точное определение сигнала T2 от воды в мышцах сложной задачей. Мы подробно обсудили трудности, возникающие при жировой инфильтрации и жировом замещении мышечной ткани. Получить полное подавление сигнала от жира чрезвычайно сложно. Колебания в несколько процентов влияют на оценку сигнала T2 от воды. Сегодня предпочтение отдается методам, которые не столько минимизируют сигнал от жира, сколько позволяют различать сигналы от воды и жира, основываясь на химическом сдвиге или различиях в сигналах T2 во время самого исследования или последующей обработки данных. Их не так много, и наиболее часто используемые основаны на применении множественных сигналов спин-эхо в режиме CPMG и покрывают большой диапазон времени появления эхо-сигнала (echo-times, TE). В режиме Dixon схема разделения воды и жира, включенная в диаграмму мульти-спин-эхо, позволяет использовать последовательности IDEAL—CPMG [49]. Другой способ заключается в выполнении трехэкспоненциального приближения к распаду сигнала последовательностей мульти-спин-эхо. С учетом того, что между сигналом T2 от воды и жира существует большая разница, данный метод позволяет эффективно разделить 2 компонента [28]. Поскольку это достигается при последующей обработке и анализируемая последовательность является стандартной для большинства МР-сканеров, это дает возможность использовать данный метод в мультицентровых исследованиях.

Точное измерение сигнала T2 обязательно. В последовательностях мульти-спин-эхо возбуждение и рефокусируемые импульсы должны точно устанавливаться на 90° и 180° соответственно. Если этого не сделать, то сигнал затухает слишком быстро и невозможно оценить эффективный градиент повреждения, который редко, но может иметь место в клинической практике. Также возможно слишком медленное затухание сигнала, если неискаженный сигнал, возникающий из стимулированного эхо, добавляется к спин-эхо [50]. Практическое решение состоит в том, чтобы связать последовательность мульти-ТЕ-спин-эхо с другой последовательностью, которая отображает B1-поле и дает точный флип-угол (угол поворота, параметр последовательности импульсов, который указывает на угол отклонения суммарного вектора намагниченности), получаемый в каждом вокселе [51]. Если значения отличаются от заданных, вызывающий сомнение воксель исключается из T2-картирования [28]. Методически это осуществляется просто и эффективно и в то же время устраняет значительную часть вокселей в зоне слабой B1-гомогенности. Существуют иные решения, часть из которых находится в процессе реализации для клинических исследований. Вместо экспоненци-

ального приближения снижения сигнала модели для большей точности могут быть реализованы траектории как спин-эхо, так и стимулированное эхо, что снижает необходимость B1-картирования. Например, расширенные фазовые графики (Extended Phase Graphs, EPG) с формализмом Гамильтона являются мощным инструментом для понимания и описания намагничивания в произвольной многоимпульсной МР-последовательности при разных ограничениях релаксации в T1 и T2. Недавно R.M. Lebel и A.H. Wilman предложили моделировать MSME-сигнал, используя формализм EPG для точной T2-релаксометрии [52]. W.D. Rooney и соавт. предложили применять моделирование EPG для улучшения согласованности и точности T2-картирования при сканировании мышцы в различных центрах [53].

В клинических исследованиях важна точность, а также дискриминационная способность техники. Исследование при измерениях сигнала T2 от воды можно упростить за счет того, что даже если измерение является неточным из-за шума от стимулированного эха, оно остается чувствительным к результату патологических изменений и вмешательств. Это было показано в клиническом исследовании, где измеренное контрольное значение сигнала T2 было почти в 2 раза выше реального. Тем не менее наличие воспаления и положительных сдвигов в результате приема стероидов было зарегистрировано должным образом [32].

Связи между функциональными и магнитно-резонансными критериями оценки

Зачастую вызывает интерес вопрос, имеется ли связь между результатами анализа медицинских изображений и данными, полученными после использования стандартных функциональных тестов скелетной мускулатуры, т. е. коррелирует ли МР-томография (МРТ) с функцией мышцы и в какой степени. Ответ на этот вопрос известен: да, корреляция между этими 2 методами существует, а коэффициент корреляции обычно составляет 0,7. Ясно, что функциональные возможности мышцы в значительной степени зависят от мышечной массы и структуры ткани. Это было показано уже в самых первых исследованиях с использованием качественных показателей жировых дегенеративных изменений у пациентов с ПМД Дюшенна [54] и подтвердилось во всех последующих публикациях [24, 55–60]. Дополнительные доказательства были получены при обследовании пациентов с миотонической дистрофией I типа [61], болезнью Шарко–Мари–Тута 1А типа и миозитом с включением телец [62], а также при поражении ротаторной манжеты [63] и естественном старении [64]. Логично, что сила мышц больше коррелирует с остаточной сократительной массой [59], чем с процентом жировой инфильтрации [60].

Примером комплементарности метода формирования медицинских изображений и функциональных методов являются результаты исследований с сопоставлением

сократительных свойств мышцы и площади ее поперечного сечения, направленные на выяснение, насколько снижение силы мышц, или так называемого «торка» (от англ. torque — крутящий момент, единица силы), определяется гипотрофией и атрофией мышцы, или оно связано с изменением сократительных свойств мышцы. У мальчиков с ПМД Дюшенна сила пораженных мышц оставалась аномально низкой, если пересчитывать ее относительно оставшейся массы сократительной ткани, что свидетельствует о нарушении сократительных свойств дистрофичной мышцы [58, 59].

Существуют и другие актуальные вопросы. Что представляет собой временная связь между изменениями в составе мышц и функциональными изменениями? Непубликованные данные, доложенные на конгрессе World Muscle Society группой, занимающейся анализом медицинских изображений при ПМД Дюшенна [65], свидетельствуют о том, что увеличение жировой фракции в мышцах ног у мальчиков с ПМД Дюшенна до 60 % существенно не влияет на результаты теста 6-минутной ходьбы (6MWT). Это позволяет использовать изменения, обнаруживаемые при визуализации, в качестве предиктора клинического прогноза. Данное наблюдение имеет важное значение и требует подтверждения. В других исследованиях у пациентов с ПМД Дюшенна было показано, что снижение силы мышц происходит параллельно с нарастанием жировой дегенерации мышцы [58, 59], а в мышцах предплечья может даже предшествовать дистрофическим изменениям [66].

Другие важные вопросы — дискриминационная способность и информативность методов функциональной диагностики. Как использовать получаемые биомаркеры с учетом их полезности при выявлении даже минимальных изменений в результате терапевтического вмешательства на малых выборках больных? Поскольку они не зависят от субъективной оценки состояния и имеют высокую воспроизводимость, большинство количественных МРТ-показателей — лучшие кандидаты для подтверждения эффекта и мониторинга результатов терапии [67, 68]. Данный вывод основан на предположении о том, что терапевтическое вещество будет вызывать одинаковую степень изменений при всех возможных методах оценки результатов, что, однако, не соответствует действительности. Вопрос остается открытым, и даже если он не будет решен, основным достоинством МРТ-исследования является меньшая зависимость получаемых результатов от сотрудничества с пациентом.

Наш энтузиазм использования МРТ в качестве инструмента для измерения результата терапевтического воздействия сталкивается со скептицизмом FDA (Food and Drug Administration — Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, США), выступающего против применения данного метода для оценки эффективности

препарата дрисаперсена при ПМД Дюшенна для скиппинга экзона 51. Законодательные органы выразили озабоченность по поводу многообразия платформ формирования изображений, различий в схемах визуализации и параметров получения изображений и процедур анализа изображений с использованием расчетных переменных МРТ. Высказаны замечания по контролю качества стабильности системы и оценке воспроизводимости результатов. Возражения касались того, что ожидаемый эффект от лечения должен обнаруживаться независимо от использованного оборудования. Также критиковались малые объемы выборок обследуемых. Были высказаны сомнения в корректности обнаруженных соотношений МРТ-переменных и результатов функциональных методов измерений. Интересно, что вновь возникла путаница между общим сигналом T2 от мышц и сигналом T2 от воды в мышцах. Удовлетворить требование FDA по полному согласованию технических процессов с вычислительными системами невозможно с технической точки зрения. Единственный способ убедить регулирующие органы в высокой информативности МРТ-измерений — предоставление доказанных результатов, которые позволяют создавать параметрические карты, а также демонстрация независимости полученных результатов относительно различий в условиях получения данных.

Обнаружение биомаркеров, позволяющих на ранних стадиях развития болезни предсказать ее исход, а также степень возможных функциональных или анатомических изменений, является окончательным доказательством в пользу информативности МРТ. Использование в онкологии индексов МРТ-спектроскопии показало, что с их помощью положительную реакцию на лечение можно предсказать до любого морфологического признака регресса опухоли [69–71]. Для нервно-мышечных болезней выделение подобных маркеров — дело будущего. Уровень активности мышечной фосфодиэстеразы — кандидатный маркер мышечной дистрофии, при которой происходит повышение уровня фермента в связи с увеличением метаболизма мембранных фосфолипидов [72–75], что проявляется очень рано при экспрессии дистрофина [16].

При нервно-мышечных болезнях имеется значительно больше причин для сопоставления функциональных и визуализационных биомаркеров. Любые отклонения и несоответствия между выбранными маркерами должны детально рассматриваться. Разгадка этих механизмов будет увеличивать наши знания, в то время как созерцание идеального совпадения обнадеживает, но ни к чему не приводит.

Роль магнитно-резонансной спектроскопии по ^{31}P в качестве метода оценки

МР-спектроскопия *in vivo* является мощным инструментом неинвазивного исследования энергетического метаболизма в скелетных мышцах с помощью анализа

по наиболее часто используемым атомам: водороду (^1H), фосфору (^{31}P) и углероду (^{13}C) [76]. МР-спектроскопия по ^{31}P выявляет и определяет количество ключевых энергетических метаболитов, фосфокреатина, аденозинтрифосфата (АТФ) и неорганического фосфата [77], а также измеряет внутриклеточный водородный показатель кислотности (pH). Метод позволяет определять концентрацию свободного цитозольного аденозиндифосфата (АДФ), окислительную и неокислительную продукцию АТФ. С помощью относительно простого использования поверхностных катушек, расположенных непосредственно на интересующем сегменте, МР-спектроскопия по ^{31}P дала множество бесценной информации об энергетических процессах в мышце, их регулировании во время физических упражнений и устойчивости к нарушениям в результате болезней [78–80]. До последнего времени МР-спектроскопия не играла существенной роли в качестве инструмента оценки результата воздействия при нервно-мышечных болезнях, за исключением прогрессирующей мышечной дистрофии.

За годы до открытия гена *DMD* (Duchenne muscular dystrophy, миодистрофии Дюшенна) и мутаций в гене дистрофина развитие нарушений в мышцах у мальчиков с ПМД Дюшенна было описано с помощью МР-спектроскопии по ^{31}P [72, 79, 81]. Интересно, что изменения получены в состоянии покоя, что значительно облегчает их выявление и свидетельствует в пользу аномалий на разных субклеточных уровнях: в митохондриях, сократительном аппарате и, самое главное, саркоплазматической мембране [74, 82–84]. Вследствие развития мышечной атрофии и жирового замещения общее количество Р-соединений низкое и снижается соотношение креатинфосфата/АТФ, что указывает на потерю сократительной способности ткани, повышается соотношение неорганический фосфат/креатинфосфат, приводя к увеличению уровня АДФ в состоянии покоя, что, в свою очередь, говорит о нарушении регуляции митохондриального оксидативного фосфорилирования и/или аномальной энергетической потребности для поддержания ионного гомеостаза, несмотря на поврежденные клеточные мембраны. Внутриклеточный pH становится щелочным, точнее, замечен пул неорганического фосфата при более высоком значении pH вследствие повреждения дистрофических клеток и/или расширения межклеточного пространства за счет фиброза [85]. Наконец, не последнюю роль играет повышение активности фосфодиэстеразы, в основном за счет глицерофосфохолина, что является показателем ускоренного мембранного фосфолипидного обмена в дистрофических миоцитах.

Динамическое наблюдение энергетических процессов в мышцах с определением ^{31}P ранее не проводилось для мальчиков с ПМД Дюшенна. У пациентов с ПМД Беккера и матерей — носителей ПМД Дюшенна—Беккера были зарегистрированы аномалии регу-

ляции pH во время и после физических упражнений, однако закономерностей изменений не выявлено [73, 83, 86–88]. Отмечено увеличение или нарушение гликолитической активности, в то время как окислительное фосфорилирование чаще всего оставалось нормальным [57, 73, 83, 89]. В целом результаты на фоне физической нагрузки были значительно более разрозненными и не отличались устойчивым постоянством, наблюдаемым в покое.

Тяжесть спектральных изменений по ^{31}P , измеренная в покое, коррелировала с тяжестью болезни, как это было описано ранее для женщин — носителей ПМД Дюшенна—Беккера, пациентов с ПМД Беккера и мальчиков с ПМД Дюшенна [73]. Более выраженные спектральные нарушения в мышцах сгибателей пальцев при ПМД Дюшенна были выявлены у пациентов, переставших передвигаться самостоятельно, по сравнению с амбулаторными пациентами [74]. Показано, что у больных с лице-плече-лопаточной мышечной дистрофией уменьшение отношения PCr/АТФ совпадает с моментом начала быстрого разрушения мышечных волокон и заменой их адипоцитами [48].

С другой стороны, при мониторинге изменений в течение 1 года в мышцах сгибателей пальцев у мальчиков с ПМД Дюшенна прогрессирование было значительным у пациентов, переставших передвигаться самостоятельно [66]. У животной модели мышечной дистрофии (собак породы золотистый ретривер) передняя конечность была лечена аденовирусом, вызывающим вирусопосредованный скиппинг U7-экзона, что приводило к повышению пика фосфодиэстеразы вплоть до нормальных значений [16].

Несмотря на неоднородность получаемых результатов, все наблюдения убедительно свидетельствуют о том, что спектроскопия по ^{31}P и особенно активность фосфодиэстеразы могут предоставить полезные биомаркеры для обнаружения реакции мышечной ткани на экспрессию дистрофина. МР-спектроскопия по ^{31}P оценивает целостность и стабильность саркоплазматической мембраны, а при выявлении определенной специфичности дополняет общую информацию, получаемую по жировой фракции и T2-картированию. Представляет интерес тот факт, что отношение PDE/АТФ повышается в мышцах пациентов с ПМД Беккера без значимого увеличения жировой инфильтрации [75]. Предполагается, что это может быть самым ранним маркером дистрофического процесса, в то время как сигнал T2 от воды не дает результатов в этой же выборке пациентов [30].

Методы формирования магнитно-резонансных изображений, находящиеся в стадии разработки

Исследования в области разработки методов формирования МРТ-изображений проводятся в 2 направлениях:

- определение новых МРТ-последовательностей, отражающих важные гистологические, физиологические и биохимические изменения, которые невозможно мониторировать имеющимися стандартными способами. В первую очередь это касается фиброза, микрососудистых нарушений;
- использование существующих или разработка новых контрастных агентов для применения в МРТ для получения дополнительных характеристик от пораженных скелетных мышц, например в T1-последовательности или при измерении диффузии.

Фиброз. Замещение поперечнополосатых мышц соединительной тканью, в основном коллагеном, является другим видом дегенеративных изменений, которые обнаруживаются в мышцах при хронических патологических процессах [90–92]. Фиброз непосредственно влияет на сократительную функцию мышц, причем в большей степени, чем жировая инфильтрация, чье вредоносное действие развивается опосредованно в результате утраты сократительной ткани. Фиброз эндомизия напрямую коррелирует с потерей моторной функции у пациентов с ПМД Дюшенна [93]. Это дает основание для терапевтических исследований, направленных на блокирование или обратное развитие патологических отложений соединительной ткани [94]. В оценке эффективности антифиброзных агентов существенную помощь могут оказать биомаркеры изображений МРТ. В отличие от жирового замещения, которое легко визуализируется и оценивается количественно по изображениям МРТ, проблема оценки интерстициального фиброза с помощью МРТ остается открытой. Многие из предложенных для этого способов не удовлетворяют предъявляемым требованиям.

Коллаген и другие интерстициальные макромолекулы так же, как их гидратные соединения воды, имеют очень короткое время в режиме T2s в диапазоне от 1 до нескольких сотен миллисекунд [95, 96]. При стандартной или быстрой визуализации с TEs от 1 до нескольких миллисекунд МРТ-сигнал от этих спинов полностью исчезает и не вносит вклад в полученные изображения. Плотные соединительные ткани, такие как сухожилия или рубцы, представляются как пробел сигнала и легко обнаруживаются при обычной визуализации. Интерстициальный фиброз уменьшает интенсивность сигнала вокселя пропорционально фракционному заполненному объему. На стандартных изображениях фракции, которые, как правило, должны быть в пределах нескольких процентов, представляются скрытыми посредством пространственного отношения МРТ-сигнала ткани к положению вокселя, связанного с множествами поверхностей принимающих катушек. Попытки внести изменения для получения этих фракций, хотя бы удовлетворительных визуально, до сих пор не увенчались успехом из-за потери сигнала, генерируемого скоплениями соединительной ткани. Это приводит к аномальному распределению

интенсивностей сигналов, наблюдаемых в мышцах на далеко зашедших стадиях болезни с выраженным фиброзом. Гетерогенность мышечного сигнала, особенно на T2-ВИ, является характерной особенностью дистрофичных мышц и, вероятно, отражает локальный фиброз, который на данной стадии определить невозможно [3, 74, 97].

Затухание сигнала в режиме T2 от ткани является сложным мультиэкспоненциальным процессом. Во время измерения затухания сигнала T2 на очень высокой скорости, как показано на моделях животных, генерируется спектр сигналов T2, отражающий экстракороткий компонент, связанный с макромолекулами ткани [98, 99]. Обследование людей в режиме ISIS-CPMG позволило идентифицировать внутри- и внеклеточные компоненты, но до сих пор не удалось получить очень короткий пул спинов T2 [100].

Методика переноса намагниченности широко используется как способ управления контрастом изображения. Исследования намагниченности были выполнены с помощью диполь-дипольного взаимодействия или истинного химического обмена между подвижными или полуподвижными пулами спинов. Применительно к биологическим тканям измеряют скорость обмена между свободной водой и макромолекулами, а также относительные размеры анализируемых пулов [9, 101]. В прошлом было много попыток связать различия магнитизации в ткани с содержанием коллагена, особенно в печени. Однако эти результаты не были достоверными. Недавно при применении ускоренных последовательностей с оптимизированными схемами насыщения были получены обнадеживающие результаты с высокой корреляцией различий магнитизации с фиброзом в печени [102]. Перенос магнитизации имеет высокий уровень в скелетных мышцах, его происхождение и механизмы развития были изучены несколькими группами ученых у здоровых людей, а также при старении и заболеваниях мышц, однако связь изменений с фиброзом по-прежнему остается до конца не ясной [103–108]. Много вопросов вызвало обнаружение обратной корреляции различий магнитизации с возрастными изменениями у здоровых людей. Впрочем, это обнаружено для одного определенного смещения частоты и применяемой мощности магнита, результаты которого не могут быть экстраполированы для других режимов насыщения [105]. Обращал на себя внимание факт отрицательного влияния жировой инфильтрации на перенос различий магнитизации [103]. В попытке улучшить специфичность при визуализации коллагена перенос намагниченности был объединен с двойной квантовой фильтрацией и ультракоротким TE (UTE) изображением [109, 110]. Получены обнадеживающие результаты, однако пока их следует рассматривать как предварительные.

Описанному способу исследования не уделяли должного внимания, пока он не стал популярным для

количественного определения миокардиального фиброза, замещения миоцитов соединительной тканью и, соответственно, обнаружения расширения интерстициального пространства. Фиброз можно легко количественно измерить при внутривенном введении контрастного агента, меченного гадолинием (Gd), — низкомолекулярного гадолиниума, наподобие Gd-DTPA или Gd-DOTA, который быстро диффундирует в интерстициальное пространство, где его концентрация уравнивается с концентрацией в плазме. Через несколько минут после инъекции в транзитной фазе распределения псевдоустойчивого Gd-контрастного агента происходит увеличение в миокарде скорости релаксации в T1 по отношению к увеличению скорости релаксации в T1 в плазме, которое позволяет измерить объем внеклеточной фракции ткани [111, 112]. Несмотря на то, что метод является косвенным, он остается основным для количественного определения скоплений патологической соединительной ткани в миокарде. Необходимое условие для использования методов количественной оценки фиброза — отсутствие внеклеточного отека и клеточных нарушений, таких как некроз, воспаление или дистрофия, которые могут привести к накоплению Gd-контрастного агента или его проникновению в миоциты. В этих случаях или когда предполагается наличие структурной перестройки, объем распределения Gd-контрастного агента не может больше использоваться в качестве суррогатного маркера фиброза.

Тот же метод и принципы оценки можно использовать для косвенной оценки интерстициального фиброза в скелетных мышцах, но пока в литературе нет конкретных сообщений. Исследователи могут столкнуться с определенными методическими сложностями, так как в скелетных мышцах меньше объем внеклеточного пространства, выраженность фиброза не столь велика, а также нет референсных значений для сигнала от крови, который легко доступен в полости желудочка сердца.

По той же причине, а также потому что концентрация натрия (Na) в 10 раз выше во внеклеточном пространстве относительно внутриклеточного, общая концентрация Na в миокарде возрастает при фиброзе и для его обнаружения можно использовать МР-спектроскопию по ^{23}Na [113]. Поскольку данный способ оценки является косвенным и основан на неспецифических изменениях, в случае увеличения концентрации Na в тканях при формулировке заключения во внимание принимаются те же предостережения, что и при исследованиях с Gd-контрастным агентом [114].

Сигнал МРТ может быть чувствительным к движению даже на субмиллиметровом уровне и использован для отслеживания распространения волны давления. Скорость распространения волны давления возрастает по мере увеличения жесткости ткани. Следовательно, метод может быть использован для оценки вязкоэлас-

тичных свойств ткани [115]. Обоснованно использование МРТ-эластографии в качестве утвержденного метода для количественной оценки фиброза печени. Метод был успешно перенесен на скелетную мускулатуру [116]. Скелетная мышца является дифференцированной структурой в сложной среде. Представляется важным связать скорость волны только с мышечной тканью из того же вокселя. Все элементы сократительных и несократительных структур мышцы должны иметь вклад в скорость волны и ее поддержание в любой точке мышцы. Эффект жировых отложений и инфльтрации существенно влияет на результаты, так же как наличие отека и воспаление мышцы [117]. Все это может привести к появлению проблем как при оценке результатов, так и при выполнении исследования. Следует иметь в виду, что эластические свойства ткани с сопоставимыми результатами можно оценить с помощью ультразвукового исследования, причем с явным преимуществом этого метода за счет его простоты [118].

Предложен прямой способ определения наличия фиброза с использованием малых пептидов, меченных Gd и имеющих высокое сродство к коллагену [119]. Представленные результаты были убедительными [120, 121], но способы введения и токсичность, скорее всего, ограничат их использование на экспериментальных моделях животных, чем объясняется недостаточное применение метода до настоящего времени.

Самый перспективный способ визуализации фиброза — введение UTE-последовательностей, которые работают в TE очень близко к 0 и позволяют получить сигнал МРТ от спинов с очень коротким T2 (около 1 мс и меньше) [122]. Эти последовательности имеют потенциал для непосредственной визуализации фиброза, что является главным преимуществом по сравнению со всеми остальными способами, основанными на косвенной оценке фиброза. Короткие компоненты сигнала T2 могут быть выявлены либо простым удалением стандартного референсного изображения с длинным TE, двухдиапазонной сатурации, адиабатической инверсии [123], либо путем извлечения короткой фракции сигнала T2 из мультиэкспоненциального приближения многократного получения градиента-эхо, охватывающего широкий спектр TEs с реконструкцией параметрических карт, которые корректируются не только для эффектов разделения T2*, но также и для липидных вмешательств [124, 125].

Визуализация в UTE показала, что можно анализировать кортикальный слой костей, глубокие слои хрящей, связок, сухожилий и апоневрозы [126–128]. Продемонстрирована возможность визуализации рубцов в миокарде после инфаркта [129]. Имеются данные о визуализации соединительной ткани в скелетных мышцах и попытках ее количественной оценки у здоровых лиц, пожилых людей и пациентов с миопатией [64, 124, 130]. Многие вопросы остаются по-прежнему нерешенными, в частности возможность совмещения

с сигналами от жировых компонентов. Самой большой проблемой является отделение фракции пула коротких T2-молекул для отнесения к соединительной ткани. Тот же вопрос остается и для других подходов, в частности для переноса магнитизации, в значительной степени контраста, генерируемого с помощью сократительных белков. Выше упоминалась возможность сочетания двойной квантовой фильтрации, переноса магнитизации и получения UTE-изображения для извлечения конкретного сигнала, связанного с коллагеном [109, 110].

Перфузия и оксигенация. Функциональная МРТ является «золотым стандартом» неинвазивной оценки патологии головного мозга при заболеваниях головного мозга и при исследованиях когнитивных функций в нейронауках [131, 132]. Похожие подходы были разработаны и успешно используются для исследования скелетных мышц [133, 134]. Тканевая перфузия может быть измерена неинвазивно с помощью набора методов, основанных на так называемых меченых артериальных спинах (arterial spin labelling, ASL), которые магнитным способом помечают артериальную кровь в исследуемой ткани. Это приводит к изменению намагниченности ткани пропорционально перфузии. Поскольку метод ASL не требует внутривенного введения контраста, измерение перфузии может проводиться каждые несколько секунд в течение длительного времени [135, 136]. Это особенно полезно для изучения мышечной перфузии, которая может изменяться в диапазоне от 1 до 20 и более в течение десятка секунд. ASL-перфузия очень чувствительна к шумам и легко искажается при движении. В большинстве исследований ASL-перфузию измеряли после физической нагрузки или после ишемии. Если есть возможность не учитывать время исследования, перфузия мышцы в состоянии покоя может быть измерена при усреднении ASL-сигнала в течение нескольких минут [133, 137]. Контраст BOLD (blood oxygen level dependent — зависимый уровень кислорода крови) [132], обладающий способностью обнаруживать активацию мозга, позволяет определять оксигенацию капиллярной и венозной крови в скелетных мышцах и полуколичественно оценивать насыщение крови кислородом [138, 139]. В отличие от большинства случаев применения контраста BOLD в исследованиях головного мозга, результат анализа скелетных мышц может быть отрицательным при глубокой кислородной десатурации (падение степени насыщения крови кислородом) и положительным, когда выделение тканями кислорода уменьшается [140–144]. Общий и капиллярный объемы крови влияют на сигнал от контраста BOLD, что осложняет интерпретацию результатов [145]. Потребление мышцей кислорода можно определить по принципу Фика, при котором вычисляют разность тканевой перфузии и артериовенозного содержания кислорода. Перфузия определяется с помощью ASL, тогда как содержание кислорода в крупных

сосудах вычисляется из сигнала T2 от крови или точных измерений [146–148].

Несколько состояний, влияющих на скелетные мышцы, были исследованы с помощью функциональной томографии, в частности острая и хроническая ишемия [149–152], диабет [153], прогрессирующий системный склероз (склеродермия) [154] и синдром длительного сдавления [155].

Использование функциональной МР-визуализации при нервно-мышечных болезнях до сих пор было ограничено. Роль в определении мышечной гипоперфузии была показана для гликогеноза 3-го типа, когда нарушение митохондриального окислительного фосфорилирования было идентифицировано посредством комбинированных динамических функциональных и спектроскопических МР-изменений [156].

В будущем потенциал данной методики может быть расширен. Одно из осложнений фиброза — его развитие вокруг артериол, что приводит к нарушению вазодилатации. При изучении мышц ног гипертонических животных было показано, что ASL позволяет количественно точно определить изменение вазодилатации [157]. Изменение перфузии является патологической особенностью при ПМД Дюшенна [158], в частности связанной с нарушением образования оксида азота [159, 160], также отчасти из-за фиброзных изменений [91]. Возможность неинвазивно измерять в клинических исследованиях перфузию скелетных мышц у пациентов с ПМД Дюшенна представляет интерес в случаях необходимости оценки эффективности сосудорасширяющих и антисклеротических препаратов [94, 161, 162].

Режим T1 до и после гадолиния. Кинетика изменений релаксации T1 после стандартной инъекции низкомолекулярного Gd-контрастного вещества может быть отслежена для получения количественных характеристик перемещения контраста из сосудистого в интерстициальное пространство, или, точнее, в доступное внесосудистое пространство [163–165]. В идеале, вклад артериальной функции должен быть зарегистрирован одновременно с усилением сигнала от ткани. На практике, если это предусмотреть заранее, собрать данные не представляет никаких трудностей. Ишемия, некроз, воспаление и фиброз могут быть хорошо оценены по соответствующим изменениям в скорости перемещения контраста и объеме его распределения (низкая скорость и нормальный объем, низкая скорость и увеличенный объем, высокая скорость и увеличенный объем, нормальная скорость и увеличенный объем, соответственно). В животной модели мышечной дистрофии у собак дистрофические мышцы характеризуются параллельным возрастанием скорости перемещения Gd и объема распределения, которое проявляется увеличением пика усиления без изменения временного параметра [4].

Даже при том, что процедура внутривенного введения стабильного контрастного вещества малоинвазивна и безопасна, этот метод теряет популярность.

Несмотря на ценность дополнительной информации по сравнению с T2-картированием, в настоящее время такое исследование выполняют редко в связи с высокой стоимостью, значительными временными затратами для получения адекватных записей, а также негативным отношением к инъекциям любого рода в педиатрической практике.

Продолжительная остаточная намагниченность альбумина, связывающегося с Gd-контрастом, показала себя как многообещающий метод для оценки плотности клеточной мембраны и повреждения миоцитов у mdx-мышей в дистрофичных мышцах [166, 167]. Данный способ оценки по-прежнему ограниченно используется в доклинических исследованиях.

В последнее время возрос интерес к исследованию «пре-гадолиний» — анализу нативного внутреннего сигнала T1 скелетных мышц, который долго не рассматривался специалистами, поскольку первоначально при визуализации поперечнополосатых мышц считалось, что воспаление или некроз не отражается при MPT. Было показано увеличение нативного или внутреннего сигнала в T1 от дистрофичных мышц на модели миодистрофии у собак породы золотистый ретривер [3]. Для дилатационных и гипертрофических кардиомиопатий характерно увеличение нативного сигнала в T1, который, скорее всего, в большей степени отражает повреждение кардиомиоцитов, чем развитие интерстициального фиброза [142, 168, 169]. Наблюдение подтверждается уменьшением сигнала T1, измеренного в коллагеновых гелях (Caldas de Azeijo, личное сообщение). Эти примеры нуждаются в дополнительном изучении, прежде чем рекомендовать внутренний сигнал T1 в качестве определенной характеристики скелетных мышц. Это внушает оптимизм с учетом надежности и скорости измерения T1 на современных сканерах.

Диффузия. С первого описания в 1965 г. E.O. Stejskal и J.E. Tanner диффузионно-взвешенное исследование (diffusion weighted imaging, DWI) широко применяется как в различных областях медицины, так и в немедицинских отраслях [170]. Данный метод позволяет изучать твердые материалы, модели животных и ткани организма человека. Возможность оценивать перемещение протонов воды в пробирке и естественных условиях с использованием диффузионно-чувствительного градиента импульсных полей позволила применять этот метод для исследования микроструктурных изменений за пределами разрешения обычной MPT, т. е. в диапазоне нескольких микрон. Различные параметры исследуемого объекта можно оценить в зависимости от схемы и стратегии анализа данных градиента диффузии импульсного поля, полученных при DWI: видимый коэффициент диффузии и ее направление, вероятность смещения, границы ограничения диффузии (например, диаметр поры или клетки), вероятность перехода между пространствами,

ограниченными полупроницаемыми мембранами. Около 2 десятилетий назад метод DWI начали использовать для исследования скелетных мышц. Подавляющее большинство исследований, проводимых на мышечной ткани, было основано на однократных диффузионно-взвешенных эхо-планарных изображениях импульсных последовательностей. Для кодирования процесса диффузии применяли главным образом моно- или биполярные градиенты диффузии в последовательностях типа спин-эхо. Немногие исследования скелетных мышц были проведены с использованием последовательностей типа стимулированного эхо. Существует ряд проблем, с которыми необходимо справиться при применении DWI скелетных мышц: чтобы получить воспроизводимые и надежные параметры диффузии, необходимо добиться надежного подавления жира. В то время как большинство имеющихся методов (спектральное избирательное подавление жира, восстановление инверсии на основе подавления жира) эффективно подавляет основной пик жира, олефиновый пик жира, близкий к пику воды, способствует появлению возмущающих артефактов в DWI. Кроме того, в результатах DWI отсутствует высокое соотношение сигнал/шум, обусловленное подавлением жира, не применяются диффузионно-чувствительные градиенты и относительно длительное время эхо-сигналов (TE) по сравнению с коротким временем T2 релаксации протонов воды в мышцах. Многие параметры последовательностей DWI оказывают существенное влияние на результаты, что привело к сообщениям о большом диапазоне зарегистрированных значений различных параметров DWI.

Несмотря на все эти технические особенности, в результате DWI скелетных мышц пациентов могут появиться потенциально интересные количественные параметры, многие из которых коррелируют со структурными изменениями, анализ которых недоступен при использовании других MPT-методов. Коэффициент диффузии, фракционная анизотропия и направление главного собственного вектора можно вычислить непосредственно по тензору диффузии воксель-за-вокселем, как это было показано в нескольких исследованиях мышц рук, ног и туловища [171–173]. Сообщалось, что для оценки ориентации мышечных волокон используется диффузионная тензорная томография, результаты которой коррелируют с предполагаемой мышечной архитектурой [171, 174, 175]. Использование более сложных математических моделей для прогнозирования процесса диффузии с помощью MPT мышц позволило также оценить размеры мышечных волокон и диффузионные свойства клеточных мембран [176, 177]. Надежность параметров DWI для скелетных мышц недавно проверяли посредством оптимизации параметров последовательности DWI и процедуры постобработки для получения более надежных повторных измерений и расчета параметров

DWI [178–180]. В зависимости от схемы кодирования диффузии в скелетных мышцах также могут быть определены параметры, связанные с перфузией и микроциркуляцией [44, 181].

Хотя большинство DWI в скелетных мышцах было проведено у здоровых добровольцев, в нескольких случаях метод DWI также был использован при мышечных патологиях [176, 177, 182–184] для изучения возможного применения полученных количественных параметров DWI в качестве биомаркеров. Неоднократно было показано, что коэффициент диффузии увеличивается при воспалительных миопатиях, тогда как по данным фракционной анизотропии были получены противоречивые результаты [185, 186]. Однако нет сообщений о результатах длительной оценки активности болезни и ответа на лечение. В исследовании ПМД Дюшенна параметры DWI коррелировали с клиническими признаками и другими МРТ-биомаркерами тяжести болезни [182], но при этом не сообщалось ни о результатах длительной оценки прогрессирования заболевания, ни о дополнительных показателях параметров DWI, превышающих значимость других МРТ-биомаркеров. Изменения коэффициента диффузии и фракционной анизотропии у пациентов с ПМД Дюшенна отражают в основном степень жировой инфильтрации мышц. В еще одном недавнем исследовании, также у мальчиков с ПМД Дюшенна, учитывались эффекты сигнала шума от жировой ткани, что позволило выявить увеличение коэффициента диффузии и, собственно говоря, λ_3 , но только в передней большеберцовой мышце [187]. На модели мышечной дистрофии у мышей результаты генетического лечения мониторировались с помощью мультипараметрической МРТ, включая анализ параметров DWI [15]. Однако дополнительные параметры DWI, полученные совместно с результатами МРТ, не были оценены в этом исследовании. По мнению авторов, будущее применение DWI в качестве биомаркера или для оценки результата воздействия представляется перспективным на ранних стадиях заболевания и направлено на выявление нарушений нормальной архитектоники мышечных волокон.

Оценка текстуры изображения. Анализ текстуры изображения – самостоятельная область исследований, сфера деятельности для специалистов, которые пока мало сталкивались с количественной оценкой мышечной ткани при болезнях. Жировая фракция в мышцах и T2-изменения являются чувствительными биомаркерами, однако они очень неспецифичны с точки зрения отношения собственно к заболеванию или механизму его развития. Возможно, что едва уловимые характеристики распределения интенсивности сигнала в отдельных мышцах обладают дополнительной информацией о том, что глаз человека не может различить, и могут помочь выявить алгоритмы анализа текстуры.

В дистрофичной мышце происходят общие патологические изменения, которые приводят к прогрес-

сирующей структурной дезорганизации ткани. Потеря нормальной мышечной структуры отражается в виде аномальной дисперсии интенсивности сигналов МРТ от мышц. Гетерогенность сигнала в дистрофичной мышце была впервые замечена в гипертрофированном и ослабленном миокарде модели хомяка с гамма-саркогликанопатией [188]. Большую, чем в норме, флуктуацию сигнала в мышце, выявленного посредством увеличения коэффициента вариации, можно рассматривать как момент нулевого порядка аномалии текстуры со случайным пространственным распределением. Аналогичные наблюдения были обнаружены в скелетных мышцах собак породы золотой ретривер с мышечной дистрофией [3] и мальчиков с ПМД Дюшенна [21, 74]. Как говорилось выше, это по крайней мере частично может отражать фиброз мышцы, который является важным компонентом дистрофической перестройки. В значительно меньшей степени нормальное старение связано с небольшим, но существенным увеличением гетерогенности сигнала от скелетных мышц [189], которое предполагает, что этот показатель обладает диагностической чувствительностью. Интересно, что комбинирование T2-ВИ с алгоритмами простого анализа текстуры позволяет различать мышечные дистрофии, связанные с разными мутациями генов, на моделях мышей [12].

Возможно, мышцы пациентов с врожденными структурными центронуклеарными миопатиями имеют определенную текстуру, определяемую уже при визуальном анализе (R.Y. Carlier, личное сообщение). Для выявления патологического текстурного шаблона, характерного для дистрофических и врожденных миопатий, была создана рабочая группа MYO-MRI (www.myo-mri.eu) в рамках спонсорского гранта Европейского сотрудничества в области науки и техники (European Cooperation in Science and Technology, COST). Были получены положительные результаты на модели миодистрофии у золотистых ретриверов [190, 191]. В этом исследовании показано, что вычисление матриц совместной встречаемости – более эффективное описание локальной текстуры мышц по сравнению с характеристиками, основанными на моментах, матрицами группового кодирования или локальной анизотропией. Аналогичные результаты приводятся и в других исследованиях по оценке текстуры изображения [192]. Следует отметить, что матрицы совместной встречаемости обладают чувствительностью по отношению к количеству и размерам вокселей. Этот аспект был главным вопросом в вышеупомянутом исследовании. В будущем необходимо определить место полученных результатов текстурного анализа для оценки аномалий скелетных мышц.

Препятствие на пути использования методов текстурного анализа в многоцентровых испытаниях – сильная зависимость полученных текстур от параметров применяемых последовательностей и особенностей

МРТ-аппарата. Необходимо отметить вклад влияния пространственного разрешения изображения в текстуру, которая будет отображаться различно в зависимости от размера вокселя: если воксель имеет большой размер, текстуры могут не проявляться; если воксель имеет малый размер, уровень шума может превысить информативность текстуры. Тщательный контроль и согласование параметров исследования — необходимые условия для любого дальнейшего использования текстурного анализа для оценки результатов.

**Последние технические разработки
и их вклад в использование магнитно-резонансной
томографии в качестве метода оценки результата
воздействия (терапии)**

Обработка и анализ изображений мышц, особенно МРТ мышц, все чаще используются в качестве метода оценки результата. Поскольку она является по-прежнему относительно новой дисциплиной и обладает большим потенциалом, предполагается ее обязательное развитие в нескольких направлениях. Расширение спектра инструментов и возможностей исследования, доступных для дальнейшей характеристики нормальных и пораженных мышц, считается приоритетной задачей, рассмотренной выше. Разработка протоколов для исследования конкретных мышц, особенно лежащих глубоко, приобретает все большее значение. Было предложено несколько методов для оценки структуры и состава диафрагмы *in vivo* [193]. Анатомические особенности и дыхательные движения делают сложным исследование диафрагмы, но ее функциональная роль и поражение при многих заболеваниях оправдывают затрачиваемые усилия [194]. Другим примером является оценка изображений мышц при терапии стволовыми клетками окулофарингеальной мышечной дистрофии [97], требующей формирования изображений высокого разрешения мышц гортани, в которую вводили гомологичные миобласты, а также мониторинга развития подсаженных клеток, пусть даже опосредованно, путем анализа их возможного влияния на прогрессирование дегенеративных изменений.

Объем дополнительной информации о структуре и функции мышцы, который МРТ способна обеспечить в будущем и который отчасти можно получить уже сегодня, а также доступность для исследования новых анатомических областей ограничивают внедрение расширенных исследований, в первую очередь из-за увеличения времени, необходимого для выполнения самих исследований. Обсуждаемый вопрос имеет экономическую (стоимость исследования), практическую и этическую составляющие (согласие пациента на сканирование продолжительностью > 1 ч). Последнее является одной из основных проблем при исследовании детей. Таким образом, множество усилий направлено: 1) на уменьшение времени получения изображений; 2) возможность регистрации нескольких

МР-параметров и потенциальных биомаркеров в ходе одного исследования. Во многих случаях эти 2 подхода могут быть объединены.

Уменьшение времени сканирования. Для ускорения сканирования последовательностей используют многосрезовое сканирование пространственной информации массивом параллельных принимающих катушек в целях сокращения количества отдельных последовательностей с пропорциональным уменьшением времени сканирования. Разные схемы параллельного формирования изображений были предложены еще 20 лет назад [195–197] и сегодня используются довольно часто, но все еще не систематически. Уже 10 лет в обработке сигналов применяется новая математическая концепция обработки МР-изображения, известная как «сжатое считывание» [198, 199]. Идея заключается в использовании пространственных или временных промежутков при формировании изображений основной мишени и инкогерентности артефактов, образующихся в результате нерегулярной выборки, для того чтобы пропустить большую часть полученной матрицы, но при этом реконструировать изображение с минимальной потерей качества. Применение последовательности Dixon при МРТ мышц было недавно продемонстрировано у пациентов с ПМД Беккера с фактором ускорения в 6 раз больше по сравнению со стандартными схемами формирования изображений [200, 201]. В случае, когда комбинируется сбор данных в недекартых координатах, таких как радиальная выборка, может быть получен фактор ускорения в 10 раз и больше, практически без потери качества изображения [202].

Для получения сигнала в T2 от воды недавно были предложены новые, более конкретные последовательности, основанные на режиме устойчивого состояния свободной прецессии (steady-state free precession, SSFP) [61, 203, 204]. Один из таких подходов основан на результатах модифицированного метода SSFP, предложенного O. Bierl и соавт. [203]. Метод позволяет получить быстрые селективные картированные изображения воды в режиме T2 скелетных мышц в 3D и может быть достаточно легко установлен на коммерческих сканерах [204]. Недавно был предложен новый метод получения изображений в режиме T2 с использованием тройного устойчивого режима эхо (triple echo steady state, TESS) для снижения чувствительности к движениям, которые обычно сопровождают все неустойчивые стационарные методы, включая T2-pSSFP [61]. TESS-T2 не только свободен от типичного T1/T2-смещения, общего для всех монопараметрических методов стационарного режима, но также отличается высокой нечувствительностью к неоднородности B1-поля. Эти новые методы, конечно, совместимы с параллельным формированием изображений визуализацией и ускоренным считыванием.

Синхронное получение переменных. Концепция получения нескольких представляющих интерес

MPT-параметров в одной последовательности не является новой [205–207] и была продемонстрирована при одновременном сборе данных по функциональной визуализации, оценке перфузии и насыщения кислородом, а также динамической ^1H - и ^{31}P -спектроскопии скелетных мышц [208]. Подобный подход не только экономит время, но и позволяет регистрировать комбинации динамических переменных, что определяется удовлетворительной воспроизводимостью каждой из анализируемых переменных при повторных исследованиях. Также было показано, что из таких мультипараметрических функциональных MPT-протоколов можно выделить данные о насыщении кислородом мышцы [209]. Эти мультипараметрические инструменты выявляют аномальную перфузию, вносящую свой вклад в снижение окислительного фосфорилирования у пациентов с гликогенозом 3-го типа [156].

Для характеристики мышц одновременное мультипараметрическое картирование — перспективный способ дальнейшего ускорения количественных оценок. Наша команда исследовала возможность применения быстрой (2 с на 1 изображение) последовательности мультипараметрического восстановления изображения со сбалансированной инверсией SSFP (IR-bSSFP), чтобы отследить быструю физиологическую адаптацию скелетных мышц во время стресса или активации [210]. Эта последовательность состоит из инверсии импульса, получаемого с помощью нескольких сбалансированных изображений SSFP, в то время как сигнал становится устойчивым [211]. Режимы T1, T2 и M0 (относительная плотность протонов) могут быть получены из моноэкспоненциального трехпараметрического приближения серии изображений. Сигнал IR-bSSFP со временем может быть более точно смоделирован с использованием уравнения Блоха или вычисления EPG formalism, чтобы учесть инструментальные ошибки (неоднородности B1⁺ и B0, эффективность инверсии, неидеальный профиль среза) [12, 212, 213] и состав ткани (компоненты вода/жир).

Жировая фракция и T2-картирование — наиболее изученные МР-биомаркеры, которые могут быть наиболее полезными для исследований мышц. Получение изображений, предоставляющих информацию от жировой фракции, как и T2-картирование, станет большим шагом вперед.

Недавно был предложен метод IDEAL—CPMG, который сочетает в себе последовательности IDEAL и Carr—Purcell—Meiboom—Gill (CPMG) [214]. Он позволяет получить отдельные изображения воды и жира для каждого времени эхо-сигнала. Затем этот метод использует экспоненциальное приближение для разделения сигнала от воды на T2 и жира на T2 для проведения количественной оценки. Жировые фракции получают по анализу плотности протонных изображений от жира и воды при реконструкции с применением

ем IDEAL-метода. Тем не менее неидеальная форма RF-импульса и неоднородность RF-поля могут привести к образованию стимулированных эхо и недостоверному определению сигнала T2 при использовании простой экспоненциальной модели. Кроме того, дизайн этой последовательности импульса вынуждает применять более высокую пропускную способность считывания данных и, следовательно, снижает коэффициент сигнал/шум на изображении.

Другой подход для одновременного измерения сигнала T2 от воды и жировой фракции основан на использовании мультикомпонентного приближения стандартной MSME-последовательности с учетом разницы ослаблений T1 и T2 между протонами жира и воды. Экспоненциальные модели могут быть применены для описания разделения сигнала MSME, как это было сделано в работе N. Azzabou и соавт. [28]. Наша команда недавно предложила использовать только последовательность MSME и основанное на вычислении EPG приближение для одновременного получения сигнала T2 от жировой фракции и от воды (Marty и соавт., NMRBiomed, в печати). Продолжается проверка достоверности этого решения относительно стандартных раздельных способов получения информации, и есть надежда, что их использование в протоколах сократит время последовательности приблизительно на 50 %.

Выводы

Несмотря на высокую стоимость, невозможность проведения исследования у постели больного, технологические сложности метода и в ряде случаев сложность интерпретации, метод обследования на основе MPT-изображений и спектроскопии все больше раскрывает свои возможности в качестве способа оценки состояния скелетных мышц. Роль анализа изображений в качестве метода измерения различных параметров мышц при клинических исследованиях может продолжать восприниматься как отстающая в сравнении с вкладом данной техники в оценку других органов, таких как головной мозг. В значительной степени это косвенно связано с меньшей распространенностью мышечной патологии, низким уровнем доступности сканеров и отсутствием однозначных терапевтических перспектив. Два последних обстоятельства постепенно отходят на 2-й план. Параметрические изображения в режиме T2 жировой фракции и воды в мышцах позволяют неинвазивно получить количественные характеристики дегенеративных изменений в скелетных мышцах и определить активность болезни. Сегодня эти 2 МР-биомаркера широко используются в протоколах исследования мышц. Несмотря на известные недостатки и ограничения метода, показана достаточно высокая информативность дополнительных характеристик каждой ткани, что позволяет применять MPT-визуализацию в оценке

эффекта лечения в новых терапевтических исследованиях. Современные технические разработки направлены на сокращение времени получения последовательностей и их характеристик при одномоментной оценке сигнала от жировой фракции и в T2, что значительно уменьшит время всего исследования. Использование методов в многоцентровых исследованиях предполагается уже в ближайшие месяцы и годы, что повысит доверие пациентов к процедуре МРТ, особенно в педиатрической практике.

Уменьшение времени последовательностей, позволяющих получить изображения жировой фракции, и T2-картирование позволят освободить время для обнаружения и включения в клинические протоколы других биомаркеров, таких как определение уровня фосфодиэстеразы при ^{31}P -спектроскопии, мышечная артериальная перфузия со спин-маркировкой и/или исследование

интерстициального фиброза в УТЕ-последовательностях. МРТ — уникальный инструмент, позволяющий одномоментно неинвазивно исследовать анатомию, структуру, биохимию и функцию поверхностных и глубоко расположенных скелетных мышц. Благодаря технологическим инновациям открываются новые возможности, которые должны широко внедряться в клиническую практику, особенно в качестве инструмента для оценки результатов клинических испытаний.

Финансирование

Статья написана при поддержке Европейского гранта COST Action BM1304 «Применение технологий МИО-МРТ в визуализации и спектроскопии при нервно-мышечных болезнях: сотрудничество по вопросам оценки исходов и распознавания шаблонов для диагностики и развития терапии» (<http://myo-mri.eu/>).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- McIntosh L.M., Baker R.E., Anderson J.E. Magnetic resonance imaging of regenerating and dystrophic mouse muscle. *Biochem Cell Biol* 1998;76:532–41.
- Tardif-de Gery S., Vilquin J., Carlier P. et al. Muscular transverse relaxation time measurement by magnetic resonance imaging at 4 Tesla in normal and dystrophic dy/dy and dy (2j)/dy (2j) mice. *Neuromuscul Disord* 2000;10:507–13.
- Thibaud J.-L., Azzabou N., Barthelemy I. et al. Comprehensive longitudinal characterization of canine muscular dystrophy by serial NMR imaging of GRMD dogs. *Neuromuscul Disord* 2012;22(Suppl 2):85–99.
- Thibaud J.-L., Monnet A., Bertoldi D. et al. Characterization of dystrophic muscle in golden retriever muscular dystrophy dogs by nuclear magnetic resonance imaging. *Neuromuscul Disord* 2007;17:575–84.
- Wang J., Fan Z., Vandenborne K. et al. A computerized MRI biomarker quantification scheme for a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *Int J Comput Assist Radiol Surg* 2013;8(5):763–74.
- Pacak C.A., Walter G.A., Gaidosh G. et al. Long-term skeletal muscle protection after gene transfer in a mouse model of LGMD-2D. *Mol Ther* 2007;15:1775–81.
- Walter G., Cordier L., Bloy D. et al. Noninvasive monitoring of gene correction in dystrophic muscle. *Magn Reson Med* 2005;54:1369–76.
- Yokota T., Lu Q.-L., Partridge T. et al. Efficacy of systemic morpholino exon-skipping in Duchenne dystrophy dogs. *Ann Neurol* 2009;65:667–76.
- Henkelman R.M., Stanisz G.J., Graham S.J. Magnetization transfer in MRI: A review. *NMR Biomed* 2001;14:57–64.
- Pratt S.J., Xu S., Mullins R.J. et al. Temporal changes in magnetic resonance imaging in the mdx mouse. *BMC Res Notes* 2013;6:262.
- Vohra R.S., Mathur S., Bryant N.D. et al. Age-related T2 changes in hindlimb muscles of mdx mice. *Muscle Nerve* 2015;53(1):84–90.
- Martins-Bach A.B., Malheiros J., Matot B. et al. Quantitative T2 combined with texture analysis of nuclear magnetic resonance images identify different degrees of muscle involvement in three mouse models of muscle dystrophy: mdx, Largemyd and mdx/Largemyd. *PLoS One* 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0117835.
- Vohra R., Accorsi A., Kumar A. et al. Magnetic resonance imaging is sensitive to pathological amelioration in a model for laminin-deficient congenital muscular dystrophy (MDC1A). *PLoS One* 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0138254.
- Mathur S., Vohra R.S., Germain S.A. et al. Changes in muscle T2 and tissue damage after downhill running in mdx mice. *Muscle Nerve* 2011;43:878–86.
- Park J., Wicki J., Knoblauch S.E. et al. Multi-parametric MRI at 14T for muscular dystrophy mice treated with AAV vector-mediated gene therapy. *PLoS One* 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0124914.
- Le Guiner C., Montus M., Servais L. et al. Forelimb treatment in a large cohort of dystrophic dogs supports delivery of a recombinant AAV for exon skipping in Duchenne patients. *Mol Ther* 2014;22:1923–35.
- 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.
- Ha D.-H., Choi S., Kang E.-J. et al. Diffusion tensor imaging and T2 mapping in early denervated skeletal muscle in rats. *J Magn Reson Imaging* 2015;42:617–23.
- Heemskerk A.M., Strijkers G.J., Drost M.R. et al. Skeletal muscle degeneration and regeneration after femoral artery ligation in mice: Monitoring with diffusion MR imaging. *Radiology* 2007;243:413–21.
- Wishnia A., Alameddine H., Tardif de Gery S. et al. Use of magnetic resonance imaging for noninvasive characterization and follow-up of an experimental injury to normal mouse muscles. *Neuromuscul Disord* 2001;11:50–5.
- Arpan I., Forbes S.C., Lott D.J. et al. T2 mapping provides multiple approaches for the characterization of muscle involvement in neuromuscular diseases: A crosssectional study of lower leg muscles in 5–15-year-old boys with Duchenne muscular dystrophy. *NMR Biomed* 2013;26:320–8.
- 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. DOI: 10.1371/journal.pone.106435.
23. 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.
24. 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.
25. 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. Am J Roentgenol 2015;205:216–23.
26. 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.
27. 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 2015;28:1150–62.
28. Azzabou N., Loureiro de Sousa P., Caldas E. et al. Validation of a generic approach to muscle water T2 determination at 3T in fat-infiltrated skeletal muscle. J Magn Reson Imaging 2015;41:645–53.
29. 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.
30. Wokke B.H., van den Bergen J.C., Hooijmans M.T. et al. T2 relaxation times are increased in skeletal muscle of DMD but not BMD patients. Muscle Nerve 2016;53:38–43.
31. 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 Inher Metab Dis 2015;38:565–72.
32. Maillard S.M., Jones R., Owens C. et al. Quantitative assessment of MRI T2 relaxation time of thigh muscles in juvenile dermatomyositis. Rheumatology (Oxford) 2004;43:603–8.
33. Park J.H., Vansant J.P., Kumar N.G. et al. Dermatomyositis: Correlative MR imaging and P-31 MR spectroscopy for quantitative characterization of inflammatory disease. Radiology 1990;177:473–9.
34. Yao L., Gai N. Fat-corrected T2 measurement as a marker of active muscle disease in inflammatory myopathy. Am J Roentgenol 2012;198:475–81.
35. Degardin A., Morillon D., Lacour A. et al. Morphologic imaging in muscular dystrophies and inflammatory myopathies. Skeletal Radiol 2010;39:1219–27.
36. Walker U.A. Imaging tools for the clinical assessment of idiopathic inflammatory myositis. Curr Opin Rheumatol 2008;20:656–61.
37. Tasca G., Pescatori M., Monforte M. et al. Different molecular signatures in magnetic resonance imaging-staged facioscapulohumeral muscular dystrophy muscles. PLoS One 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.38779.
38. Carlier P.G., Azzabou N., de Sousa P.L. et al. P. 14.4 Diagnostic role of quantitative NMR imaging exemplified by 3 cases of juvenile dermatomyositis. Neuromuscul Disord 2013;23:814.
39. Gineste C., DeWinter J.M., Kohl C. et al. *In vivo* and *in vitro* investigations of heterozygous nebulin knock-out mice disclose a mild skeletal muscle phenotype. Neuromuscul Disord 2013;23:357–69.
40. Gineste C., Duhamel G., Le Fur Y. et al. Multimodal MRI and (31)P-MRS investigations of the ACTA1 (Asp286Gly) mouse model of nemaline myopathy provide evidence of impaired *in vivo* muscle function, altered muscle structure and disturbed energy metabolism. PLoS One 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.72294.
41. Gineste C., Le Fur Y., Vilmen C. et al. Combined MRI and (31)P-MRS investigations of the ACTA1 (H40Y) mouse model of nemaline myopathy show impaired muscle function and altered energy metabolism. PLoS One 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.61517.
42. Martins Bach A., Matot B., Wary C. et al. Non-invasive NMR study of the mouse model for centronuclear myopathy with mutation in the dynamin-2 gene. Neuromuscul Disord 2015;25:275.
43. Fleckenstein J.L., Watumull D., Conner K.E. et al. Denervated human skeletal muscle: MR imaging evaluation. Radiology 1993;187:213–8.
44. Karampinos D.C., King K.F., Sutton B.P. et al. Intravoxel partially coherent motion technique: Characterization of the anisotropy of skeletal muscle microvasculature. J Magn Reson Imaging 2010;31:942–53.
45. Polak J.F., Jolesz F.A., Adams D.F. Magnetic resonance imaging of skeletal muscle. Prolongation of T1 and T2 subsequent to denervation. Invest Radiol 1988;23:365–9.
46. 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.
47. Friedman S.D., Poliachik S.L., Otto R.K. et al. Longitudinal features of stir bright signal in FSHD. Muscle Nerve 2014;49:257–60.
48. 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. DOI: 10.1371/journal.pone.85416.
49. Janiczek R.L., Gambarota G., Sinclair C.D.J. et al. Simultaneous T2 and lipid quantitation using IDEAL-CPMG. Magn Reson Med 2011;66:1293–302.
50. Hollingsworth K.G., de Sousa P.L., Straub V. et al. 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.
51. Yarnykh V.L. Actual flip-angle imaging in the pulsed steady state: A method for rapid three-dimensional mapping of the transmitted radiofrequency field. Magn Reson Med 2007;57:192–200.
52. Lebel R.M., Wilman A.H. Transverse relaxometry with stimulated echo compensation. Magn Reson Med 2010;64:1005–14.
53. Rooney W.D., Pollaro J.R., Forbes S.C. et al. Application of the Extended Phase Graph Technique to Improve T2 Quantitation Across Sites. 2011. In: Proceedings ISMRM 5419.
54. Liu G.-C., Jong Y.-J., Chiang C.-H. et al. Duchenne muscular Dystrophy: MR grading system with functional correlation. Radiology 1993;186:475–80.
55. 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.
56. Gaeta M., Messina S., Mileto A. et al. Muscle fat-fraction and mapping in Duchenne muscular dystrophy: Evaluation of disease distribution and correlation with clinical assessments. Preliminary experience. Skeletal Radiol 2012;41:955–61.
57. Torriani M., Townsend E., Thomas B.J. et al. Lower leg muscle involvement in Duchenne muscular dystrophy: An MR imaging and spectroscopy study. Skeletal Radiol 2012;41:437–45.
58. Vohra R.S., Lott D., Mathur S. et al. Magnetic resonance assessment of hypertrophic and pseudo-hypertrophic changes in lower leg muscles of boys with Duchenne muscular dystrophy and their relationship to functional measurements. PLoS One 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0128915.

59. 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* 2014;24:409–16.
60. Wren T.A., Bluml S., Tseng-Ong L. et al. Three-point technique of fat quantification of muscle tissue as a marker of disease progression in Duchenne muscular dystrophy: Preliminary study. *Am J Roentgenol* 2008;190:W8–12.
61. Heule R., Ganter C., Bieri O. Triple echo steady-state (TESS) relaxometry. *Magn Reson Med* 2014;71:230–7.
62. 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;4422:1–13.
63. 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.
64. 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.
65. Voit T. The challenge of making therapies happen for neuromuscular diseases. *Neuromuscul Disord* 2014;24:918–9.
66. 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.
67. Bonati U., Hafner P., Schadelin S. et al. Quantitative muscle MRI: A powerful surrogate outcome measure in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 2015;25:679–85.
68. Hiba B., Richard N., Hebert L.J. et al. Quantitative assessment of skeletal muscle degeneration in patients with myotonic dystrophy type 1 using MRI. *J Magn Reson Imaging* 2012;35:678–85.
69. Leong K.M., Lau P., Ramadan S. Utilisation of MR spectroscopy and diffusion weighted imaging in predicting and monitoring of breast cancer response to chemotherapy. *J Med Imaging Radiat Oncol* 2015;59:268–77.
70. Redmond O.M., Stack J.P., O'Connor N.G. et al. 31P MRS as an early prognostic indicator of patient response to chemotherapy. *Magn Reson Med* 1992;25:30–44.
71. Shin H.J., Baek H.-M., Ahn J.-H. et al. Prediction of pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer using diffusion-weighted imaging and MRS. *NMR Biomed* 2012;25:1349–59.
72. Edwards R.H., Dawson M.J., Wilkie D.R. et al. Clinical use of nuclear magnetic resonance in the investigation of myopathy. *Lancet* 1982;725–30.
73. Kemp G.J., Taylor D.J., Dunn J.F. et al. Cellular energetics of dystrophic muscle. *J Neurol Sci* 1993;116:201–6.
74. 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* 2015;28:1150–62.
75. Wokke B.H., Hooijmans M.T., van den Bergen J.C. et al. Muscle MRS detects elevated PDE/ATP ratios prior to fatty infiltration in Becker muscular dystrophy. *NMR Biomed* 2014;27:1371–7.
76. Boesch C. Musculoskeletal spectroscopy. *J Magn Reson Imaging* 2007;25:321–38.
77. Kemp G.J., Meyerspeer M., Moser E. Review article absolute quantification of phosphorus metabolite concentrations in human muscle *in vivo* by 31 PMRS: A quantitative review. *NMR Biomed* 2007;20:555–65.
78. Argov Z., Lofberg M., Arnold D.L. Insights into muscle diseases gained by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Muscle Nerve* 2000;23:1316–34.
79. Chance B., Younkin D.P., Kelley R. et al. Magnetic resonance spectroscopy of normal and diseased muscles. *Am J Med Genet* 1986;25:659–79.
80. Heerschap A., Houtman C., Zandt H.J., et al. Introduction to *in vivo* 31P magnetic resonance spectroscopy of (human) skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 1999;58:861–70.
81. Newman R.J., Bore P.J., Chan L. et al. Nuclear magnetic resonance studies of forearm muscle in Duchenne dystrophy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982;284:1072–74.
82. 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.
83. Tosetti M., Linsalata S., Battini R. et al. Muscle metabolic alterations assessed by 31-phosphorus magnetic resonance spectroscopy in mild Becker muscular dystrophy. *Muscle Nerve* 2011;44:816–9.
84. Younkin D.P., Berman P., Sladky J. et al. 31P NMR studies in Duchenne muscular dystrophy: Age-related metabolic changes. *Neurology* 1987;37:165–9.
85. Wary C., Naulet T., Thibaud J.-L. et al. Splitting of Pi and other 31P NMR anomalies of skeletal muscle metabolites in canine muscular dystrophy. *NMR Biomed* 2012;25:1160–9.
86. Barbiroli B., Funicello R., Ferlini A. et al. Muscle energy metabolism in female DMD/BMD carriers: A 31P-MR spectroscopy study. *Muscle Nerve* 1992;15:344–8.
87. Barbiroli B., Funicello R., Iotti S. et al. 31P-NMR spectroscopy of skeletal muscle in Becker dystrophy and DMD/BMD carriers. Altered rate of phosphate transport. *J Neurol Sci* 1992;109:188–95.
88. Barbiroli B., McCully K.K., Iotti S. et al. Further impairment of muscle phosphate kinetics by lengthening exercise in DMD/BMD carriers. An *in vivo* 31P-NMR spectroscopy study. *J Neurol Sci* 1993;119:65–73.
89. Lodi R., Kemp G.J., Muntoni F. et al. Reduced cytosolic acidification during exercise suggests defective glycolytic activity in skeletal muscle of patients with Becker muscular dystrophy. An *in vivo* 31P magnetic resonance spectroscopy study. *Brain* 1999;122:121–30.
90. Kharraz Y., Guerra J., Pessina P. et al. Understanding the process of fibrosis in Duchenne muscular dystrophy. *BioMed Res Int* 2014. DOI: 10.1155/2014/965631.
91. Klingler W., Jurkat-Rott K., Lehmann-Horn F. et al. The role of fibrosis in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol* 2012;31:184–95.
92. Wynn T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008;214:199–210.
93. Desguerre I., Mayer M., Leturcq F. et al. Endomysial Fibrosis in Duchenne Muscular Dystrophy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009;68:762–73.
94. Zhou L., Lu H. Targeting fibrosis in Duchenne muscular dystrophy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2010;69:771–6.
95. Edzes H., Samulski E.T. The measurement of crossrelaxation effects in the proton NMR spin-lattice relaxation of water in biological systems: Hydrated collagen and muscle. *J Magn Reson* 1978;31:207–29.
96. Siu A.G., Ramadeen A., Hu X. et al. Characterization of the ultrashort-TE (UTE) MR collagen signal. *NMR Biomed* 2015;28:1236–44.
97. Perie S., Trollet C., Mouly V. et al. Autologous myoblast transplantation for oculopharyngeal muscular dystrophy: A phase I/IIa clinical study. *Mol Ther* 2014;22:219–25.
98. Saab G., Thompson R.T., Marsh G.D. Effects of exercise on muscle transverse relaxation determined by MR imaging and *in vivo* relaxometry. *J Appl Physiol* 2000;88:226–33.
99. Saab G., Thompson R.T., Marsh G.D. Multicomponent T2 relaxation of *in vivo* skeletal muscle. *Magn Reson Med* 1999;157:150–7.
100. Araujo E.C.A., Fromes Y., Carlier P.G. New insights on human skeletal muscle tissue compartments revealed by *in vivo*

- T2 NMR relaxometry. Biophys J 2014;106:2267–74.
101. Morrison C., Henkelman R.M. A model for magnetization transfer in tissues. Magn Reson Med 1995;33:475–82.
102. Yarnykh V.L., Tartaglione E.V., Ioannou G.N. Fast macromolecular proton fraction mapping of the human liver *in vivo* for quantitative assessment of hepatic fibrosis. NMR Biomed 2015;28:1716–25.
103. Li K., Dortch R.D., Kroop S.F. et al. A rapid approach for quantitative magnetization transfer imaging in thigh muscles using the pulsed saturation method. Magn Reson Imaging 2015;33:709–17.
104. Li K., Dortch R.D., Welch E.B. et al. Multi-parametric MRI characterization of healthy human thigh muscles at 3.0 T – relaxation, magnetization transfer, fat/water, and diffusion tensor imaging. NMR Biomed 2014;27:1070–84.
105. 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.
106. 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 2009;29:1346–54.
107. Sinclair C.D.J., Morrow J.M., Miranda M.A. et al. Skeletal muscle MRI magnetisation transfer ratio reflects clinical severity in peripheral neuropathies. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012;83:29–32.
108. Sinclair C.D.J., Samson R.S., Thomas D.L. et al. Quantitative magnetization transfer in *in vivo* healthy human skeletal muscle at 3 T. Magn Reson Med 2010;64:1739–48.
109. Eliav U., Komlos M.E., Bassar P.J. et al. Collagen composition and content-dependent contrast in porcine annulus fibrosus achieved by using double quantum and magnetization transfer filtered UTE MRI. Magn Reson Med 2014;71:388–93.
110. Kusmia S., Eliav U., Navon G. et al. DQF-MT MRI of connective tissues: Application to tendon and muscle. Magma 2013;26:203–14.
111. Miller C.A., Naish J.H., Bishop P. et al. Comprehensive validation of cardiovascular magnetic extracellular volume. Circ Cardiovasc Imaging 2013;6:373–83.
112. Moon J.C., Messroghli D.R., Kellman P. et al. Myocardial T1 mapping and extracellular volume quantification: A Society for Cardiovascular Magnetic Resonance (SCMR) and CMR Working Group of the European Society of Cardiology consensus statement. J Cardiovasc Magn Reson 2013;15:92–103.
113. Horn M. 23Na magnetic resonance imaging for the determination of myocardial viability: The status and the challenges. Curr Vasc Pharmacol 2004;2:329–33.
114. Madelin G., Regatte R.R. Biomedical applications of sodium MRI *in vivo*. J Magn Reson Imaging 2013;38:511–29.
115. Glaser K.J., Manduca A., Ehman R.L. Review of MR elastography applications and recent developments. J Magn Reson Imaging 2012;36:757–74.
116. Ringleb S.I., Bensamoun S.F., Chen Q. et al. Applications of magnetic resonance elastography to healthy and pathologic skeletal muscle. J Magn Reson Imaging 2007;25:301–9.
117. McCullough M.B., Doherty D.J., Reed A.M. et al. Evaluation of muscles affected by myositis using magnetic resonance elastography. Muscle Nerve 2011;43:585–90.
118. Drakonaki E.E., Allen G.M., Wilson D.J. Ultrasound elastography for musculoskeletal applications. Br J Radiol 2012;85:1435–45.
119. Caravan P., Das B., Dumas S. et al. Collagen-targeted MRI contrast agent for molecular imaging of fibrosis. Angew Chem Int Ed Engl 2007;46:8171–3.
120. Caravan P., Yang Y., Zachariah R. et al. Molecular magnetic resonance imaging of pulmonary fibrosis in mice. Am J Respir Cell Mol Biol 2013;49:1120–6.
121. Fuchs B.C., Wang H., Yang Y. et al. Molecular MRI of collagen to diagnose and stage liver fibrosis. J Hepatol 2013;59:992–8.
122. Tyler D.J., Robson M.D., Henkelman R.M. et al. Magnetic resonance imaging with ultrashort TE (UTE) PULSE sequences: Technical considerations. J Magn Reson Imaging 2007;25:279–89.
123. Li C., Magland J.F., Rad H.S. et al. Comparison of optimized soft-tissue suppression schemes for ultrashort echo time MRI. Magn Reson Med 2012;68:680–9.
124. Caldas de A. Araujo E., Azzabou N., Vignaud A. et al. Quantitative NMR imaging of the short-T2 components in the SKM tissue: Alterations observed in myopathic patients. In: ISMRM 23rd Annual Meeting & Exhibition. Toronto, Ontario, Canada, 2015. P. 251.
125. Wang K., Yu H., Brittain J. k space water fat decomposition with T2* estimation and multifrequency fat spectrum modeling for ultrashort echo time imaging. J Magn Reson Imaging 2010;31(4):1027–34.
126. Du J., Bydder M., Takahashi A.M. et al. Short T2 contrast with three-dimensional ultrashort echo time imaging. Magn Reson Imaging 2011;29:470–82.
127. Du J., Takahashi A.M., Chung C.B. Ultrashort TE spectroscopic imaging (UTESI): Application to the imaging of short T2 relaxation tissues in the musculoskeletal system. J Magn Reson Imaging 2009;29:412–21.
128. Robson M.D., Bydder G.M. Clinical ultrashort echo time imaging of bone and other connective tissues. NMR Biomed 2006;19:765–80.
129. de Jong S., Zwanenburg J.J., Visser F. et al. Direct detection of myocardial fibrosis by MRI. J Mol Cell Cardiol 2011;51:974–9.
130. Vignaud A., Guillot G., Caldas de Almeida Araujo E. et al. NMR imaging of short T2-components in skeletal muscle tissue. Neuromuscul Disord 2014;24:837.
131. Detre J.A., Wang J. Technical aspects and utility of fMRI using BOLD and ASL. Clin Neurophysiol 2002;113:621–34.
132. Ogawa S., Lee T.M., Kay A.R. et al. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. Proc Natl Acad Sci U S A 1990;87:9868–72.
133. Carlier P.G., Bertoldi D., Baligand C. et al. Muscle blood flow and oxygenation measured by NMR. NMR Biomed 2006;19:954–67.
134. Partovi S., von Tengg-Kobligh H., Bhojwani N. et al. Advanced noncontrast MR imaging in musculoskeletal radiology. Radiol Clin North Am 2015;53:549–67.
135. Raynaud J.S., Duteil S., Vaughan J.T. et al. Determination of skeletal muscle perfusion using arterial spin labeling NMR: Validation by comparison with venous occlusion plethysmography. Magn Reson Med 2001;46:305–11.
136. Schewzow K., Fiedler G.B., Meyerspeer M. et al. Dynamic ASL and T2*-weighted MRI in exercising calf muscle at 7 T: A feasibility study. Magn Reson Med 2014;73:1190–5.
137. Bertoldi D., Loureiro de Sousa P., Fromes Y. et al. Quantitative, dynamic and non-invasive determination of skeletal muscle perfusion in mouse leg by NMR arterial spin-labeled imaging. Magn Reson Imaging 2008;26:1259–65.
138. Jacobi B., Bongartz G., Partovi S. et al. Skeletal muscle BOLD MRI: From underlying physiological concepts to its usefulness in clinical conditions. J Magn Reson Imaging 2012;35:1253–65.
139. Jordan B.F., Kimpalou J.Z., Beghein N. et al. Contribution of oxygenation to BOLD contrast in exercising muscle. Magn Reson Med 2004;52:391–6.
140. Baligand C., Wary C., Menard J.C. et al. Measuring perfusion and bioenergetics simultaneously in mouse skeletal muscle: A multiparametric functional-NMR approach. NMR Biomed 2011;24:281–90.
141. Damon B.M., Wadington M.C., Hornberger J.L. et al. Absolute and relative contributions of BOLD effects to the muscle functional MRI signal

- intensity time course: Effect of exercise intensity. *Magn Reson Med* 2007;58:335–45.
142. Dass S., Suttie J.J., Piechnik S.K. et al. Myocardial tissue characterization using magnetic resonance noncontrast T1 mapping in hypertrophic and dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Imaging* 2012;5:726–33.
 143. Lebon V., Brillaud-Salvat C., Bloch G. et al. Evidence of muscle BOLD effect revealed by simultaneous interleaved gradient-echo NMRI and myoglobin NMRS during leg ischemia. *Magn Reson Med* 1998;40:551–8.
 144. Meyer R.A., Towse T.F., Reid R.W. et al. BOLD MRI mapping of transient hyperemia in skeletal muscle after single contractions. *NMR Biomed* 2004;17:392–8.
 145. Duteil S., Wary C., Raynaud J.S. et al. Influence of vascular filling and perfusion on BOLD contrast during reactive hyperemia in human skeletal muscle. *Magn Reson Med* 2006;55:450–4.
 146. Decorte N., Buehler T., Caldas de Almeida Araujo E. et al. Noninvasive estimation of oxygen consumption in human calf muscle through combined NMR measurements of ASL perfusion and T2 oxymetry. *J Vasc Res* 2014;51:360–8.
 147. Englund E.K., Langham M.C., Li C. et al. Combined measurement of perfusion, venous oxygen saturation, and skeletal muscle T2* during reactive hyperemia in the leg. *J Cardiovasc Magn Reson* 2013;15:70.
 148. Zheng J., An H., Coggan A.R. et al. Noncontrast skeletal muscle oximetry. *Magn Reson Med* 2013;71:318–25.
 149. Aschwanden M., Partovi S., Jacobi B. et al. Assessing the end-organ in peripheral arterial occlusive disease—from contrast-enhanced ultrasound to blood – oxygen-level dependent MR imaging. *Cardiovasc Diagn Ther* 2014;4:165–72.
 150. Englund E.K., Langham M.C., Ratcliffe S.J. et al. Multiparametric assessment of vascular function in peripheral artery disease: Dynamic measurement of skeletal muscle perfusion, blood – oxygen-level dependent signal, and venous oxygen saturation. *Circ Cardiovasc Imaging* 2015. DOI: 10.1161/circimaging.114.002673.
 151. Grozinger G., Pohmann R., Schick F. et al. Perfusion measurements of the calf in patients with peripheral arterial occlusive disease before and after percutaneous transluminal angioplasty using MR arterial spin labeling. *J Magn Reson Imaging* 2013;40:980–7.
 152. Ledermann H.-P., Schulte A.-C., Heidecker H.-G. et al. Blood oxygenation level-dependent magnetic resonance imaging of the skeletal muscle in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 2006;113:2929–35.
 153. Zheng J., Hasting M.K., Zhang X. et al. A pilot study of regional perfusion and oxygenation in calf muscles of individuals with diabetes with a non-invasive measure. *J Vasc Surg* 2014;59:419–26.
 154. Partovi S., Schulte A.-C., Aschwanden M. et al. Impaired skeletal muscle microcirculation in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2012;14:R209.
 155. Andreisek G., White L.M., Sussman M.S. et al. T2*-weighted and arterial spin labeling MRI of calf muscles in healthy volunteers and patients with chronic exertional compartment syndrome: Preliminary experience. *Am J Roentgenol* 2009;193:327–33.
 156. Wary C., Nadaj-Pakleza A., Laforet P. et al. Investigating glycogenosis type III patients with multi-parametric functional NMR imaging and spectroscopy. *Neuromuscul Disord* 2010;20:548–58.
 157. Bertoldi D., Parzy E., Fromes Y. et al. New insight into abnormal muscle vasodilatory responses in aged hypertensive rats by *in vivo* nuclear magnetic resonance imaging of perfusion. *J Vasc Res* 2006;43:149–56.
 158. Thomas G.D. Functional muscle ischemia in Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Front Physiol* 2013;4:381–6.
 159. Horster I., Weigt-Usinger K., Carmann C. et al. The Larginine/NO pathway and homoarginine are altered in Duchenne muscular dystrophy and improved by glucocorticoids. *Amino Acids* 2015;47:1853–63.
 160. Nelson M.D., Rader F., Tang X. et al. PDE5 inhibition alleviates functional muscle ischemia in boys with Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 2014;82:2085–91.
 161. Blat Y., Blat S. Drug discovery of therapies for duchenne muscular dystrophy. *J Biomol Screen* 2015;10:1189–203.
 162. Ennen J.P., Verma M., Asakura A. Vascular-targeted therapies for Duchenne muscular dystrophy. *Skelet Muscle* 2013;3–9:1–12.
 163. Lavini C., de Jonge M.C., van de Sande M.G.H. et al. Pixelby-pixel analysis of DCE MRI curve patterns and an illustration of its application to the imaging of the musculoskeletal system. *Magn Reson Imaging* 2007;25:604–12.
 164. Tofts P.S. Modeling tracer kinetics in dynamic Gd-DTPA MR imaging. *J Magn Reson Imaging* 1997;7:91–101.
 165. Tofts P.S., Brix G., Buckley D.L. et al. Contrast-enhanced T1-weighted MRI of a diffusible tracer: Standardized quantities and symbols. *J Magn Reson Imaging* 1999;232:223–32.
 166. Amthor H., Egelhof T., McKinnell I. et al. Albumin targeting of damaged muscle fibres in the mdx mouse can be monitored by MRI. *Neuromuscul Disord* 2004;14:791–6.
 167. Straub V., Donahue K.M., Allamand V. et al. Contrast agent enhanced magnetic resonance imaging of skeletal muscle damage in animal models of muscular dystrophy. *Magn Reson Med* 2000;44:655–9.
 168. Friedrich M.G. Myocardial T1: The Rise of a Novel Biomarker Continues*. *JACC Cardiovasc Imaging* 2015;8:47–9.
 169. Hinojar R., Foote L., Arroyo Ucar E. et al. Native T1 in discrimination of acute and convalescent stages in patients with clinical diagnosis of myocarditis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2015;8:37–46.
 170. Stejskal E.O., Tanner J.E. Spin diffusion measurements: Spin echoes in the presence of a time-dependant field gradient. *J Chem Phys* 1965;42:288–92.
 171. Froeling M., Nederveen A.J., Heijtel D.F.R. et al. Diffusion-tensor MRI reveals the complex muscle architecture of the human forearm. *J Magn Reson Imaging* 2012;36:237–48.
 172. Schwenzer N.F., Steidle G., Martirosian P. et al. Diffusion tensor imaging of the human calf muscle: Distinct changes in fractional anisotropy and mean diffusion due to passive muscle shortening and stretching. *NMR Biomed* 2009;22:1047–53.
 173. Yanagisawa O., Shimao D., Maruyama K. et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging of human skeletal muscles: Gender-, age- and muscle-related differences in apparent diffusion coefficient. *Magn Reson Imaging* 2009;27:69–78.
 174. Damon B.M., Heemskerk A.M., Ding Z. Polynomial fitting of DT-MRI fiber tracts allows accurate estimation of muscle architectural parameters. *Magn Reson Imaging* 2012;30:589–600.
 175. Karampinos D.C., King K.F., Sutton B.P. et al. Myofiber ellipticity as an explanation for transverse asymmetry of skeletal muscle diffusion MRI *in vivo* signal. *Ann Biomed Eng* 2009;37:2532–46.
 176. Sigmund E.E., Novikov D.S., Sui D. et al. Time-dependent diffusion in skeletal muscle with the random permeable barrier model (RPBM): Application to normal controls and chronic exertional compartment syndrome patients. *NMR Biomed* 2014;27:519–28.
 177. Sigmund E.E., Sui D., Ukpebor O. et al. Stimulated echo diffusion tensor imaging and SPAIR T2-weighted imaging in chronic exertional compartment syndrome of the lower leg muscles. *J Magn Reson Imaging* 2013;38:1073–82.
 178. Froeling M., Nederveen A.J., Nicolay K. et al. DTI of human skeletal muscle: The effects of diffusion encoding parameters, signal-to-noise ratio and T2 on tensor indices and fiber tracts. *NMR Biomed* 2013;26:1339–52.
 179. Froeling M., Oudeman J., van den Berg S. et al. Reproducibility of diffusion tensor imaging in human forearm muscles

- at 3.0 T in a clinical setting. *Magn Reson Med* 2010;64:1182–90.
180. Heemskerk A.M., Sinha T.K., Wilson K.J. et al. Repeatability of DTI-based skeletal muscle fiber tracking. *NMR Biomed* 2010;23:294–303.
181. Filli L., Boss A., Wurnig M.C. et al. Dynamic intravoxel incoherent motion imaging of skeletal muscle at rest and after exercise. *NMR Biomed* 2015;28:240–6.
182. Ponrartana S., Ramos-Platt L., Wren T.A. L. et al. Effectiveness of diffusion tensor imaging in assessing disease severity in Duchenne muscular dystrophy: Preliminary study. *Pediatr Radiol* 2015;45:582–9.
183. Qi J., Olsen N.J., Price R.R. et al. Diffusion-weighted imaging of inflammatory myopathies: Polymyositis and dermatomyositis. *J Magn Reson Imaging* 2008;27:212–7.
184. Zarakaya T., Kumbhare D., Noseworthy M.D. Diffusion tensor imaging in evaluation of human skeletal muscle injury. *J Magn Reson Imaging* 2006;24:402–8.
185. Ai T., Yu K., Gao L. et al. Diffusion tensor imaging in evaluation of thigh muscles in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Br J Radiol* 2014; 87(1043):20140261.
186. Froeling M., Oudeman J., Strijkers G.J. et al. Muscle changes detected with diffusion-tensor imaging after longdistance running. *Radiology* 2015;274:548–62.
187. Hooijmans M.T., Damon B.M., Froeling M. et al. Evaluation of skeletal muscle DTI in patients with duchenne muscular dystrophy. *NMR Biomed* 2015;28:1589–97.
188. Parzy E., Fromes Y., Thiaudiere E. et al. Rapid communication refinement of cardiac NMR imaging in awake hamsters: Proof of feasibility and characterization of cardiomyopathy. *NMR Biomed* 2007;20:615–23.
189. Azzabou N., Hogrel J.-Y., Carlier P.G. NMR based biomarkers to study age-related changes in the human quadriceps. *Exp Gerontol* 2015;70:54–60.
190. Certaines J.D., de Larcher T., Duda D. et al. Application of texture analysis to muscle MRI: 1-What kind of information should be expected from texture analysis? *EPJ Nonlinear Biomed Phys* 2015;1–3:1–14.
191. Lerski R.A., de Certaines J.D., Duda D. et al. Application of texture analysis to muscle MRI: 2-technical recommendations. *EPJ Nonlinear Biomed Phys* 2015;3:1–20.
192. Brown A.M., Nagala S., McLean M.A. et al. Multiinstitutional validation of a novel textural analysis tool for preoperative stratification of suspected thyroid tumors on diffusion-weighted MRI. *Magn Reson Med* 2015. DOI: 10.1002/mrm.25743.
193. Thibaud J., Matot B., Barthelemy I. et al. Diaphragm structural abnormalities revealed by NMR imaging in the dystrophic dog. *Neuromuscul Disord* 2013;23:809–10.
194. Mead A.F., Petrov M., Malik A.S. et al. Diaphragm remodeling and compensatory respiratory mechanics in a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *J Appl Physiol* 2014;116:807–15.
195. Deshmane A., Gulani V., Griswold M.A. et al. Parallel MR imaging. *J Magn Reson Imaging* 2012;36:55–72.
196. Griswold M.A., Jakob P.M., Heidemann R.M. et al. Generalized autocalibrating partially parallel acquisitions (GRAPPA). *Magn Reson Med* 2002;47:1202–10.
197. Pruessmann K.P., Weiger M., Scheidegger M.B., Boesiger P. SENSE: Sensitivity encoding for fast MRI. *Magn Reson Med* 1999;42:952–62.
198. Donoho D.L. Compressed sensing. *IEEE Trans Inf Theory* 2006;1289–1306.
199. Lustig M., Donoho D.L., Santos J.M. et al. Compressed sensing MRI. *IEEE Signal Processing Magazine* 2008;25:72–85.
200. Hollingsworth K.G., Higgins D.M., McCallum M. et al. Investigating the quantitative fidelity of prospectively undersampled chemical shift imaging in muscular dystrophy with compressed sensing and parallel imaging reconstruction. *Magn Reson Med* 2013b;72:1016–19.
201. Loughran T., Higgins D.M., McCallum M. et al. Improving highly accelerated fat fraction measurements for clinical trials in muscular dystrophy: Origin and quantitative effect of R2* changes. *Radiology* 2015;275:570–78.
202. Feng L., Grimm R., Block K.T. et al. Golden-angle radial sparse parallel MRI: Combination of compressed sensing, parallel imaging, and golden-angle radial sampling for fast and flexible dynamic volumetric MRI. *Magn Reson Med* 2013;72:707–17.
203. Bieri O., Scheffler K., Welsch G.H. et al. Quantitative mapping of T2 using partial spoiling. *Magn Reson Med* 2011;66:410–8.
204. de Sousa P.L., Vignaud A., Caldas de Almeida Ara'ujo E. et al. Factors controlling T2 mapping from partially spoiled SSFP sequence: Optimization for skeletal muscle characterization. *Magn Reson Med* 2012;67:1379–90.
205. Brillault-Salvat C., Giacomini E., Jouvencal L. et al. Simultaneous determination of muscle perfusion and oxygenation by interleaved NMR plethysmography and deoxyoglobin spectroscopy. *NMR Biomed* 1997;10:315–23.
206. Eleff S.M., Schnall M.D., Ligetti L. et al. Concurrent measurements of cerebral blood flow, sodium, lactate, and high-energy phosphate metabolism using 19F, 23Na, 1H, and 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Med* 1988;7:412–24.
207. Thulborn K., Soffe N., Kadda G. Simultaneous *in vivo* measurement of oxygen utilization and high-energy phosphate metabolism in rabbit skeletal muscle by multinuclear 1H and 31P NMR. *J Magn Reson* 1981;45:362–66.
208. Duteil S., Bourrilhon C., Raynaud J.S. et al. Metabolic and vascular support for the role of myoglobin in humans: A multi-parametric NMR study. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287:R1441–9.
209. Carlier P.G., Brillault-Salvat C., Giacomini E. et al. How to investigate oxygen supply, uptake, and utilization simultaneously by interleaved NMR imaging and spectroscopy of the skeletal muscle. *Magn Reson Med* 2005;54:1010–3.
210. de Sousa P.L., Vignaud A., Fleury S. et al. Fast monitoring of T (1), T (2), and relative proton density (M (0)) changes in skeletal muscles using an IR-TrueFISP sequence. *J Magn Reson Imaging* 2011;33:921–30.
211. Schmitt P., Griswold M.A., Jakob P.M. et al. Inversion recovery True FISP: Quantification of T (1), T (2), and spin density. *Magn Reson Med* 2004;51:661–7.
212. Hennig J., Weigel M., Scheffler K. Calculation of flip angles for echo trains with predefined amplitudes with the extended phase graph (EPG)-algorithm: Principles and applications to hyperecho and TRAPS sequences 2004; 49:527–35.
213. Weigel M. Extended phase graphs: Dephasing, RF pulses, and echoes – pure and simple. *J Magn Reson Imaging* 2014.
214. Hunter D.J., Zhang W., Conaghan P.G. et al. Systematic review of the concurrent and predictive validity of MRI biomarkers in OA. *Osteoarthritis Cartil* 2011;19:557–88.